Teil A Grundlagen

1	Toxikologie	3
2	Geschichte	9
3	Biometrie	29
4	Toxikokinetik	49
5	Fremdstoffmetabolismus	99
6	Freie Radikale und reaktive Sauerstoffspezies	126
7	Gentoxikologie und chemische Kanzerogenese	142
8	Apoptose	226
9	Transkriptionsfaktoren als zelluläre Angriffspunkte	244

1 Toxikologie

Siegfried G. Schäfer, Holger Barth und Robert Landsiedel

1.1 Wissenschaftliche und gesellschaftliche Aspekte

Zunächst sollen hier einige Aufgaben, Entwicklungen und Begriffe in der Toxikologie skizziert werden. Danach werden einige gesellschaftliche Aspekte der Toxikologie aufgegriffen. Der Begriff „Fremdstoff" wurde dem Begriff „Schadstoff" vorgezogen, da nahezu alle Substanzen, denen gegenüber der Mensch bewusst oder unbewusst exponiert ist, eine toxische Wirkung haben können, wenn die Dosis entsprechend hoch ist: „Dosis sola facit venenum".

Die Wirkung der Fremdstoffe, denen der Mensch ausgesetzt ist, lassen sich unterscheiden in erwünschte (z. B. heilende) Wirkungen und unerwünschte (toxische) Wirkungen. Den beiden Gruppen bleibt gemeinsam, dass sich ihre Wirkung im Allgemeinen in Abhängigkeit von der Dosis entwickelt. Eine Ausnahme könnten hier die gentoxischen Kanzerogene sein. Die toxische Wirkung einer Substanz hängt somit immer von dem Wirkmechanismus und der Exposition ab. Die Vielfalt der Anwendung und Exposition von potenziell toxischen Fremdstoffen führt dazu, dass sich Wissenschaftler in zum Teil entfernten Disziplinen mit ganz unterschiedlichen Aspekten der Toxikologie beschäftigen, was die Toxikologie zu einer sehr breit gefächerten Wissenschaft macht. Die Konsequenz ist, dass es zahlreiche Spezialisten in unterschiedlichen Fachbereichen gibt, z. B. Lebensmitteltoxikologie, Arzneimitteltoxikologie, Gewerbetoxikologie oder Umwelttoxikologie.

Die Toxikologie teilt sich prinzipiell in drei große Teilgebiete auf.

Die **klinische Toxikologie** befasst sich mit den Ursachen und insbesondere mit den Therapiemöglichkeiten akuter Vergiftungen. Beispielsweise gibt es für zahlreiche Giftstoffe spezifische „Gegengifte" (Antidote), oder es besteht die Möglichkeit, bereits aufgenommenes Gift aus dem Körper zu entfernen (z. B. Magenspülung), bevor es in den Blutkreislauf aufgenommen wird und somit zur Wirkung kommt.

Die **experimentelle Toxikologie** erarbeitet Ergebnisse, die einerseits lediglich deskriptiv sind, andererseits die molekularen und zellulären Mechanismen untersuchen, die zum Verständnis der Toxizität entscheidend beitragen. Daher finden Studien aus toxikologischen Laboratorien der chemischen Industrie ebenso Eingang in diese Wissenschaft wie Beiträge aus der Biochemie, Physiologie, Pharmakologie, Zellbiologie oder der pharmazeutischen Forschung. Die Anforderungen an Sicherheitsprüfungen für Chemikalien werden in Regulierungen festgelegt, in der EU die REACH-Regulierung (Verordnung (EG) Nr. 1907/2006). Die entsprechenden Testmethoden werden in Prüfrichtlinien der OECD (Organisation für wirtschaftliche Zusammenarbeit und Entwicklung) beschrieben. Die Anforderungen an präklinische Studien und an die Sicherheit von Arzneimitteln wurden durch die internationale Konferenz zur Harmonisierung technischer Anforderungen für die Zulassung von Humanarzneimitteln (ICH, International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use) 1990 festgelegt. Die **regulatorische Toxikologie** bewertet dagegen die erhobenen Befunde in Bezug auf das gesundheitliche Risiko für den Menschen. Hierzu wurde in den letzten Dekaden nicht nur eine Vielzahl von Standarduntersuchungen etabliert, sondern auch eine hohe Datenqualität und -sicherheit durch die Einführung und Überwachung der sogenannten GLP-(**G**ood-**L**aboratory-**P**ractice-)Richtlinien und GIVIMP (Good In Vitro Method Practice) für toxikologische Studien aufgrund der ICH-Richtlinien (International Committee of Harmonization) und OECD-Prüfrichtlinien erreicht (■ Tab. 1.1). Die Standardisierung und Dokumentation der Untersuchungsverfahren sowie der verwendeten Tierstämme, Zelllinien oder Bakterienstämme ist unverzichtbar für die Vergleichbarkeit der Daten und die daraus resultierende Bewertung der Ergebnisse.

Damit hat die Toxikologie die Aufgabe, Risiken abzuschätzen und den Sicherheitsrahmen zu definieren. Das Risiko repräsentiert die Wahrscheinlichkeit, mit der eine Substanz einen Schaden verursachen kann. Die Sicherheit verhält sich reziprok zum Risiko, das heißt, sie entspricht der Wahrscheinlichkeit, mit der unter definierten Bedingungen kein oder ein akzeptables Risiko zu erwarten ist. Was in diesem Zusammenhang ein akzeptables Risiko ist, ist von Fall zu Fall zu entscheiden.

Selbst eine extrem toxische Substanz kann daher weniger gefährlich sein, wenn sie unter kontrollierten Bedingungen gehandhabt wird, als ein geringfügig toxischer Fremdstoff, der unkontrolliert freigesetzt oder aufgenommen wird. Die Inkorporation wird bestimmt von dem Aufnahmepfad, der Matrix, mit der der Fremdstoff

Tab. 1.1 Internationale Anforderungen der regulatorischen Toxikologie in verschiedenen Anwendungsgebieten

Produktkategorie[1]	Kernstudien (akute und chronische Applikation[2], Mutagenität[3]	Spezielle Untersuchungen					
		Reproduktionstoxikologie	Kanzerogenität	Hautverträglichkeit	Immuntoxikologie	Neurotoxikologie	Toxikokinetik
Arzneimittel (Mensch)	×	×	o	o	×	●	×
Arzneimittel (Tier)	×	o	o	o	●	●	×
Pestizide	×	o	o	×	●	o	×
Chemikalien	×	o	o	×	●	o	o
	×	×	o	×	●	o	×
	×	o	●	×	●	●	●

Zeichenerklärung: × Routineuntersuchung; o teilweise erforderlich; ● selten gefordert
[1] Weitere Produktarten wie z. B. Kosmetikrohstoffe haben oft keine vordefinierten Untersuchungslisten. Für Kosmetikrohstoffe dürfen in der EU keine Tierstudien verwendet werden; [2] Chronische Studien können bis zu einem Jahr ausgedehnt werden; [3] Zwei oder mehr unabhängige Tests werden im Allgemeinen gefordert.

aufgenommen wird, den chemischen Eigenschaften und von der Dosis.

Die **Toxikokinetik** schafft die Voraussetzungen, die Bioverfügbarkeit, die Verteilung in eventuelle Zielorgane, den Metabolismus und die Eliminationskinetik zu erarbeiten, zu beschreiben und zu beurteilen. Bei genauerer Betrachtung dieses Fachgebietes wird sehr schnell deutlich, dass die Meinung „Toxikologie ist die Pharmakologie hoher Dosen" nicht nur nicht zutrifft, sondern wesentliche Aspekte der Toxikologie unberücksichtigt lässt. Vielmehr existieren eine Vielzahl von Fragestellungen und Methoden, wie die der Mutagenese oder Kanzerogenese, die im Allgemeinen ohne pharmakologische Relevanz sind. Sie sind vielmehr für die Prüfung von Arzneimitteln oder Chemikalien von Bedeutung. Aus dem Metabolismus der Fremdstoffe lassen sich teilweise auch die Mechanismen der Toxizität ableiten. Beispiele hierfür sind die Hepatotoxizität von Paracetamol oder die kanzerogene Wirkung von Aflatoxin B_1.

Die Wirkung einer Substanz wird neben der Dosis auch von der Dauer und der Häufigkeit der Exposition bestimmt. In der Toxikologie unterscheidet man deshalb vier Kategorien: akute, subakute, subchronische und chronische Expositionen. **Akute Exposition** ist die einmalige Aufnahme eines Fremdstoffes oder die stetige oder wiederholte Aufnahme über weniger als 24 Stunden, unabhängig vom Aufnahmepfad. Die übrigen Expositionen beschreiben eine wiederholte Gabe. Die **subakute Exposition** entspricht der wiederholten Applikation bis zu 28 Tagen. Die **subchronische Exposition** erfolgt zwischen einem und drei Monaten. Eine Applikation über einen Zeitraum von drei Monaten hinaus wird als **chronische Exposition** bezeichnet. Die toxischen Effekte nach akuter Gabe unterscheiden sich oft von der Symptomatik nach wiederholter Gabe. Beispielsweise führt akute Benzolaufnahme zu zentralnervösen Wirkungen, während die wiederholte Aufnahme eine Leukämie auslösen kann. Die Symptomatik einer akuten Exposition kann jedoch auch verzögert auftreten, sodass die Effekte einer Einzeldosis erst nach Tagen beobachtet werden können, wie nach einer akuten Paracetamol-Intoxikation. Die Schwere einer solchen Vergiftung kann daher anfänglich unterschätzt werden.

Die wiederholte oder kontinuierliche Aufnahme kann jedoch auch zu Toleranz führen, das heißt zu einer reduzierten Wirkung aufgrund einer vorherigen Exposition mit derselben oder einer strukturverwandten Substanz. Die Toleranz beruht auf zwei unterschiedlichen Mechanismen. Der eine beruht darauf, dass weniger toxische Substanz das Zielorgan erreicht, wie nach Induktion des substanzspezifischen Metabolismus. Der zweite Grund kann eine reduzierte Empfindlichkeit des Zielorgans sein. Über die Ursachen hierfür ist nur wenig bekannt.

Toleranzen bilden sich zum einen bei einigen Arzneimitteln aus, aber auch bei toxischen Fremdstoffen wie Tetrachlorkohlenstoff. Die wiederholte Aufnahme von Tetrachlorkohlenstoff führt zu einer verringerten Produktion von reaktiven Metaboliten wie dem Trichlormethyl-Radikal, das für die Hepatotoxizität verantwortlich gemacht wird. Ein anderes Beispiel ist die wiederholte Aufnahme von Cadmium, das die Synthese von Cadmium-bindendem Metallothionein induziert und auf diese Weise die freie Cadmiumkonzentration und somit die Cadmiumtoxizität reduziert.

Eine andere wichtige Frage für die Beurteilung des toxischen Risikos ist die Frage nach der Reversibilität der Effekte. Beispielswiese führt die Intoxikation durch Carbamate zu einer reversiblen Hemmung der Acetylcholinesterase-Aktivität. Die Aktivität kehrt daher nach wenigen Stunden zurück. Dagegen binden Alkylphosphate irreversibel an dasselbe Enzym. Die Vergiftungssymptome sind sehr ähnlich, die Aktivität der Acetylcholinesterase kann jedoch größtenteils nur durch eine De-novo-Synthese des Enzyms wieder hergestellt werden (Eryth-

rozyten-Mauser). Die Vergiftungssymptomatik bleibt länger erhalten und die therapeutischen Maßnahmen bei einer Intoxikation können sich unterscheiden.

Daneben kann die Interaktion von zwei oder mehr Fremdstoffen zu einer Verstärkung oder Abschwächung der Einzeleffekte führen. Eine additive Wirkung liegt dann vor, wenn die Symptome nach gleichzeitiger Gabe von zwei Substanzen der Summe der einzelnen Effekte entsprechen (Aufnahme von zwei verschiedenen Organophosphaten). Eine synergistische Wirkung ist gegeben, wenn die Symptome nach simultaner Gabe von zwei Fremdstoffen sehr viel größer sind, als die Summe der Einzelwirkungen erwarten ließe. Zum Beispiel ist die Hepatotoxizität von Tetrachlorkohlenstoff in Gegenwart von Ethanol sehr viel größer, als man über eine Summation der Einzeleffekte abschätzen würde. Unter der Potenzierung versteht man die Situation, dass eine Substanz keine toxische Wirkung auf ein bestimmtes Organsystem hat, aber die Toxizität einer anderen Verbindung deutlich steigert. Beispielsweise ist Isopropanol nicht hepatotoxisch. Wird es jedoch zusammen mit Tetrachlorkohlenstoff appliziert, wird die Hepatotoxizität des letzteren ganz erheblich gesteigert. Die Interaktion zwischen einem toxischen Agens und einem sogenannten Antidot wird dagegen therapeutisch genutzt. Dabei kann das Zustandekommen des „Antagonismus“ auf sehr verschiedenen Prinzipien beruhen. Wenn zwei Substanzen ihre Wirkungen durch entgegengesetzte Effekte an derselben physiologischen Einheit aufheben, spricht man von einem **funktionellen Antagonismus**. Beispielsweise werden Konvulsionen, die bei sehr vielen Vergiftungen beobachtet werden, durch die Gabe von Diazepam antagonisiert, ohne dass beide Substanzen am selben Rezeptor konkurrieren. Von einem **chemischen Antagonismus** (Inaktivierung) spricht man, wenn eine einfache chemische Reaktion zwischen zwei Substanzen zu einer weniger toxischen Verbindung führt. Es ist bekannt, dass Dimercaprol (BAL) Chelate mit Arsen, Blei oder Quecksilber bildet. Dieser Metallkomplex entzieht einerseits die toxischen Metalle den Zielorganen und bringt sie andererseits schneller zur Elimination. Die Bindung zweier Substanzen an demselben Rezeptor wird als **Rezeptor-Antagonismus** bezeichnet. Nach diesem Prinzip lassen sich die Morphinintoxikation mit Naloxon oder die Benzodiazepinüberdosierung mit Flumazenil behandeln, da die Wirksubstanzen und Antidote um dieselben Bindungsstellen an den Rezeptoren konkurrieren. Dabei muss sichergestellt sein, dass der Antagonist am jeweiligen Rezeptor keine entsprechende pharmakodynamische Wirkung ausübt. Die Gabe von Atropin bei der Organophosphatintoxikation ist ein Beispiel dafür, dass das Antidot nicht mit dem Gift am Rezeptor konkurriert, sondern vielmehr den Rezeptor für das natürliche Agens, das Acetylcholin, blockiert, das in der Intoxikation akkumuliert.

Neben einer Reihe neuer Werkstoffe und Substanzen spielen in den letzten Jahren die sogenannten Nanopartikel eine zunehmende Rolle in verschiedensten Industriezweigen. Nanopartikel wurden im vergangenen Jahrzehnt intensiv toxikologisch untersucht. In jüngerer Zeit stehen Nano- und Mikroplastikpartikel in der öffentlichen Diskussion. Anders als Nanopartikel werden die meisten Mikroplastikpartikel nicht als solche hergestellt, sondern entstehen durch Abrieb oder Abbau von polymeren Kunststoffen. Ihre toxikologische Untersuchung profitiert von den Erfahrungen mit Nanopartikeln. Die Toxikologie beider Stoffgruppen wird in der vorliegenden Auflage des Werkes vorgestellt.

Seit einigen Jahren gewinnt die regulatorische Toxikologie zunehmend an Bedeutung, die sich mit der Beurteilung von genetisch modifizierten Pflanzen in Lebensmitteln oder mit gentechnisch hergestellten Arzneimitteln beschäftigt. Obgleich bereits eine Vielzahl von Prüfvorschriften existiert, gibt es insbesondere hier ein hohes Maß an öffentlicher Diskussion („Gen-Food“) und erforderlicher Aufklärung.

Die Toxikologie ist eine der wenigen wissenschaftlichen Disziplinen, deren Erkenntnisse eine große und oft sofortige öffentliche Resonanz haben können. Zurzeit ist die Furcht vor Schädigungen der Gesundheit und Umwelt durch Chemikalien ein wichtiges Thema der öffentlichen Aufmerksamkeit – zumindest in unseren hochzivilisierten Kulturkreisen. Diese Angst vor den chemischen Wirkprinzipien ist nicht neu. Bereits Plinius der Ältere (römischer Gelehrter, 23–79 n. Chr.) stellte im 1. Jahrhundert v. Chr. fest: „So viele Gifte werden benutzt, um den Wein unserem Geschmack anzupassen, und wir wundern uns darüber, dass uns dies nicht wohltut.“ Heute aber kann ein massiver „Einbruch der Chemie in den Lebensraum des Menschen“ nicht geleugnet werden und zwingt zu kritischer Auseinandersetzung.

In zukünftigen Geschichtsbüchern wird die zweite Hälfte des 20. Jahrhunderts als die Ära der synthetischen Chemie und der Biotechnologie Eingang finden. Beginnend in den 1940er-Jahren haben wir eine explosive Entwicklung neuer industrieller Technologien und eine Integration synthetischer Chemikalien in unser persönliches Leben erfahren. In der EU sind 22 660 Chemikalien registriert. Von diesen Substanzen können qualitativ und quantitativ unterschiedliche gesundheitsschädliche Wirkungen ausgehen. Während zunächst diese Chemie in unserem Leben als Gewinn positiv beurteilt wurde, betrachtet sie die Gesellschaft – aufgeweckt z. B. durch Rachel Carsons (Meeresbiologin, Schriftstellerin 1907–1964) „Stummer Frühling“ – heute mit Misstrauen. Obgleich wir heute ein deutlich längeres und qualitativ reicheres Leben ge-

nießen, betrachtet die Öffentlichkeit Wissenschaft und Technologie nicht mehr als wertvolle Verbündete, sondern mehr oder weniger als Feinde der Natur.

Der Druck der Öffentlichkeit hat zu einer strikten Gesetzgebung hinsichtlich chemischer Exposition in der Umwelt und am Arbeitsplatz geführt: Wir alle können selbstverständlich gemeinsam nur begrüßen und fordern, dass das Wohl von Mensch und Umwelt geschützt wird. Unbestreitbar ist aber auch, dass die Industrie ermutigt werden muss, Forschung zur Entwicklung neuer Materialien zu betreiben, die von Wert für uns alle sind. Die toxikologische Risikoabschätzung, d. h. die Beurteilung des Risikos für die menschliche Gesundheit und Umwelt durch Exposition gegenüber Chemikalien, gerät zum einen zunehmend zwischen die Fronten dieser beiden Postulate und steht zum anderen auf durchaus unsicherer wissenschaftlicher Basis.

Beispiele hierfür gibt es auch aus der jüngsten Zeit auf ganz unterschiedlichen Feldern. Neben der Diskussion um sogenannte „genmanipulierte" Lebensmittel hat in den letzten Jahren eine breite öffentliche Diskussion über den Einsatz von Herbiziden in der Landwirtschaft stattgefunden, als „Pars pro Toto" wurde das Glyphosat mit großem Engagement sehr kontrovers diskutiert.

Nicht zuletzt sind wir auch mit dem intensiven Aufbringen von Gülle auf die Felder konfrontiert, was zu einer hohen Beladung der Böden mit Stickstoffverbindungen und Nitrat führt, mit der Konsequenz, dass unser Trinkwasser zunehmend damit belastet wird.

Alle diese Probleme können mithilfe von rationalen, wissenschaftlich fundierten Fakten diskutiert und auf dieser Basis sicherlich – zumindest teilweise – auch gelöst werden, auch wenn es nicht immer einfache Lösungen werden könnten. Leider prägen aber zunehmend Vermutungen, teilweise unbegründete Annahmen oder allgemeine Ängste die öffentliche Debatte, was einen gesellschaftlichen Konsens erschwert.

Einerseits ist die moderne chemisch-analytische Technik heute in der Lage, die meisten synthetischen und natürlichen Stoffe in fast unvorstellbar geringen Spuren zu bestimmen. Solche analytischen Stoffnachweise werden häufig ohne wissenschaftlichen Beweis mit Krankheitssymptomen verbunden, die solche Stoffe bei Einwirkung hoher Dosen auslösen, ohne zu beachten, dass zwischen analytisch ermitteltem Wert und krankmachender Dosis unter Umständen viele Zehnerpotenzen liegen. Ohne eine derartige quantitative Wirkungsbetrachtung und Risikobeurteilung aber ist der analytische Befund bedeutungslos. Andererseits hat die Toxikologie diesen Fortschritten der Analytik nicht immer folgen können: Es ist unbestreitbar, dass trotz großen Erkenntnisgewinns in den vergangenen Jahren unser Wissen um die Mechanismen der Toxizität und unsere Fähigkeit zu quantitativer Risikobewertung begrenzt sind.

Die Toxikologie als Lehre von den Giften und Giftwirkungen beschreibt als angewandte Wissenschaft die chemisch-biologischen Wechselwirkungen mit akuter und chronischer gesundheitsschädlicher Auswirkung insbesondere auf den Menschen und versucht diese zu quantifizieren, um die Schäden zu erkennen, möglichst zu verhüten und eventuell zu behandeln. Damit ist dieses Fach gefordert, einen wesentlichen wissenschaftlichen Beitrag zur Präventivmedizin zu erbringen („The ultimate goal in medicine is to achieve to die young as late as possible"; E. Wynder, amerikanischer Mediziner, 1922–1999). Dies war nicht immer so: Das griechische Wort „toxicon" bedeutet „Pfeilgift". Zusammen mit dem „logos", der Lehre, leitet sich daraus der Begriff „Toxikologie" ab.

Sicher kann man darüber streiten, inwieweit die Vermehrung der Chemie – Kosmetika, Waschmittel oder Nahrungsmittelzusätze – überflüssig ist; eine solche Debatte aber ist irrelevant: Diese Produkte sind Teil unseres Lebens und werden dies auch für die vorhersehbare Zukunft bleiben. Die Aufgabe der Toxikologie ist es sicherzustellen, dass der Mensch keinem unnötigen Risiko durch Exposition gegenüber diesen Substanzen ausgesetzt wird. Dabei ist die Basis in der Toxikologie die experimentelle Studie, um prädiktiv im Sinne des vorbeugenden Gesundheitsschutzes ein Gefahrenpotenzial aufzeigen zu können. Die Entwicklung definierter Stämme von Labortieren und Methoden zu ihrer Haltung ermöglichte die Durchführung reproduzierbarer Experimente und muss als der eigentliche Beginn der experimentellen Toxikologie angesehen werden. Immer mehr werden diese ergänzt und ersetzt durch Alternativmethoden (auch als „New Approach Methods", NAM, bezeichnet). Diese nutzen sowohl Biomakromoleküle und Zell- oder Gewebekulturen als experimentelle Modelle als auch vorhandene toxikologische Daten, die mittels Algorithmen und künstlicher Intelligenz (KI) in rechnergestützten Modellen (Computational Toxicology) zur toxikologischen Einschätzung noch nicht untersuchter Stoffe genutzt werden.

Wichtigste Grundlage der Toxikologie ist die Erkenntnis des Paracelsus (Theophrastus Bombastus von Hohenheim, 1493–541), dass es keine giftigen Substanzen gibt, sondern nur giftige Dosierungen (Anwendungen) von Substanzen. In seiner 3. Kärntner Defension hat Paracelsus klargemacht, dass Gift nicht mit Stoff schlechthin definiert werden kann, sondern dass ein und derselbe Stoff Gift und Nicht-Gift sein kann und dass „allein die Dosis macht, dass ein Ding kein Gift sei". Paracelsus folgend muss man heute Gift als ein Wirkprinzip definieren, das an die chemische Materie und an die Dosis gebunden ist. Als Toxikologen sind wir demzufolge mit dem Problem konfrontiert, dass – z. B. mit Ausnahme gentoxischer Verbindungen – eine Substanz oberhalb

einer Schwellenkonzentration toxisch (selbst 100 g Kochsalz können tödlich sein), aber unterhalb dieser Schwelle nicht-toxisch ist. Diese Problematik kann nur durch eine sorgfältige Analyse der zugrunde liegenden Wirkungsmechanismen und Bedingungen, unter denen die Toxizität entsteht, gelöst werden. Diese Schwellenkonzentrationen werden aus toxikologischen Untersuchungen als sogenannte (no adverse effect level) NOAEL abgeleitet und führen unter Berücksichtigung von Bewertungsfaktoren aus toxikologischer Sicht zu duldbaren menschlichen Expositionen (zu Grenz- bzw. Richtwerten, z. B. ADI: accepted daily intake).

Die heutige Toxikologie mit ihrem Schwerpunkt der Erfassung möglicher Gesundheitsgefährdungen durch Belastungen von Wasser, Boden, Luft oder Nahrungsmitteln ist vor besonders schwierige Aufgaben und Probleme gestellt, wenn es dabei um die Frage nach biologischen Wirkungen im Niedrigst-Dosis-Bereich geht. Die Toxikologie behandelte zunächst (Mathieu Orfila, Chemiker, 1787–1853) akute Vergiftungen nach relativ hohen Expositionen. Diese Krankheitsbilder sind durch eine mehr oder weniger typische Symptomatik, charakteristischen Ablauf und klar erkennbaren zeitlichen Zusammenhang zwischen Substanzaufnahme und Krankheitsbeginn sowie durch weitgehende Reversibilität der Effekte und den eben beschriebenen Begriff des Schwellenwertes gekennzeichnet. Die moderne Toxikologie befasst sich etwa seit den 1950er-Jahren weitgehend mit der chronischen Intoxikation und den Auswirkungen der Aufnahme von Spuren körperfremder Stoffe über lange Zeiträume. Zu dieser Entwicklung hat wesentlich die Identifizierung eines neuen Typs toxischer Wirkung geführt, nämlich die Interaktion chemischer Stoffe mit dem genetischen Material.

Bei diesen gentoxischen Wirkungen – die zu Mutagenese, Kanzerogenese und Teratogenese führen können – handelt es sich um weitgehend irreversible Schädigungen, die bereits bei geringsten Expositionen auftreten können. Gerade die (oft mehr theoretische) Möglichkeit, dass eine Langzeitexposition gegenüber Minimaldosen Krebs auslösen könnte, verursacht in der Öffentlichkeit Furcht und Unsicherheit, während wir alle wissen und akzeptieren, dass Chemikalien in hoher Dosierung akut giftig sind:

- Jährlich sterben Kinder an akzidentiellen Vergiftungen, insbesondere durch Haushaltschemikalien: Dieses Risiko ist allgemein akzeptiert.
- Die Mehrheit unserer Mitbürger hat dagegen Angst vor einem Risiko von 5:1 000 000 (wenn überhaupt existent), durch Asbest in einer Schule Krebs zu entwickeln und verlangt die sogenannte Asbest-„Sanierung“, obwohl gerade dadurch erst wirkliche Asbest-Gefahren hervorgerufen werden können.

Die Beurteilung des Gefahrenpotenzials von Kanzerogenen ist besonders schwierig: Die Ursachen für die Umwandlung einer Normalzelle in eine Krebszelle sind vermutlich vielfältig, die zugrunde liegenden Wirkmechanismen weitgehend unbekannt, die Test-Systeme (Assays) in vieler Hinsicht inadäquat. Trotzdem gibt es auch hier Grundlagen für eine Risikobewertung: Nach Paracelsus ist die Exposition gegenüber Konzentrationen unterhalb des Grenzwertes unbedenklich. Für einen Teil von Kanzerogenen, solchen, die mit dem genetischen Material interagieren, können derartige gesundheitsbezogene Grenzwerte z. Zt. nicht definiert werden. Hier gilt der experimentell nicht bewiesene Grundsatz der stochastischen Wirkung. Er besagt, dass mit sinkender Konzentration eines Fremdstoffes zwar die Schadenswahrscheinlichkeit abnimmt, solange aber nicht null wird, wie noch ein einziges Molekül vorhanden ist. Für eine große Anzahl sogenannter nicht-gentoxischer Kanzerogene, die uns vielfach umgeben, wie Saccharin, aber auch chlorierte Kohlenwasserstoffe, gibt es jedoch keinen Grund, nicht der Regel des Paracelsus zu folgen. Wir können nicht für sinnvoll erklären, dass Testergebnisse, die mit zum Teil exorbitanten Dosen erzielt wurden, in den ppb/ppt-Bereich der normalen Umweltkonzentrationen (ein Zuckerwürfel aufgelöst im Bodensee) extrapoliert werden.

Die toxikologische Bewertung einer Chemikalie und einer bestimmten Situation, bei der Menschen gegenüber Chemikalien exponiert sind, verlangt also offensichtlich Sachkenntnis und große Erfahrung. Die simple Übertragung von tierexperimentellen Daten auf den Menschen ohne Berücksichtigung von Interspezies-Unterschieden und Wirkungsmechanismen und ohne quantitative Dosis-Wirkungs-Beziehungen führt zwangsläufig zu großer Unsicherheit („Extrapolation in toxicology is more than using carbon paper“, A. F. Rahde).

Die Bewertung des gesundheitlichen Risikos einer Exposition gegenüber Chemikalien kann nur auf der Grundlage gesicherter wissenschaftlicher Erkenntnisse erfolgen. Wir können nicht weiterhin Irrationalität beim Umgang mit Chemikalien tolerieren bzw. kultivieren. Die Chemophobie, die heute beim Umgang mit Chemikalien oft im Vordergrund steht, ist häufig nicht wissenschaftliche Realität. Es wird gewarnt, längst bevor klar ist, wovor genau gewarnt werden muss; der findet am ehesten Glauben, der ein Risiko am schwärzesten malt (H. Rüdiger).

Was für die Exposition gegenüber chemischen Substanzen gilt, ist gleichermaßen für eine Exposition gegenüber Radioaktivität gegeben. In Deutschland wurde u. a. aufgrund der Ereignisse in Fukushima der Ausstieg aus der Kernenergie beschlossen, weshalb die Energiemengen, die auf diese Weise reduziert werden, durch eine andere Energieform ersetzt werden müssen. Eine durch Braunkohle erzeugte Terawattstunde elektrischen Stroms

verursacht um mehrere Größenordnungen mehr Tote durch Unfälle und Luftverschmutzung als die Kernkraft (https://de.statista.com/infografik/14187/todesfaelle-nach-energiequelle/).

Die Verantwortung der Wissenschaft Toxikologie für den Menschen und die technischen Entwicklungen in der chemischen Industrie sollten uns ermutigen, dieses Fach auch weiterhin mit Sorgfalt und kritischem Sachverstand zu entwickeln. Der wissenschaftlich begründeten Risikoabschätzung kommt dabei eine besonders große Bedeutung zu. Die dramatischen Entwicklungen der Toxikologie in den vergangenen Dekaden müssen Eingang finden in die toxikologische Bewertung und vor allem der Allgemeinheit vermittelt werden. Ärzte, Chemiker und andere Naturwissenschaftler müssen mehr als bisher mit den toxikologischen Erkenntnissen und den Prinzipien der toxikologischen Bewertung vertraut gemacht werden. Dieser Aufgabe sei dieses Buch gewidmet.

4 Toxikokinetik

Eric Fabian und Alexander Cartus[1]

4.1 Einführung

Die Wirkungen eines Fremdstoffes im Organismus von Mensch und Tier werden durch seine toxikodynamischen und toxikokinetischen Eigenschaften bestimmt. Die Pharmako- bzw. Toxikodynamik (griech.: φαρμακον = Heilmittel; δυναμις = Stärke) beschreibt die Wirkungen und Wirkungsmechanismen einer Substanz, d. h. „was die Substanz mit dem Körper anstellt". Ausmaß und Zeitverlauf der Wirkungen hängen aber auch von der Pharmako- bzw. Toxikokinetik (griech.: κινειν = bewegen) ab. Sie beschreibt den zeitlichen Verlauf der Konzentrationen einer Substanz im Organismus, die aus dem Zusammenspiel von Resorption, Verteilung und Elimination resultieren. Die Pharmako- oder Toxikokinetik befasst sich damit, „was der Körper mit der Substanz anstellt".

4.1.1 Was ist Toxikokinetik?

Der Ausdruck „Toxikokinetik" wurde offenbar zum ersten Mal 1937 in einer Publikation eines russischen Autors gebraucht (Case 1993). Die Begriffe Pharmakokinetik und Toxikokinetik meinen dabei im Wesen dasselbe und werden je nach Schwerpunkt der Fragestellung benutzt. Je nach Kontext findet man unterschiedliche Definitionen des Begriffs Toxikokinetik (■ Tab. 4.1). Im Folgenden soll der „neutrale" Begriff „Kinetik" verwendet werden. Entsprechend soll unter Fremdstoff jede Substanz verstanden werden, die normalerweise nicht im Körper vorkommt und im Organismus Wirkungen auslöst, unabhängig davon, ob diese als „therapeutische" oder „toxische" Wirkungen zu werten sind.

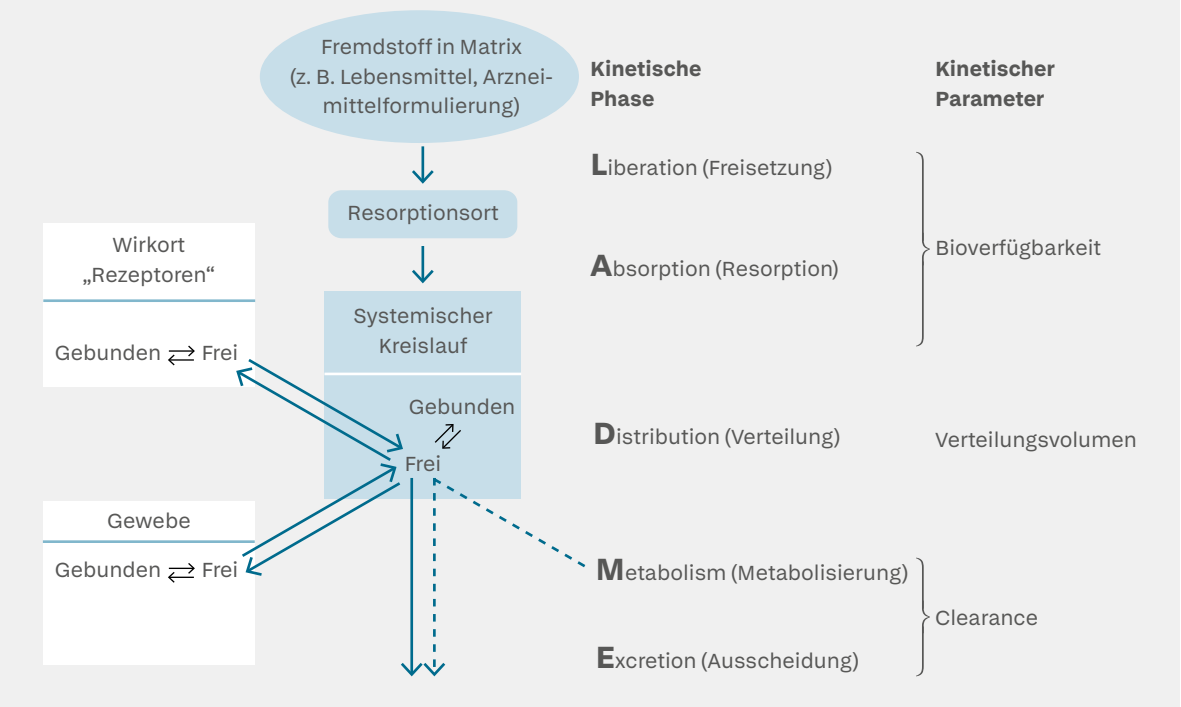
4.1.2 Toxiko-(pharmako-)kinetische Parameter

Das Schicksal eines Fremdstoffs im Organismus lässt sich durch das sogenannte ADME-Schema (● Abb. 4.1) beschreiben. Unter Umständen muss er aus einer Matrix oder einer Wirkstoffzubereitung erst freigesetzt werden (**L**iberation; in diesem Fall wird das Schema auch als LADME bezeichnet). Ein Beispiel ist die Freisetzung von Blausäure (HCN) aus cyanogenen Glykosiden in Bitteren Mandeln oder Leinsamen. Sofern der Fremdstoff nicht direkt ins Blut injiziert wird, muss er zunächst resorbiert werden (**A**bsorption; z. B. aus der Gastrointestinalflüssigkeit, einem intramuskulären oder subkutanen Depot). Nachdem der Stoff in das Blut gelangt ist, wird er mit dem Blutstrom in die Gewebe verteilt (**D**istribution). Die meisten Fremdstoffe werden – in unterschiedlichem Ausmaß – reversibel an Plasmaproteine und Gewebebestandteile gebunden. Sie können durch den Stoffwechsel verändert werden (**M**etabolismus) und werden schließlich – unverändert oder als Metaboliten – aus dem Körper wieder ausgeschieden (**E**xkretion).

■ **Tab. 4.1** Was ist Toxikokinetik?

Definition	Quelle
„Toxicokinetics is … the application of pharmacokinetic principles to the investigation of toxicity and other adverse effects of drugs."	Yacobi et al. (1989)
„The primary purpose of toxicokinetics is to provide information on the rate, extent, and duration of exposure of the test animal species to the test compound during the course of a toxicity study."	Chasseaud (1993)
Toxicokinetics may be defined as „the generation of pharmacokinetic data, either as an integral component in the conduct of non-clinical toxicity studies or in specially designed supportive studies, in order to assess system exposure."	ICH2 (1993)
„Toxicokinetics is a unique expansion of the science of pharmacokinetics. The major difference between the two disciplines, of course, is that toxicokinetic studies are generally carried out at much higher doses than those used in pharmacokinetic studies."	Welling (1995)
Toxicokinetics (TK) is defined as a kinetic study that helps to determine the systemic toxicity by using a correlation between the plasma concentration of compound and the dose with respect to time.	Asati et al. (2022)

1 Das folgende Kapitel basiert auf einer früheren Ausgabe dieses Lehrbuchs. Die Autoren danken ihren Kollegen Harald Mückter und Hartmut Derendorf für die Grundlage zu diesem Kapitel.



● **Abb. 4.1** Schematische Darstellung des Schicksals eines Fremdstoffs im Organismus (sogenanntes (L)ADME-Schema)

4.1.3 „Lipophile“ Eigenschaften von Stoffen

Bei allen Stadien des ADME-Schemas muss ein Fremdstoff biologische Membranen permeieren. Die Fähigkeit zur Membranpermeation wird wesentlich durch die „lipophilen“ Eigenschaften einer Substanz bestimmt. In der Diskussion der Stoffeigenschaften, die bei Verteilungsvorgängen im Körper eine Rolle spielen, werden vier Begriffspaare (wasserlöslich – wasserunlöslich, polar – unpolar, hydrophil – hydrophob und lipophob – lipophil) häufig in derselben Bedeutung verwendet, wenn es um die Verteilung eines Stoffes, seinen Transport durch biologische Membranen oder seine Freisetzung aus einer Matrix geht.

Wasserlöslichkeit bezeichnet die Löslichkeit eines (Fest-)Stoffs in Wasser und wird in g/100 ml (in g/100 g Wasser) oder mol/l angegeben. Bei schwer löslichen Salzen wie Blei(II)chlorid ($PbCl_2$) ist die Angabe des Löslichkeitsprodukts L üblich, das sich aus der Gleichgewichtsbetrachtung zwischen der flüssigen Phase und dem ungelösten Bodensatz ($PbCl_2$ (fest)) der Salzlösung ergibt, z. B.:

$$PbCl_2(fest) \longleftrightarrow Pb^{2+} + 2\,Cl^-$$

$$\frac{[Pb^{2+}]\,[Cl^-]^2}{[PbCl_2]_{fest}} = K_c \text{ oder } [Pb^{2+}]\,[Cl^-]^2 = L_{PbCl_2}$$

In der Literatur wird häufig der negative dekadische Logarithmus (pL) des Löslichkeitsprodukts angegeben. Einige Beispiele sind in ■ Tab. 4.2 zusammengestellt.

Die Löslichkeit eines Stoffes hängt außer von der Art der Komponenten noch stark von der Temperatur ab. In der Toxikologie ist das Löslichkeitsprodukt einer Substanz für das Ausmaß ihrer Resorption wichtig. In manchen Fällen wird allerdings die Betrachtung der Löslichkeiten einzelner Ionen durch die Einstellung von komplexen Gleichgewichten erschwert. So beträgt beispielsweise die Löslichkeit von Quecksilber(II)oxid (HgO) in reinem Wasser nur 0,0001 mol/l. In Anwesenheit von Chloridionen, z. B. im Magensaft oder im Blutplasma, kommt es zur Bildung von basischem Quecksilber(II)chlorid, dessen Löslichkeit in Gegenwart von Alkalichloriden (z. B. Kochsalz) durch Bildung von Hg-Komplexen deutlich zunehmen kann:

Mangelnde Wasserlöslichkeit („wasserunlöslich“) impliziert keineswegs, dass ein solcher Stoff dann gut lipidlöslich ist und Lipidmembranen leicht passieren kann. So ist z. B. das wasserunlösliche Quecksilberselenid

$$HgO \underset{-\,aq}{\overset{+\,aq}{\rightleftharpoons}} Hg(OH)_2 \underset{-\,HCl}{\overset{+\,HCl}{\rightleftharpoons}} Hg(OH)Cl \underset{-\,HCl}{\overset{+\,HCl}{\rightleftharpoons}}$$

wenig wasserlöslich

$$HgCl_2 \underset{-\,2\,NaCl}{\overset{+\,2\,NaCl}{\rightleftharpoons}} [HgCl_4]^{2-} + 2\,Na^+$$

gut wasserlöslich

■ **Tab. 4.2** Löslichkeitsprodukte ausgewählter Salze (angegeben als pL-Werte bei Raumtemperatur). Zum Verständnis sei das Beispiel **$Fe(OH)_3$** ausgeführt: die Tabelle gibt einen pL-Wert von 37,3 an, also $L_{Fe(OH)_3} = 10^{-37,3}$.
Nach dem Massenwirkungsgesetz gilt $\frac{[Fe^{3+}] \cdot [OH^-]^3}{[Fe(OH)_3]_{fest}} = K_{Fe(OH)_3}$ bzw. $[Fe^{3+}]\,[OH^-]^3 = L_{Fe(OH)_3} = 10^{-37,3}$.
Mit $x = [Fe^{3+}]$ und $y = [OH^-]$ wird die Konzentration an freiem Fe^{3+} in Lösung errechnet, indem die Gleichung $x \cdot y^3 = L = 10^{-37,3}$ nach x aufgelöst wird. Das gelingt unter der Annahme, dass für jedes gelöste Fe^{3+}-Ion 3 Hydroxidionen in der Lösung erscheinen, also $y = 3x$.
Aus der Gleichung $x\,(3x)^3 = 27x^4 = L_{Fe(OH)_3} = 10^{-37,3}$ folgt für x der Wert $\sqrt[4]{\frac{10^{-37,3}}{27}} \approx 2 \cdot 10^{-10}$, entsprechend einer Fe^{3+}-Konzentration von rund 0,2 nmol/l.

Salz (Trivial- od. Mineralname)	Formel	pL	Vorkommen bzw. Verwendung
Lithiumcarbonat	Li_2CO_3	2,77	Phasenprophylaktikum (Wasserlöslichkeit: 1,29 g/100 ml bei 25 °C)
Calciumsulfat (Gips)	$CaSO_4$	4,62	Füllstoff
Bleichlorid	$PbCl_2$	4,80	Obsolet in Schilderfarben (Turners Gelb)
Bariumsulfat (Schwerspat)	$BaSO_4$	8,82	Röntgenkontrastmittel
Calciumfluorid (Flussspat)	CaF_2	9,77	Prismenmaterial
Silberbromid	AgBr	12,3	Fotografische Emulsionen
Quecksilber(I)chlorid (Kalomel)	Hg_2Cl_2	17,7	Obsolet als Abführmittel
Zinksulfid (Zinkblende)	ZnS	23,9	Leuchtschirme
Eisen(III)hydroxid	$Fe(OH)_3$	37,3	Rost
Quecksilbersulfid (Zinnober)	HgS	53,8	Rotes Pigment (praktisch unlöslich)

praktisch nicht neurotoxisch, weil die Substanz, die zu einem Feststoff aggregiert, in Wasser und in unpolaren Lösungsmitteln unlöslich ist. In diesem Zustand wird das Quecksilber praktisch nicht resorbiert.

Lipophilie „stellt die Affinität eines Moleküls oder einer Gruppe zu einer lipophilen Umgebung dar. Sie wird üblicherweise durch das Verteilungsverhalten in einem Zwei-Phasen-System gemessen, entweder flüssig-flüssig oder fest-flüssig“ (IUPAC).

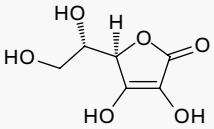
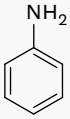
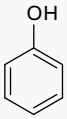
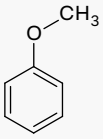
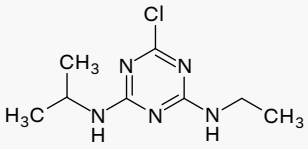
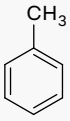
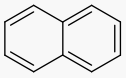
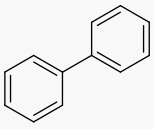
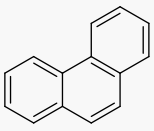
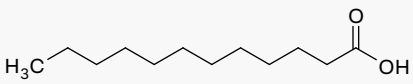
Hydrophobie „ist der Zusammenschluss unpolarer Gruppen oder Moleküle in einer wässrigen Umgebung, die sich aus dem Bestreben des Wassers ergibt, unpolare Moleküle auszuschließen“ (IUPAC).

Polarität: Als **unpolar** im physiko-chemischen Sinne wird eine Struktur angesehen, wenn ihr permanentes Dipolmoment gegen „0“ geht (dabei können einzelne Bindungen oder funktionelle Gruppen durchaus asymmetrische Ladungsverteilung zeigen, z. B. beim CO_2: $^{\delta-}O{=}C^{\delta++}{=}O^{\delta-}$). Lipophile Substanzen gelten als unpolar, da sie entweder ein vernachlässigbares Dipolmoment zeigen oder sich in unpolaren Lösungsmitteln lösen. Chloroform ($CHCl_3$) ist ein Beispiel für eine lipophile Verbindung, die zwar ein permanentes Dipolmoment besitzt, aber mit den meisten Lösungsmitteln (polar/unpolar) mischbar ist und selbst ein ausgezeichnetes Lösungsmittel für lipophile Substanzen darstellt.

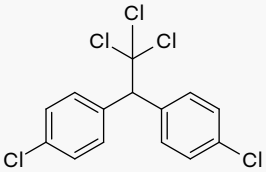
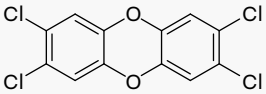
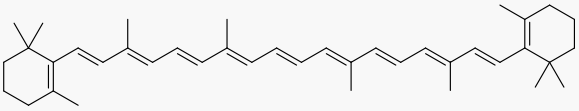
Seit 1960 wird zur Beurteilung der Lipophilie bzw. Hydrophobie eines Stoffs der Octanol/Wasser-Verteilungskoeffizient $\mathbf{P = C_{oct}/C_{H_2O}}$ benutzt, der das Verhältnis der Stoffkonzentrationen in einer wässrigen ($\mathbf{C_{H_2O}}$) und einer organischen ($\mathbf{C_{oct}}$) Phase ausdrückt, wenn beide miteinander im Gleichgewicht stehen. *n*-Octanol hat eine hydrophobe Alkankette und eine polare Kopfgruppe und ist daher wie biologische Lipide in der Lage, sowohl Wasserstoffbrückenbindungen (mit hydrophilen Stoffen) auszubilden als auch hydrophobe Wechselwirkungen (mit lipophilen Stoffen) auszuüben. Entscheidend für die tatsächliche Verteilung eines Stoffs zwischen Octanol und Wasser ist allerdings nicht seine Löslichkeit in Octanol, sondern die Tendenz der Wassermoleküle, die gelösten Stoffteilchen auszuschließen. Die Bestimmung geht von der Annahme aus, dass Wechselwirkungen der Lösungsmittelmoleküle untereinander keinen Einfluss auf die Verteilung haben und Wechselwirkungen der gelösten Teilchen der Testsubstanz untereinander vernachlässigbar sind. Letzteres wird theoretisch nur bei unendlicher Verdünnung erreicht; in der Praxis sorgt man dafür, dass die Stoffkonzentrationen in beiden Phasen unter 10 mmol/l liegen. Üblicherweise wird der dekadische Logarithmus von P tabelliert (logP, auch als „$\log P_{OW}$“ oder „$\log K_{OW}$“ bezeichnet). Für viele Stoffe konnte eine signifikante Korrelation ihrer logP-Werte und der Bioakkumulation, z. B. in Fischen, gezeigt werden. Auch bei der Abschätzung der Bindung einer Substanz in Boden und Sedimenten ist der logP nützlich. Ausgewählte logP-Werte zeigt ■ Tab. 4.3.

Für die Abschätzung des Verteilungskoeffizienten einer gegebenen Substanz stehen ebenfalls In-silico-Mo-

Tab. 4.3 Beispiele für Octanol/Wasser-Verteilungskoeffizienten. Angegeben sind die logarithmierten Werte (logP)

Substanz	Strukturformel	logP
L-Ascorbinsäure		–1,9
Anilin		0,9
Phenol		1,5
Anisol		2,1
Benzol		2,1
Trichlorethen		2,4
Atrazin		2,6
Toluol		2,7
Naphthalin		3,6
Biphenyl		4,0
Phenanthren		4,5
Laurinsäure		4,6

Tab. 4.3 Beispiele für Octanol/Wasser-Verteilungskoeffizienten. Angegeben sind die logarithmierten Werte (logP)

Substanz	Strukturformel	logP
DDT (p,p'-Dichlor-2,2-diphenyl-1,1,1-trichlorethan)		6,4
TCDD (2,3,7,8-Tetrachlordibenzo-p-dioxin)		6,8
β-Carotin		14,8

delle zur Verfügung, die anhand der Strukturformel und auf Grundlage verschiedener Deskriptoren logP-Werte berechnen können. Ein Beispiel für eine frei verfügbare Software ist VEGA QSAR (www.vegahub.eu), das unter den physiko-chemischen Eigenschaften drei verschiedene Modelle zur Vorhersage des logP-Wertes implementiert hat (Meylan/Kowwin, MLogP und ALogP). Die Verteilung eines Stoffs zwischen zwei Phasen ergibt sich in dieser Vorstellung aus dem Raumbedarf der betrachteten Moleküle einerseits und den differenziellen energetischen Wechselwirkungen mit Ursprungs- und Zielphase andererseits, zweckmäßig reduziert auf Polarisationseffekte, Wasserstoffbrücken und hydrophobe Wechselwirkungen.

4.2 Grundlegende kinetische Parameter

Für die meisten Fremdstoffe besteht eine Beziehung zwischen ihrer Konzentration am Wirkort und ihrer Wirkung. Diese Konzentration und auch die Konzentrationen in den meisten Geweben des Körpers sind – zumindest beim Menschen – einer direkten Messung nicht zugänglich. Zur kinetischen Analyse ist man daher im Wesentlichen auf die Messung der Fremdstoffkonzentrationen in leicht zugänglichen Matrizes wie Blutplasma oder Exkreta (Urin, Fäzes, Speichel, Muttermilch etc.) angewiesen. Insbesondere dem Plasma kommt eine wesentliche Rolle als „Referenzflüssigkeit“ zu. Sowohl nach direkter Injektion in den Blutstrom wie nach Resorption (oral, dermal, inhalativ) gelangt eine Substanz zunächst ins Blutplasma. Von dort kann sie mit dem Blutstrom in die Gewebe verteilt werden.

Es mag auf den ersten Blick verblüffend erscheinen, dass sich die komplexen Vorgänge des LADME-Schemas durch wenige grundlegende kinetische Parameter quantifizieren lassen. Die Parameter zur Quantifizierung von Resorption, Verteilung, Metabolismus und Exkretion sind die **Bioverfügbarkeit**, das **Verteilungsvolumen** und die **Clearance**. Zur Beschreibung des zeitlichen Verlaufs der Konzentrationen dienen die **Halbwertszeit**, die Fläche unter der Konzentrations-Zeit-Kurve **AUC** (**a**rea **u**nder the **c**urve) und die maximalen ($\mathbf{C_{max}}$) und minimalen ($\mathbf{C_{min}}$) Konzentrationen im Blutplasma. Die den Zeitverlauf beschreibenden Parameter werden auch als „sekundäre“ kinetische Parameter bezeichnet, da sie von den „primären“ Parametern Bioverfügbarkeit, Verteilungsvolumen und Clearance bestimmt werden.

Zunächst sollen die grundlegenden kinetischen Parameter und ihr Zusammenspiel besprochen werden. In der Praxis basiert die kinetische Analyse weitgehend auf der Messung der gesamten Konzentration im Plasma. Idealerweise sollten zur kinetischen Analyse die Konzentrationen der nicht an Plasmaproteine gebundenen Moleküle, die „freien“ Konzentrationen im Plasmawasser gemessen werden. Wegen des methodischen und zeitlichen Aufwands zur Bestimmung der freien Konzentration (z. B. durch Ultrafiltration, Dialyse, Gelfiltration) basieren kinetische Untersuchungen üblicherweise auf den gemessenen Gesamtkonzentrationen. Auf die sich hierdurch ergebenden Probleme wird noch eingegangen.

4.2.1 Verteilungsvolumen

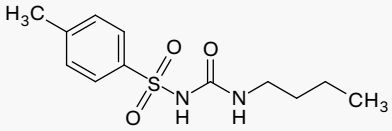
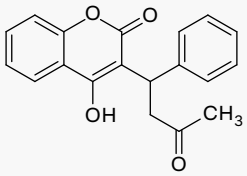
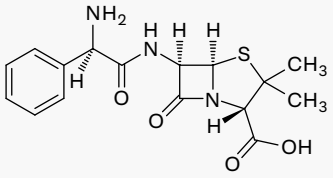
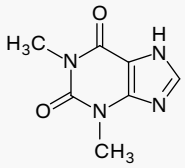
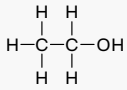
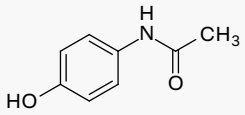
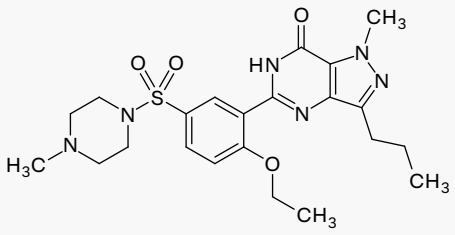
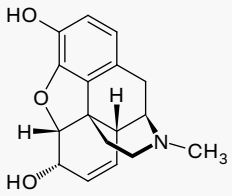
Das Verteilungsvolumen (V) eines Fremdstoffs ist definiert als Proportionalitätsfaktor zwischen der im Organismus vorhandenen Menge (A) des Fremdstoffs und seiner Konzentration im Plasma (C), d. h.:

$$A = V \cdot C \qquad \text{Gleichung 4.1}$$

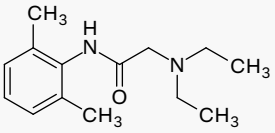
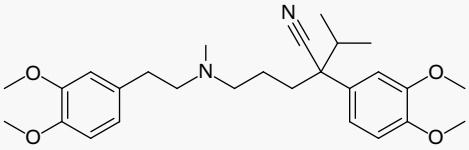
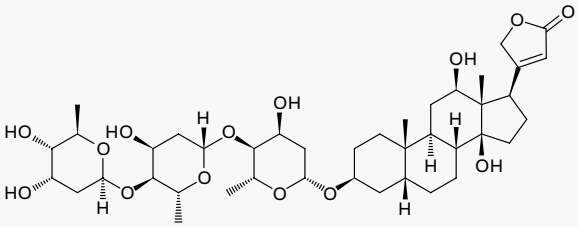
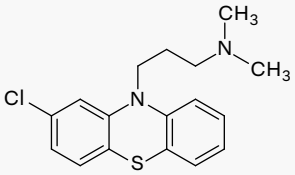
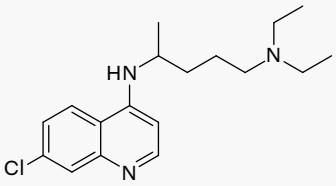
bzw.

$$V = \frac{A}{C} \qquad \text{Gleichung 4.2}$$

■ **Tab. 4.4** Beispiele für das scheinbare Verteilungsvolumen verschiedener Verbindungen

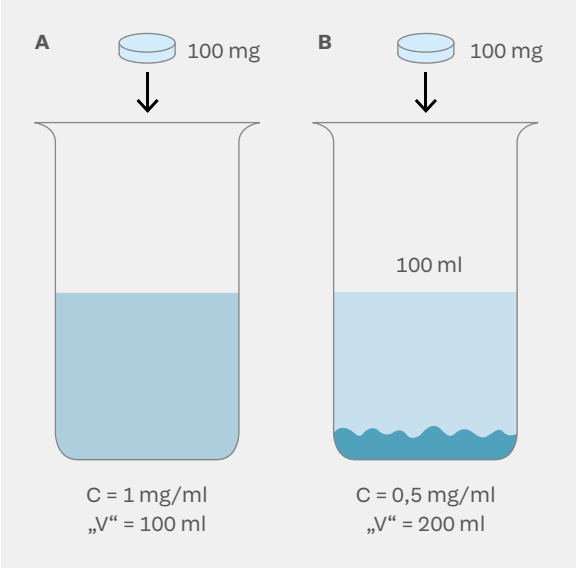
Substanz	Strukturformel	Molekülmasse [g/mol]	l/kg
Heparin	Variabel veresterte Glycosaminoglycane	6000–30 000	0,06
Insulin	Polypeptid, bestehend aus 51 Aminosäuren	5800	0,08
Tolbutamid		270,35	0,1
Warfarin		308,33	0,2
Ampicillin		349,41	0,3
Theophyllin		180,16	0,4
Ethanol		46,07	0,65
Paracetamol		151,16	1
Sildenafil		474,58	1,8
Morphin		285,34	2

■ **Tab. 4.4** Beispiele für das scheinbare Verteilungsvolumen verschiedener Verbindungen

Substanz	Strukturformel	Molekülmasse [g/mol]	l/kg
Lidocain		234,34	3
Verapamil		454,60	5
Digoxin		780,94	7
Chlorpromazin		318,86	20
Chloroquin		319,88	100

Als Proportionalitätsfaktor zwischen einer Menge (z. B. mg) und einer Konzentration (z. B. mg/l) hat das Verteilungsvolumen die Dimension eines Volumens (l oder bezogen auf das Körpergewicht l/kg). In ■ Tab. 4.4 sind einige Werte für Verteilungsvolumina zusammengestellt. Die Beispiele zeigen, dass sich die gemessenen Werte über mehrere Größenordnungen erstrecken können und meist keinem realen Verteilungsraum entsprechen. Je nachdem, wie gut ein Fremdstoff biologische Membranen permeieren kann, stehen für seine Verteilung im Organismus prinzipiell drei Verteilungsräume unterschiedlicher Größe zur Verfügung: das Plasma, der Extrazellulärraum (Plasma plus interstitielle Flüssigkeit) oder das gesamte Körperwasser. Das Plasmavolumen eines „Standardmenschen" von 70 kg beträgt etwa 3 l, entsprechend 0,04 l/kg Körpergewicht. Die meisten Xenobiotika können sich aber zumindest im Extrazellulärraum verteilen, dessen Volumen etwa 15 l bzw. 0,2 l/kg beträgt. Das gesamte Körperwasser beträgt rund 42 l oder 0,6 l/kg. Wie die Daten aus ■ Tab. 4.4 zeigen, kann das berechnete Verteilungsvolumen diese Werte erheblich übersteigen. Chlorpromazin hat z. B. ein Verteilungsvolumen von 20 l/kg, d. h. 1400 l bei einem Körpergewicht von 70 kg.

Dies erklärt sich dadurch, dass sich Fremdstoffe nicht gleichmäßig im Körper verteilen. Wenn z. B. ein erheblicher Anteil einer Dosis im Gewebe gebunden oder vom Fettgewebe aufgenommen wird, ist die resultierende Plasmakonzentration viel kleiner, als zu erwarten wäre, wenn sich der Fremdstoff nur im Körperwasser verteilt hätte (● Abb. 4.2). Daher ergibt die Berechnung des Verteilungsvolumens gemäß ● Gleichung 4.2 in solchen Fällen Werte, welche die Größe des physiologischen Verteilungsraums um ein Vielfaches übertreffen können. Bei der Interpretation von Zahlenwerten für das Verteilungsvolumen von Substanzen ist weiter zu berücksichtigen, dass Fremdstoffe nicht nur in den Geweben, sondern auch im Plasma gebunden werden können. Die Größe des nach der Definitionsgleichung (● Gleichung 4.2) be-



● **Abb. 4.2** Das Konzept des scheinbaren Verteilungsvolumens. In diesem vereinfachten Modell wird der Organismus als ein mit Wasser gefülltes Becherglas dargestellt.
A Eine Substanzmenge A von 100 mg ergibt in 100 ml gelöst eine Konzentration C von 1 mg/ml. Gemäß der Gleichung V = A/C errechnet sich für das Verteilungsvolumen ein Wert von 100 mg/1 mg/ml = 100 ml, was dem tatsächlichen Verteilungsraum entspricht.
B Wiederum wurden 100 mg gegeben, aber ein Teil der Menge hat sich im Gewebe angereichert (im Modell durch einen Bodensatz im Becherglas veranschaulicht). Deshalb ist die resultierende Konzentration niedriger als im anderen Experiment. In diesem Fall liefert die Berechnung 100 mg/0,5 mg/ml = 200 ml, ein scheinbares Verteilungsvolumen, das den tatsächlichen Verteilungsraum weit überschreitet.

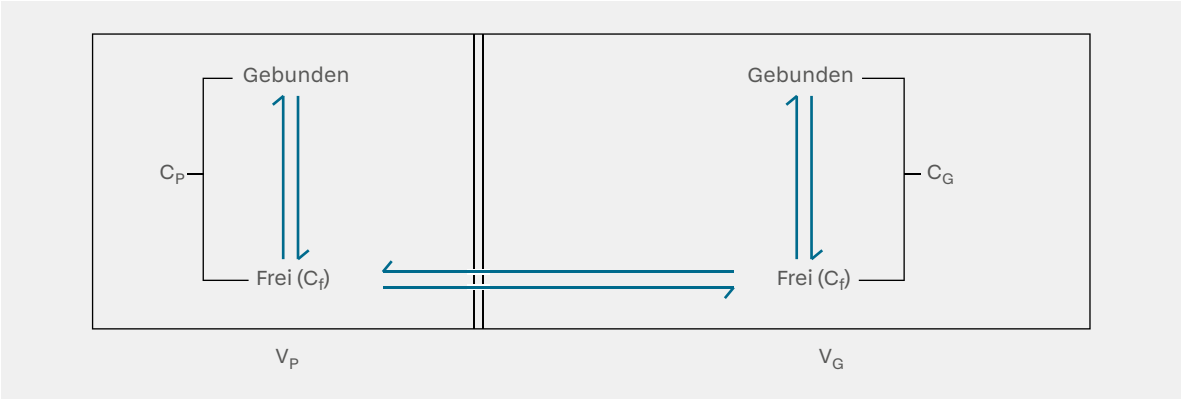
rechneten Verteilungsvolumens hängt also nicht nur von der Größe der realen Verteilungsräume ab, sondern wird zusätzlich durch das Ausmaß seiner Bindung an Plasma bzw. Gewebe bestimmt (● Abb. 4.3). Dies erklärt, warum für die meisten Substanzen das Verteilungsvolumen keinem realen Verteilungsraum entspricht und sein Zahlenwert praktisch jeden Wert zwischen dem Volumen des Plasmas und des Gesamtkörperwassers und auch darüber hinaus annehmen kann. Man spricht daher auch vom **scheinbaren Verteilungsvolumen** (apparent volume of distribution). Trotz seiner Unanschaulichkeit ist das so definierte Verteilungsvolumen aber eine bedeutende kinetische Kenngröße. Wenn sein Wert bekannt ist, kann gemäß ● Gleichung 4.1 die Menge eines Fremdstoffs berechnet werden, die nötig ist, um eine bestimmte Plasmakonzentration zu erzielen.

„Arten“ des Verteilungsvolumens

Der Begriff des Verteilungsvolumens, und damit auch seine Bestimmung, wird weiter dadurch kompliziert, dass die oben gegebene Definition nicht ganz eindeutig ist. Es wurde stillschweigend vorausgesetzt, dass sich ein steady state zwischen den Konzentrationen im Plasma und in den übrigen Geweben eingestellt hat. Das heißt nicht, dass die Konzentrationen im Körper überall gleich sind, aber dass sich die Konzentrationen in den verschiedenen Geweben so rasch ins Gleichgewicht setzen können, dass das Verhältnis zur Plasmakonzentration konstant bleibt. In diesem Fall verhält sich der Körper als ein „Kompartiment“. Für manche Substanzen ist die Annahme einer solchen „Ein-Kompartiment-Kinetik“ eine gute Annäherung und in solchen Fällen ist das gemäß ● Gleichung 4.2 definierte Verteilungsvolumen eine konstante Größe.

Für viele Fremdstoffe muss aber die Zeitabhängigkeit ihrer Verteilung in Betracht gezogen werden, d. h., es ist von zumindest zwei Kompartimenten auszugehen: einem „zentralen“ Kompartiment, das sich rasch mit dem Plasma äquilibriert, und einem oder mehreren „peripheren“ Kompartimenten, die sich nur langsam mit dem zentralen Kompartiment ins Gleichgewicht setzen. In solchen Fällen hängt die Größe des errechneten Verteilungsvolumens davon ab, zu welchem Zeitpunkt und unter welchen Bedingungen der Quotient aus Menge und Plasmakonzentration gemessen wird. Wird z. B. ein Pharmakon als Dauerinfusion verabreicht, so steigen die Plasmakonzentrationen bis zum Erreichen eines Gleichgewichts an. Das sich dabei einstellende Verhältnis zwischen der Gesamtmenge des Pharmakons im Organismus und der Plasmakonzentration wird als **Verteilungsvolumen im steady state** (V_{ss}) bezeichnet.

Wird eine Einzeldosis eines Pharmakons i. v. injiziert, so befindet sich zunächst die gesamte Menge im Plasmavolumen. Der Quotient zwischen der injizierten Gesamtmenge und der initial hohen Plasmakonzentration (das **initiale Verteilungsvolumen**, $V_{initial}$) ist niedrig (● Abb. 4.4 A). Im weiteren Verlauf verteilt sich das Pharmakon vom Plasma in die Gewebe und erst nach Abschluss der Verteilungsphase wird das Verteilungsvolumen im steady state erreicht (● Abb. 4.4 B). Da sich nun nur noch ein Teil der Gesamtmenge im Plasma befindet, ist das errechnete Verteilungsvolumen nach Abschluss der Verteilungsphase höher als in der Initialphase. Sofern sich das Gleichgewicht zwischen dem Plasma und dem peripheren Kompartiment nur langsam einstellen kann, wird die Konzentration im Gewebe beim weiteren Abfall der Plasmakonzentration dieser „hinterherhinken“ und das Verhältnis zwischen der Gesamtmenge im Organismus und der Plasmakonzentration ist daher höher als im Gleichgewicht (● Abb. 4.4 C). Wenn die Plasmakonzentrationen im Verhältnis zum langsamen Nachströmen des Pharmakons aus dem peripheren Kompartiment rasch abnehmen, kann das während der Eliminationsphase gemessene Verteilungsvolumen erheblich höher sein als V_{ss}. Das **Verteilungsvolumen**



● **Abb. 4.3** Abhängigkeit des scheinbaren Verteilungsvolumens eines Fremdstoffs von Plasma- und Gewebebindung.
Der Körper wird durch ein einfaches Modell, bestehend aus Plasma und Gewebekompartiment dargestellt, die die Volumina V_P bzw. V_G haben. Die Konzentrationen in Plasma und Gewebe sind C_P bzw. C_G. Sowohl im Plasma als auch im Gewebe ist ein Teil des Fremdstoffs reversibel gebunden (z. B. an Albumin oder Gewebeproteine), die jeweiligen freien (= ungebundenen) Anteile, ausgedrückt als Bruchteil von 1, sind f_P und f_G. Nur die freien Moleküle können die Barriere zwischen Plasma und Gewebe überwinden. Nach Einstellung des Gleichgewichts sind die freien Konzentrationen C_f in Plasma und Gewebe gleich.
Es gilt dann
$C_P \cdot f_P = C_f$ und $C_G \cdot f_G = C_f$ und daher $C_G/C_P = f_P/f_G$.
Die Gesamtmenge im Körper ist $A = V_P \cdot C_P + V_G \cdot C_G$. Gemäß ● Gleichung 4.2 errechnet sich für das Verteilungsvolumen:
$V = A/C_P = V_P + V_G \cdot (C_G/C_P)$ bzw. $V = V_P + V_G\,(f_P/f_G)$.
Man beachte, dass V das berechnete, scheinbare Verteilungsvolumen bedeutet, während V_P und V_G reale Volumina sind.
Es lassen sich nun mehrere typische Fälle unterscheiden:
1. Keine Bindung in Plasma und im Gewebe:
   $f_P = f_G = 1 \rightarrow V = V_P + V_G$
   d. h., das scheinbare Verteilungsvolumen entspricht dem realen Verteilungsraum (Beispiel: Ethanol; vgl. ■ Tab. 4.2).
2. Höhere Bindung im Plasma als im Gewebe:
   $f_P < f_G \rightarrow V < V_P + V_G$
   d. h., das scheinbare Verteilungsvolumen ist kleiner als der reale Verteilungsraum (Beispiel: Heparin).
3. Höhere Bindung im Gewebe als im Plasma:
   $f_P > f_G \rightarrow V > V_P + V_G$
   d. h., das scheinbare Verteilungsvolumen ist größer als der reale Verteilungsraum (Beispiel: Chlorpromazin).
4. Gleiche Bindung im Plasma und Gewebe:
   $f_P = f_G \rightarrow V = V_P + V_G$
   d. h., das scheinbare Verteilungsvolumen entspricht dem realen Verteilungsraum (Beispiel: Phenytoin).

während der Eliminationsphase wird als V_β, V_{area} oder V_z bezeichnet. Der Hintergrund für diese Nomenklatur wird später erläutert.

4.2.2 Clearance

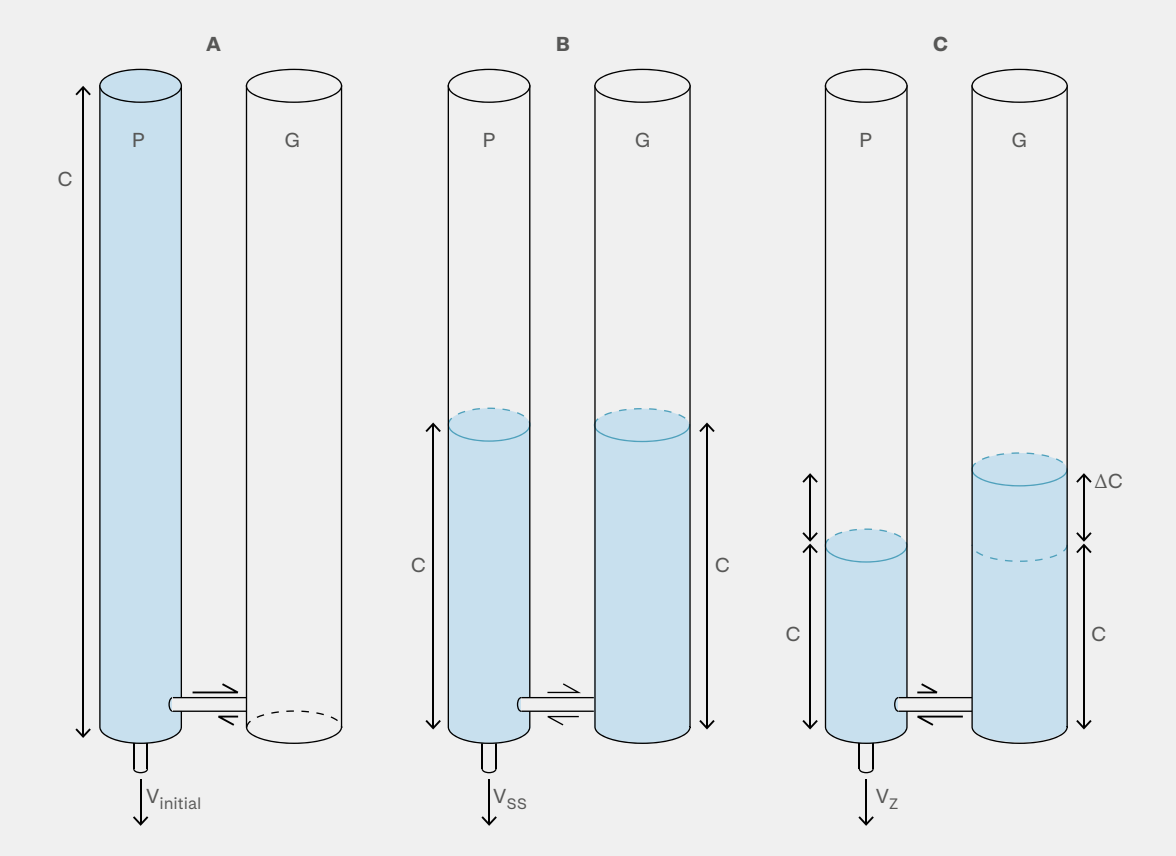
Die Clearance ist ein Maß für die Fähigkeit des Körpers, einen Stoff zu eliminieren. Unter dem Begriff **Elimination** werden alle Vorgänge zusammengefasst, die zu einer Abnahme der im Organismus vorhandenen Menge eines Fremdstoffs führen, d. h. die Ausscheidung (**Exkretion**) aus dem Körper sowie die Umwandlung durch **Metabolisierung** (● Abb. 4.5). Die quantitativ bedeutendsten Exkretionswege sind die Ausscheidung durch die Nieren in den Urin, die Sekretion über die Gallenflüssigkeit in den Darm mit anschließender Ausscheidung über die Fäzes und die Abatmung über die Lunge. Gelegentlich kann eine Substanz auch direkt vom Blut ins Darmlumen sezerniert werden, was man z. B. bei Thallium-Ionen beobachtet hat. Kleine Substanzmengen können schließlich auch durch andere Exkrete wie Speichel, Milch, Tränen oder mit abgeschilferten Epithelzellen ausgeschieden werden.

Vom kinetischen Standpunkt aus ist ein Fremdstoff auch eliminiert, wenn er in einen Metaboliten umgewandelt wurde, wenn auch die entstehenden Metaboliten noch im Organismus vorhanden sein können und ihrerseits erst durch Exkretionsvorgänge ausgeschieden werden müssen.

Als Kenngröße zur Charakterisierung der renalen Exkretion von Substanzen wird der Clearance-Begriff in der Nierenphysiologie schon seit langem benutzt. Aber auch alle anderen, zur Elimination beitragenden Vorgänge lassen sich durch Angabe einer Clearance charakterisieren. Die **totale Clearance** (CL) eines Stoffes ist die Summe aus **renaler** (CL_R) und **extrarenaler** („nonrenaler") **Clearance** (CL_{NR}).

Definition der Clearance

Definitionsgemäß ist die Clearance ein Proportionalitätsfaktor zwischen der pro Zeiteinheit eliminierten



● **Abb. 4.4** Die verschiedenen Arten des Verteilungsvolumens. Die Bedeutung der verschiedenen Volumen-Begriffe, die in der Toxikokinetik gebraucht werden, lässt sich am Modell kommunizierender Wasserbehälter veranschaulichen. Die Höhe der Wassersäule stellt die Konzentration C einer Substanz im Plasma (P) oder Gewebe (G) dar. Die jeweilige Wassermenge in den Behältern ist durch das Produkt C · B gegeben, wobei B die Grundfläche (Basis) des jeweiligen Behälters (B_P bzw. B_G) bedeutet. Das Verteilungsvolumen wird nach ● Gleichung 4.2 als der Quotient aus Gesamtmenge im System und der Plasmakonzentration berechnet.
A Zuerst wird eine gewisse Menge Wasser in den Behälter „Plasma" geschüttet (entsprechend einer intravenösen Bolusgabe). Unmittelbar nach der „Injektion" befindet sich die Substanz nur im „Plasma". Das initiale Verteilungsvolumen in diesem Augenblick lässt sich berechnen als $V_{initial} = C \cdot B_P / C = B_P$.
B Das Wasser verteilt sich vom „Plasma" ins „Gewebe". Sobald das Gleichgewicht zwischen den beiden Kompartimenten erreicht ist (d. h. es findet kein Nettotransfer mehr statt), erhält man das Verteilungsvolumen im Gleichgewicht (steady state) als

$$V_{SS} = \frac{C \cdot B_P + C \cdot B_G}{C} = B_P + B_G$$

C Da das Wasser aus dem „Plasma ausläuft", wird die „Konzentration" (Höhe der Wassersäule) in beiden Kompartimenten sinken. Wenn die Rückverteilung vom „Gewebe" zum „Plasma" langsam im Vergleich zur Elimination aus dem „Plasma" erfolgt, wird der Wasserspiegel des „Gewebes" um einen bestimmten Betrag ΔC „hinterherhinken". Das Verteilungsvolumen während der Eliminationsphase (V_Z) beträgt dann

$$V_Z = \frac{C \cdot B_P + (C + \Delta C) \cdot B_G}{C} = B_P + B_G \cdot \left(1 + \frac{\Delta C}{C}\right)$$

Somit gilt $V_{initial} < V_{ss} < V_z$.

Menge (A/t) eines Fremdstoffs und seiner Plasmakonzentration (C):

$$\frac{A}{t} = CL \cdot C \qquad \text{Gleichung 4.3}$$

oder als Differenzialgleichung:

$$-\frac{dA}{dt} = CL \cdot C \qquad \text{Gleichung 4.4}$$

Aufgelöst nach der Clearance ergibt sich:

$$CL = \frac{A/t}{C} \qquad \text{Gleichung 4.5}$$

Aus der Definitionsgleichung ergibt sich, dass die Einheit der Clearance Volumen pro Zeit ist, z. B. $ml \cdot min^{-1}$ oder $l \cdot h^{-1}$. Wird die Clearance auf das Körpergewicht bezogen, sind die Einheiten entsprechend $ml \cdot min^{-1} \cdot kg^{-1}$ oder $l \cdot h^{-1} \cdot kg^{-1}$.

7 Gentoxikologie und chemische Kanzerogenese

Alexander Bürkle, Albert Braeuning, Aswin Mangerich und Michael Schwarz[1]

7.1 Einführung

Krebs gehört heutzutage zu den bedeutendsten Erkrankungen der Menschheit, insbesondere in Gesellschaften mit hoher Lebenserwartung. Das Krebsgeschehen ist *ex natura canceris* irreversibel; dennoch ist die Diagnose „Krebs" heute, dank moderner Methoden der Früherkennung und Therapie, in vielen Fällen nicht mehr gleichbedeutend mit dem vorzeitigen Tod der erkrankten Person. Trotzdem sind Krebserkrankungen nach den kardiovaskulären Erkrankungen die häufigste Todesursache mit jährlich etwa 230 000 Opfern in Deutschland. Das griechische Wort für Krebs, „καρκινος" (*karzinos*), geht auf Hippokrates und das lateinische Wort für Krebs, *cancer*, auf Celsus zurück. „Wie eine Krabbe ihre Gliedmaßen aus allen Teilen ihres Körpers nach außen streckt, so schwellen bei dieser Krankheit die Venen auf, breiten sich aus und bilden eine ähnliche Figur", sagt Galen. Es wird aber auch behauptet, dass der Krebs seinen Namen daher erhalten habe, dass er den Körperteilen, die er ergreift, hartnäckig anhaftet wie eine Krabbe (Paulus von Aegina).

Unter Krebs wird ein bösartiger Tumor (Geschwulst) verstanden, dessen Wachstum autonom und überschießend ist und der gewisse pathologische Charakteristika aufweist, wie Zellatypien, invasives Wachstum und häufig auch Metastasierung. So ist die Bildung von Tochtergeschwülsten ein eindeutiges Zeichen der Malignität eines Tumors. Die Wachstumskontrolle des normalen Organismus ist beim bösartigen Wachstum von Tumorzellen aufgehoben. Während gutartige (benigne) Tumoren aus sich heraus expansiv und verdrängend wachsen, jedoch immer lokal begrenzt auftreten, erfolgt das Wachstum bei bösartigen Tumoren invasiv und infiltrativ unter Destruktion der Umgebung mit dem Potenzial, Gewebebarrieren zu überwinden und Metastasen zu bilden. Als **Karzinome** werden dabei maligne Tumoren epithelialen Ursprungs, als **Sarkome** Tumoren mesenchymalen Ursprungs bezeichnet.

Einerseits tragen erbliche genetische Determinanten, stochastische endogene Effekte während der Entwicklung und Alterung sowie ionisierende Strahlen und infektiöses biologisches Material (zumeist Viren) ursächlich zur Krebsentstehung (Kanzerogenese) beim Menschen bei. Andererseits geht man heute davon aus, dass chemische Substanzen in der Umwelt einen erheblichen Prozentsatz der menschlichen Tumoren (mit-)verursachen. Für die Bedeutung exogener Noxen bei der Kanzerogenese spricht die Tatsache, dass mehr als 90 % aller Krebserkrankungen bevorzugt an den epithelialen Geweben entstehen, von denen die meisten in direktem Kontakt mit der Umwelt stehen (Haut, Magen-Darm-Trakt, Urogenitalsystem, Bronchialbaum). Dies bedeutet im Gegenzug, dass die Verminderung der Exposition gegenüber exogenen kanzerogenen Substanzen, beispielsweise durch Änderungen der Lebensweise, zu einer Reduktion der Krebsinzidenz führen kann (Krebsprävention). Die Geschlechtsunterschiede in der Häufigkeit verschiedener Tumoren weisen zudem auf die Rolle endogener Substanzen bei der Kanzerogenese hin. Prinzipiell lassen sich kanzerogen wirkende Substanzen hinsichtlich ihrer Wirkungsweise in zwei Klassen einteilen:

- gentoxische Kanzerogene (**Gentoxine**) und
- nicht-gentoxische Kanzerogene (**Tumorpromotoren**).

Gentoxizität umfasst sämtliche adversen Prozesse, die zu einer Veränderung der Struktur oder des Informationsgehalts von DNA führen und ist keinesfalls ein seltenes Ereignis. Sowohl endogene Prozesse als auch die Exposition gegenüber exogenen chemischen oder physikalischen Agenzien führen kontinuierlich zu einer hohen Belastung von Zellen mit DNA-Schäden („DNA-Läsionen"). Der bei Weitem größte Anteil dieser DNA-Läsionen wird repariert und bleibt daher ohne negative Folgen. Nur ein geringer Anteil von DNA-Läsionen wird in bleibende und, falls sie in Keimbahnzellen auftreten, erbliche Mutationen umgesetzt. DNA-Schäden und Mutationen können zu schweren gesundheitlichen Folgen, wie beispielsweise Krebsentstehung, führen. Weiterhin steht ihr Auftreten in somatischen Zellen in direktem Bezug zu Alterungsmechanismen und neurodegenerativen Erkrankungen. Mutationen in Keimzellen hingegen können auf die Nachkommen übertragen werden. Deswegen müssen Risikoabschätzungen vorgenommen werden, sobald mutagene Substanzen als solche erkannt sind. Hierbei gilt der Grundsatz: Je größer das toxische Poten-

1 Das folgende Kapitel basiert auf einer früheren Ausgabe dieses Lehrbuchs. Die Autoren danken ihren Kolleginnen und Kollegen Małgorzata Debiak, Hans Marquardt und Rolf Schulte-Hermann für ihre wesentlichen Beiträge zu diesem Kapitel.

zial und je höher die Exposition (Dosis bzw. Konzentration und Zeitdauer), desto höher das Risiko. Bei umweltrelevanten Chemikalien ist ein entsprechendes Risiko-Management meist darauf ausgerichtet, den Eintrag der Substanz in die Umwelt zu unterbinden oder die Exposition so weit wie möglich zu vermindern.

Im vorliegenden Kapitel soll zunächst ein historischer Abriss ausgewählter Eckdaten und Ereignisse zur Geschichte der Kanzerogenese und Gentoxikologie sowie zu epidemiologischen Aspekten (▶ Kap. 7.3) gegeben werden. Anschließend folgt eine Einführung in das Mehrstufenmodell der Kanzerogenese (▶ Kap. 7.4). In den nachfolgenden Unterkapiteln werden sowohl gentoxische als auch nicht-gentoxische Substanzen und deren Wirkmechanismen im Detail behandelt (▶ Kap. 7.5 bis ▶ Kap. 7.9). Es folgen eine Zusammenfassung der verschiedenen Formen der beruflichen Exposition (▶ Kap. 7.10) sowie Überlegungen zur Modulation der Kanzerogenese (▶ Kap. 7.11) und zuletzt ein Überblick über die regulatorischen Rahmenbedingungen zur Gentoxizitäts- und Kanzerogenitätstestung, einschließlich etablierter und neu entwickelter Methoden (▶ Kap. 7.12, 7.13).

7.2 Historischer Rückblick

Bereits lange vor der Zeitwende, im Papyrus Ebers, findet sich eine recht genaue Beschreibung über die Ätiologie und Klinik des Blasenkrebses der im Niltal lebenden Bauern (Bilharziose). Wie wir heute wissen, wird dieser Krebs durch einen Trematoden (*Schistosoma haematobium*) verursacht. Dabei ist bis heute ungeklärt, ob hier chemische Substanzen oder ein „Reizkrebs" (Schmähl 1981) zugrunde liegen. Mit einiger Wahrscheinlichkeit kann davon ausgegangen werden, dass Paracelsus (1493–1541) als Erster eine chemische Verbindung, das Realgar oder Rauschrot (As_4S_4), als (Mit-) Ursache für den Lungenkrebs der Bergleute in Schneeberg und Joachimsthal ansah. Ramazzini (1633–1714) beschrieb 1700 die hohe Inzidenz von Brustkrebs bei Nonnen; der englische Arzt, Botaniker und Schriftsteller John Hill (1716–1775) 1761 sechs Fälle von Polypen und Krebsen der Nasenschleimhaut nach langjährigem Gebrauch von Schnupftabak und Percival Pott (1714–1788) 1775 den Ruß als Ursache für den Hautkrebs an Skrotum und Oberschenkeln der Londoner Schornsteinfeger. Damit war Pott der Erste, der eine chemische Krebsursache bei einer bestimmten Berufsgruppe beobachtete. T. v. Soemmering (1755–1830), Professor der Anatomie in Mainz und München, publizierte 1795 über den Lippenkrebs bei Pfeifenrauchern. Im 19. Jahrhundert wurde insbesondere die kausale Bedeutung von beruflicher Exposition gegenüber chemischen Substanzen für den menschlichen Krebs aufgedeckt: Hauttumoren nach Arsen-Exposition (I. A. Paris 1822) und Paraffin bzw. Teer (R. v. Volkmann 1875) sowie Harnblasengeschwülste bei Fuchsinarbeitern (L. Rehn 1895).

Tab. 7.1 Meilensteine der Gentoxikologie

Jahr	Meilensteine
1900	Wiederentdeckung der Mendel'schen Regeln
1927	Induktion von Chromosom-Mutationen durch Röntgenstrahlen in *Drosophila* durch H. J. Muller
1942–44	Identifikation von Senfgas als erstes chemisches Mutagen durch Auerbach und Robson
1946	Nobelpreis für H. J. Muller für den Nachweis von Mutationen in *Drosophila* nach Röntgenbestrahlung
1956	Publikation „Mutagenic Drugs" von A. Barthelmess; Erkennung der Problematik der Nutzung von Gentoxinen als Pharmaka
1969	Host-mediated Mutation-Assay nach metabolischer Aktivierung in vivo durch Gabridge und Legator
1969	Gründung der Environmental Mutagen Society
1969	„Mrak Committee Report"; gentoxische Wirkung vieler damals verwendeter Pestizide
1971–73	Bruce Ames entwickelt Mutagenitätstest in Bakterien
1972	Mouse Lymphoma TK Assay von Clive und Mitarbeitern
1975	„Mutagens are Carcinogens" von Ames & McCann; Zusammenhang zwischen Mutagenese und Karzinogenese
1977	„Approaches to Determining the Mutagenic Properties of Chemicals: Risk to Future Generations"; Bericht des US Department of Health, Education and Welfare
1978	Erste Test-Empfehlung der EPA für Gentoxizitätsprüfung
1983, 1986	OECD-Richtlinien zur Gentoxizitätsprüfung
1997	Revision der OECD-Richtlinien
1997	ICH-Test-Richtlinien
2006	Registration, Evaluation, Authorisation and Restriction of Chemicals (REACH)

Die Geschichte der Gentoxikologie beginnt am Anfang des 20. Jahrhunderts und steht in direkter Verbindung mit der Geburt der modernen Genetik und Radiobiologie. Schon 1904 vermutete Hugo de Vries, dass die Röntgenstrahlen, die lebende Zellen durchdringen können, auch Mutationen verursachen könnten. Den Beweis dazu lieferte Hermann Joseph Muller im Jahr 1927; seine Arbeit über Mutationsinduktion bei *Drosophila* wurde 1946 mit dem Nobelpreis honoriert (■ Tab. 7.1). Lange

wurde aber eine mutagene Wirkung ausschließlich den ionisierenden Strahlen zugeschrieben und erst mit der Arbeit von Auerbach und Robson 1942 über die mutagene Wirkung von Senfgas wurde die Ära der chemischen Mutagenese und Kanzerogenese eröffnet. Es dauerte dann aber noch 20 Jahre, bis die Überlegung, dass Gebrauchsgegenstände, Medikamente und sogar Lebensmittel krebserregende Stoffe in bedenklichen Dosen beinhalten können, weitere Verbreitung fand. Auch der enorme Aufwand und die Kosten der erforderlichen Massentestung von unzähligen Stoffen waren schwer zu vermitteln. Der große Durchbruch in der Gentoxizitätstestung ist Bruce Ames zu verdanken, der in den 1970er-Jahren einen bakteriellen Mutationstest entwickelte. Dieser Test, der den Namen seines Erfinders trägt, ist bis heute ein wichtiger Baustein von gentoxikologischen Testbatterien. Mit diesem einfachen In-vitro-Test konnte man das Routine-Screening von Chemikalien auf Mutagenität propagieren. Damit begann der Einstieg in das Gebiet der regulatorischen Gentoxikologie.

Die Erforschung von Mechanismen der DNA-Schädigung, DNA-Reparatur und der Aufbau zahlreicher In-vivo- und In-vitro-Methoden in der Folgezeit ermöglichten die Entwicklung von regulatorischen Standards und Testbatterien für das gentoxikologische Screening von heute. Die gegenwärtigen regulatorischen Bestimmungen entstanden zumeist in den 1990er-Jahren und werden fortwährend weiterentwickelt. In der Zwischenzeit wurde ein enormer technologischer Sprung mit der Entwicklung von neuen, präzisen, hochdurchsatzfähigen Methoden geschafft. Die Ursachen hierzu liegen einerseits beim industriellen Fortschritt, andererseits bei der Schaffung neuer regulatorischer Standards wie der EU-Chemikaliengesetzgebung „REACH“ (Registration, Evaluation, Authorisation and Restriction of Chemicals).

7.3 Epidemiologie

Einige Zusammenhänge zwischen Krebs und exogenen Noxen sind, wie bereits geschildert, schon seit Langem bekannt. Heute werden epidemiologische Untersuchungen durchgeführt, um weitere Hinweise auf Zusammenhänge zwischen Tumorerkrankungen und bestimmten Expositionen zu erlangen. Die Zusammenhänge zwischen Lungenkrebs und Zigarettenrauchen sowie zwischen Leberkarzinom und Aflatoxin-kontaminierter Nahrung sind ätiologisch mit am besten untersucht. Bei epidemiologischen Untersuchungen zur Tumorentstehung muss allerdings berücksichtigt werden, dass diese erheblich schwieriger durchzuführen sind als viele übliche Studien über andere toxische Wirkungen, da kanzerogene Effekte infolge der langen Latenzzeit zumeist erst viele Jahrzehnte nach der relevanten Exposition in Erscheinung treten. Relativ einfach sind derartige retrospektive oder prospektive Studien bei Arbeitsstoffen, da hier das Ausmaß der Exposition oft recht groß und bekannt ist und lediglich ein enger Personenkreis mit ihnen in Berührung kommt. Wesentlich schwieriger sind diese Studien dagegen für Fremdstoffe (Xenobiotika) in unserer Umwelt, also ubiquitäre und in meist äußerst geringen Konzentrationen vorkommende Stoffe.

Einwandererstudien geben Hinweise auf mögliche exogene Ursachen von Krebserkrankungen. So konnte etwa gezeigt werden, dass sich bei Einwanderern aus Ländern mit geringen Brustkrebsraten (Asien, Afrika) nach Israel oder in die USA (mit einer hohen Brustkrebsrate) das Risiko binnen einer Generation in etwa an das des Einwanderungslandes anpasst. Umgekehrt sind dagegen die Verhältnisse beim Magenkrebs. Diese Befunde sind Indizien für äußere Einflüsse (Umwelt oder Ernährung) auf die Kanzerogenese. Im Bereich der Arbeitsmedizin konnte bei Chemiearbeitern der Zusammenhang zwischen Harnblasenkrebs und Exposition gegenüber polyzyklischen aromatischen Aminen nachgewiesen werden. Häufig wird auch versucht, regionale Unterschiede in der Krebshäufigkeit mit landestypischen Ernährungsgewohnheiten zu korrelieren. Auf diese Weise konnte die Assoziation zwischen einer fleischreichen Ernährung und einem erhöhten Dickdarmkrebsrisiko bestätigt werden. Hier werden verschiedene Ursachen postuliert: die erhöhte Exposition gegenüber verschiedenen Inhaltsstoffen oder Stoffwechselprodukten des Fleisches (heterozyklische aromatische Amine, Ammoniak, Eisen) oder der mit einem hohen Fleischkonsum einhergehende Mangel an pflanzlicher Kost (Ballaststoffe, Vitamine).

Hypothetische Zusammenhänge lassen sich mittels retrospektiver Studien untersuchen: Tumorpatienten und nicht erkrankte Kontrollpersonen werden hinsichtlich ihrer Ernährungs- und Lebensgewohnheiten, beruflicher Exposition, demographischer oder anderer Parameter befragt. Problematisch an diesen Fall-/Kontroll-Studien sind unter anderem die Auswahl der Kontrollgruppe und auch die Beeinflussung der Antworten durch die aufgetretene Krankheit. Diese Nachteile gelten nicht für prospektive Kohortenstudien. In diesen ungleich aufwendigeren Untersuchungen werden große Kollektive (bis zu einigen hunderttausend Probanden) erfasst und befragt. Erst nach Jahren können aufbauend auf diesen Daten in diese Kohorten eingebettete Fall-/Kontroll-Studien durchgeführt werden. Beispielsweise wurden 1976 für die US-amerikanische Nurses Health Study 122000 Krankenschwestern im Alter von 30 bis 50 Jahren erfasst und befragt. Ursprünglich sollten damit unerwünschte Langzeiteffekte oraler Kontrazeptiva untersucht werden. Alle zwei bis vier Jahre erhalten die Teilnehmer Fragebögen zu Rauchgewohnheiten, Verwendung von Hormonen, menopausalem Status und Ernährungsgewohnheiten. Mithilfe dieser Studie konnten eine Reihe von Zusammenhängen verifiziert (Hormon-

ersatztherapie erhöht das Brustkrebsrisiko), andere postulierte Zusammenhänge jedoch nicht bestätigt werden (fettreiche Ernährung beeinflusst offenbar nicht das Dickdarm- oder Brustkrebsrisiko). Die tatsächliche Kausalität von Zusammenhängen ist umso wahrscheinlicher, je mehr die von Sir Bradford-Hill aufgestellten Kriterien erfüllt werden: Reproduzierbarkeit in verschiedenen Studien, Stärke der Assoziation, zeitlich richtige Reihenfolge von Ursache und Wirkung, Dosis-Wirkungs-Abhängigkeit, Spezifität (fraglich, denn ein Agens kann auch mehrere Wirkungen auslösen, z. B. Tabakrauch), Übereinstimmung mit bestehendem Wissen, biologische Plausibilität sowie experimentelle Bestätigung (Intervention).

Die Erkenntnisse über die molekularen Mechanismen der Kanzerogenese ermöglichen es, anhand biologischer Marker frühere Endpunkte als die eigentliche Krebserkrankung und deren Zusammenhänge mit kausalen Faktoren in epidemiologischen Studien zu untersuchen. Dazu gehören Marker der Exposition, wobei die interne, individuelle Dosis eines Kanzerogens (z. B. Metaboliten im Urin, Plasmaspiegel oder kovalente Protein- oder DNA-Addukte im Blut) oder die Target-Dosis (DNA-Addukte im Zielorgan) als Maß für die individuelle Exposition und gleichzeitig den Metabolismus der Substanz im Individuum gemessen wird.

Außerdem können die Aktivitäten relevanter Enzyme für jedes Individuum biochemisch bestimmt oder anhand genetischer Polymorphismen abgeschätzt werden. Dabei sind zahlreiche Enzyme des Fremdstoffmetabolismus (metabolische Aktivierung oder Entgiftung chemischer Kanzerogene) oder der DNA-Reparatur identifiziert worden, die eine polymorphe Verteilung in der Bevölkerung aufweisen. In der Tat konnte bereits in einigen Fällen ein Einfluss dieser Enzymaktivitäten auf das Krebsrisiko beobachtet werden. Während die Beeinflussung des individuellen Krebsrisikos durch einzelne polymorphe Enzyme meist nur gering ist, wird vermutet, dass das Zusammenspiel der vielen am Prozess der Kanzerogenese beteiligten genetischen Faktoren in der Summe einen erheblichen Einfluss auf das Krebsrisiko hat. Die Aufklärung der Sequenz des menschlichen Genoms und die modernen Möglichkeiten der gleichzeitigen Analyse zahlreicher Gene mittels Microarray- und Next-Generation-Sequencing-Techniken bieten die Möglichkeit, in der Zukunft individualisierte Risikoprofile zu erstellen.

Die Daten zur Tumorinzidenz in verschiedenen Bevölkerungsgruppen der USA weisen auf einen ethnischen Einfluss auf das Krebsrisiko hin. Bei Afroamerikanern werden erhöhte Raten an Tumoren der Speiseröhre, Leber, Magen, Lunge, Pankreas und Prostata sowie an prämenopausalem Brustkrebs beobachtet. Dagegen ist bei europäisch-stämmigen US-Bürgern die Häufigkeit von Melanomen, Leukämien, Lymphomen, Tumoren des Endometriums, der Schilddrüse, Harnblase und des Gehirns sowie von postmenopausalem Brustkrebs höher. Einerseits wurden in molekular-epidemiologischen Studien entsprechende ethnisch bedingte genetische Unterschiede in der Enzymausstattung nachgewiesen, anderseits spielen hier aber auch ethnische Unterschiede hinsichtlich demographischer, sozioökonomischer und umwelt- oder ernährungsbedingter Faktoren eine Rolle. Dies wurde auch durch die bereits erwähnten Studien an Einwanderern aus asiatischen Ländern in die USA oder Israel deutlich.

In der überwiegenden Mehrzahl der Fälle ist Krebs eine Erkrankung des Alters, daher ist die Zunahme der Krebserkrankungen im vergangenen Jahrhundert auch eine Folge der erhöhten Lebenserwartung. Vermutlich spielen dabei neben der lebenslangen Akkumulation von Läsionen im Genom auch die Abnahme der DNA-Reparaturkapazität und reduzierte Immunfunktionen eine Rolle. Wegen der langen Latenzzeit und der komplexen Mechanismen der Kanzerogenese wird allerdings vermutet, dass ursächliche Expositionen häufig schon in der Jugend liegen. Experimentelle Studien und negative Erfahrungen mit Medikamenten in der Schwangerschaft (Diethylstilbestrol) belegen, dass bereits die transplazentare Exposition in utero das Krebsrisiko im späteren Leben erhöhen kann. Auch konnte gezeigt werden, dass Kleinkinder relativ zum Körpergewicht häufig erhöhten Dosen an kanzerogenen Stoffen in der Nahrung oder Umweltmedien ausgesetzt sind. Expositionen in der pubertären Entwicklungsphase gelten ebenfalls als besonders entscheidend, weil es hier zur Ausdifferenzierung der Geschlechtsorgane kommt. So war bei Überlebenden der Atombombenabwürfe im Zweiten Weltkrieg das Brustkrebsrisiko in besonderem Maße erhöht, wenn die Strahlenexposition in der Pubertät erfolgte. Auch das Zigarettenrauchen gilt in der Jugend als besonders gefährlich für die spätere Entwicklung von Lungentumoren.

Geschlechtsspezifische Unterschiede in der Tumorinzidenz werden in erster Linie bei Sexualhormon-abhängigen Tumoren (z. B. Brustdrüse, Endometrium, Prostata) beobachtet, aber auch beim Lungenkrebs weisen Frauen offenbar eine höhere Empfindlichkeit auf als Männer. So wurden bei weiblichen Zigarettenrauchern eine langsamere Nicotinexkretion sowie eine höhere Cytochrom-P450-Aktivität (wichtig für die metabolische Aktivierung kanzerogener Substanzen im Tabakrauch) und höhere DNA-Adduktgehalte in der Lunge beobachtet.

Die **genetische Epidemiologie**, hier das Studium einer genetischen Prädisposition für Kanzerogenese, ist ein wichtiges Feld aktueller und zukünftiger Krebsforschung. Neben hereditären Krebs-Syndromen (z. B. Retinoblastom, Wilms-Tumor, Xeroderma pigmentosum) gibt es auch genetische/familiäre Krebs-Dispositionen mit

bisher unbekannter Ursache (bekannte Fälle einer familiären Krebshäufung wie der Magenkrebs in der Familie Napoleons). Für die Betroffenen ist das Risiko um ein Vielfaches erhöht: So haben Träger erblicher *BRCA1*-Mutationen ein bis zu 40-fach erhöhtes Risiko, an Brustkrebs zu erkranken, meist in frühem Alter. In vielen Fällen hereditärer Krebserkrankungen konnten die ursächlichen Gendefekte identifiziert werden. Oft ist bei den Betroffenen ein Allel des entsprechenden Tumorsuppressorgens defekt. Der Funktionsverlust des anderen Allels (durch Mutation, Hypermethylierung, Allelverlust) kann dann zur Erkrankung führen. So konnte gezeigt werden, dass Mutationen in Tumorsuppressorgenen für familiäre adenomatöse Polyposis (*APC*), medulläre Schilddrüsenkarzinome (*RET*), Melanome (*CDK4*) und für Brust- und Ovarialkrebs (*BRCA1*, *BRCA2*) prädisponieren. Insgesamt gesehen sind diese genetisch bedingten Krebsformen aber selten; erbliche Formen machen nur einen vergleichsweise geringen Anteil aller Krebserkrankungen aus. So werden derzeit 5 % der Brustkrebs-Inzidenz als hereditär bedingt angesehen. Im Gegensatz dazu sind genetisch determinierte Varianten der im Aktivierungsmetabolismus beteiligten Enzyme häufig. Diese Polymorphismen haben zwar für den Einzelnen nur eine geringe Erhöhung des Krebsrisikos zur Folge, sind aber in Bezug auf die gesamte Bevölkerung wahrscheinlich von erheblicher Bedeutung.

7.4 Das Mehrstufenmodell der Kanzerogenese

7.4.1 Definition von Kanzerogenen

Chemische Kanzerogene sind operational definiert als Substanzen, die Krebs induzieren, also verantwortlich sind für:

- die Induktion von solchen Tumoren, die in nicht-exponierten Individuen nicht gesehen werden,
- die erhöhte Inzidenz von Tumoren, die auch in nicht-exponierten Individuen gesehen werden,
- die frühere Entwicklung von Tumoren, die in nicht-exponierten Individuen erst später gesehen werden,
- die erhöhte Multiplizität von Tumoren.

Nach Applikation eines chemischen Kanzerogens entstehen Tumoren, deren Anzahl und Latenzzeit von der Dosis des Kanzerogens abhängen. Insofern gilt auch für Kanzerogene das Gesetz des Paracelsus, wonach die Dosis über die toxische Wirkung entscheidet. Auch die andauernde, chronische Einwirkung von sehr geringen Dosen kann die Tumorrate erhöhen. Über 500 chemische Substanzen hatten bereits bis 1962 tierexperimentell kanzerogenes Potenzial gezeigt. Eine Auswahl der von der International Agency for Research on Cancer (IARC) der WHO als nachgewiesen oder wahrscheinlich humankanzerogen eingestuften Substanzen findet sich in ■ Tab. 7.2 und ■ Tab. 7.3. Die ■ Tab. 7.4 gibt einen Überblick über die verschiedenen Klassifizierungssysteme für Humankanzerogene, wie sie von unterschiedlichen Gremien/Organisationen eingeführt wurden. Die Einstufung der einzelnen Substanzen orientiert sich dabei primär an der Verfügbarkeit und der Qualität epidemiologischer (notwendig zur Einstufung in die jeweils erste Kategorie) oder tierexperimenteller Daten, nicht an der

■ **Tab. 7.2** Substanzen, Mischungen, biologische und physikalische Faktoren mit **nachgewiesener** humankanzerogener Wirkung (IARC Gruppe 1)

Substanzen oder Substanzgruppen	**Arzneimittel**
Aflatoxine 4-Aminobiphenyl Arsen und -Verbindungen Asbest Benzol Benzidin Beryllium und -Verbindungen Bis(chlormethyl) ether Cadmium und -Verbindungen Chrom-Verbindungen (hexavalent) Erionite Ethylenoxid 2-Naphthylamin Nickel-Verbindungen Radon und seine Zerfallsprodukte Senfgas (sulfur mustard) Silica, kristallin Talkum mit asbestiformen Fasern 2,3,7,8-Tetrachloro-p-dibenzodioxin Vinylchlorid	Analgetische Mischungen mit Phenacetin *Aristolochia*-haltige Arzneimittel Azathioprine N,N-Bis(2-chloroethyl)-2-naphthylamine (Chlornaphazin) 1,4-Butandiol-di(methansulfonat) (Myleran) Chloroambucil 1-(2-Chloroethyl)-3-(4-methylcyclohexyl)-1-nitrosoharnstoff (Methyl-CCNU) Cyclophosphamid Cyclosporin Diethylstilbestrol Kontrazeptiva, oral Melphalan 8-Methoxypsoralen plus UV-Strahlung Östrogen-Ersatztherapie Östrogene, nichtsteroidal Östrogene, steroidal Tamoxifen Thiotepa Treosulfan
Mischungen	**Biologische und physikalische Faktoren**
Alkoholische Getränke Betelnuss-Kautabak Diesel-Abgas Holzstaub Kohlenteer Kohlenteer-Pech Mineralöl Ruß Schieferöl Tabak-Produkte (rauchfrei) Tabakrauch Verarbeitetes Fleisch	Ionisierende Strahlung (z. B. ^{32}P-Phosphat, ^{239}Pu, ^{131}I, ^{222}Rn, ^{224}Ra, ^{228}Ra, ^{132}Th) UV-Strahlung, Sonnenlicht Hepatitis-B-Virus Hepatitis-C-Virus HTLV 1 Human immunodeficieny viruses Epstein-Barr-Virus Humanes Papilloma-Virus (Typ 16 und Typ 18) *Helicobacter pylori* *Opisthorchis viverini* *Schistosoma haematobium*

■ **Tab. 7.3** Substanzen, Mischungen, Arzneimittel, biologische und physikalische Faktoren mit **wahrscheinlich** humankanzerogener Wirkung (IARC Gruppe 2A)

Substanzen oder Substanzgruppen	Arzneimittel
Acrylamid Benz[*a*]anthracen Benzidin-Farben 1,3-Butadien Captafol α-Chlorierte Toluole (Benzalchlorid, Benzotrichlorid, Benzylchlorid, Benzoylchlorid) 4-Chloro-ortho-toluidin Dibenz[*a*,*h*]anthracen Diethylsulfat Dimethylcarbamoylchlorid 1,2-Dimethylhydrazin Dimethylsulfat Epichlorhydrin Ethylendibromid N-Ethyl-N-nitrosoharnstoff Formaldehyd Glycidol IQ (2-Amino-3-methylimidazo[4,5-f]chinolin) 4,4'-Methylenbis(2-chloroanilin) (MOCA) Methylmethansulfonat N-Methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidin (MNNG) N-Methyl-N-nitrosoharnstoff Nitrogen mustard N-Nitrosodiethylamin N-Nitrosodimethylamin Styrol-7,8-oxid Tetrachlorethylen ortho-Toluidin Trichlorethylen 1,2,3-Trichloropropan Tris(2,3-dibromopropyl) phosphat Vinylbromid Vinylfluorid	Adriamycin Androgene (anabole) Steroide Aristolochia-Säuren Azacytidin Bischloroethyl-nitrosoharnstoff (BCNU) Chloramphenicol 1-(2-Chloroethyl)-3-cyclohexyl-1-nitrosoharnstoff (CCNU) Chlorozotozin (DCNU) Cisplatin Etoposid 5-Methoxypsoralen Phenacetin Procarbazinhydrochlorid Teniposid
Mischungen	**Biologische und physikalische Faktoren**
Kreosot (aus Kohlenteer) Heißer Mate-Tee Polychlorierte Biphenyle	*Clonorchis sinensis* Humanes Papilloma-Virus Typ 31 Humanes Papilloma-Virus Typ 33 Kaposi's sarcoma herpesvirus/human herpesvirus 8 UV-Strahlung A UV-Strahlung B UV-Strahlung C

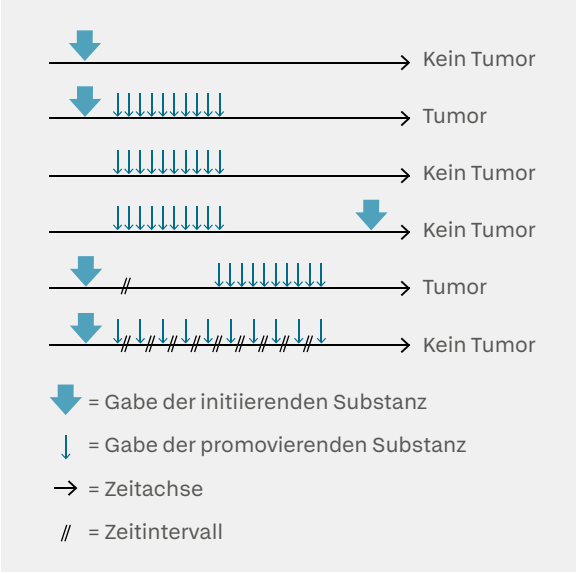
kanzerogenen Wirkstärke. Eine rein gefahrenbezogene Einstufung einer Substanz, z. B. durch die IARC, erlaubt daher nicht zwingend Rückschlüsse auf die Wahrscheinlichkeit, bei einer gegebenen Exposition gegenüber einer Substanz an Krebs zu erkranken, wenn diese Wahrscheinlichkeit von der Expositionshöhe abhängt. Eine Ausnahme stellt das Klassifizierungssystem der MAK-Kommission der Deutschen Forschungsgemeinschaft (DFG) dar, welches eine eigene Kategorie für gentoxische Kanzerogene geringer Wirkstärke vorsieht.

■ **Tab. 7.4** Klassifizierung von Humankanzerogenen

IARC (International Agency for Research on Cancer) der WHO	
Group 1	Carcinogenic to humans
Group 2A	Probably carcinogenic to humans
Group 2B	Possibly carcinogenic to humans
Group 3	Not classifiable
Group 4	Probably not carcinogenic to humans
Europäische Union	
Kategorie 1	Nachgewiesen kanzerogen im Menschen
Kategorie 2	Wahrscheinlich kanzerogen im Menschen
Kategorie 3	Möglicherweise kanzerogen im Menschen
MAK-Kommission der Deutschen Forschungsgemeinschaft	
Kategorie 1	Nachgewiesen kanzerogen im Menschen
Kategorie 2	Wahrscheinlich kanzerogen im Menschen
Kategorie 3	Verdachtsstoffe, keine Einordnung in andere Kategorie möglich
Kategorie 4	Nicht-gentoxischer Wirkmechanismus
Kategorie 5	Gentoxisch mit geringer Wirkungsstärke

7.4.2 Initiation, Promotion und Progression

Der Beginn des 20. Jahrhunderts kann als der Beginn der experimentellen Krebsforschung bezeichnet werden; als ihr Pionier wird der japanische Pathologe K. Yamagiwa (1863–1930) mit seinem Assistenten Ichikawa angesehen. Er konnte als Erster tierexperimentell einen chemisch induzierten Tumor erzeugen: Mit der experimentellen Erzeugung von Hautkrebs durch Teer am Kaninchen wurde erstmals bewiesen, dass chemische Substanzen Krebs hervorrufen können und dass die experimentelle Bearbeitung der chemischen Kanzerogenese grundsätzlich möglich ist. Die chemische Untersuchung des Teers zeigte, dass seine kanzerogene Wirkung auf bestimmten Inhaltsstoffen basiert, den polyzyklischen aromatischen Kohlenwasserstoffen (PAK). Dem standen ältere Beobachtungen gegenüber, die auf Verwundungs- und Entzündungsreize hinwiesen (Reiztheorie der Krebs-Entstehung, Virchow 1863). Etwa seit 1935 wurde untersucht, welche Rolle die PAK und starke Hautreize wie Verwundung oder das aus Euphorbiaceen-Sa-



● **Abb. 7.1** Initiation und Promotion in der Krebsentstehung. Modifiziert nach Boutwell 1964

men gewonnene stark hautreizende Crotonöl bei der Entstehung von Hauttumoren spielen. Die einmalige niedrige Dosierung von PAK oder wiederholte Entzündungen durch Aufpinseln von Crotonöl erzeugten für sich allein keine Hauttumoren, in Kombination jedoch waren sie stark wirksam. Hierbei war die Reihenfolge der Behandlung wesentlich: Tumoren entstanden nur dann, wenn zuerst PAK und anschließend Crotonöl aufgetragen wurde, nicht jedoch bei umgekehrter Reihenfolge (● Abb. 7.1). Hieraus wurde geschlossen, dass die Tumorentstehung eine Abfolge unterschiedlicher biologischer Vorgänge erfordert. Der erste, im Modell durch PAK induzierte Vorgang wurde „Initiation" genannt, der zweite, die Tumorentstehung fördernde durch Crotonöl induzierte Prozess „Promotion". Während der auf die Initiation folgenden Promotions-Phase entstanden zunächst gutartige Tumoren (Papillome), die nach Behandlungsende in der Mehrzahl wieder verschwanden. Bösartige Tumoren (Karzinome) entwickelten sich in einem anschließenden Stadium, das heute als „Progression" bezeichnet wird.

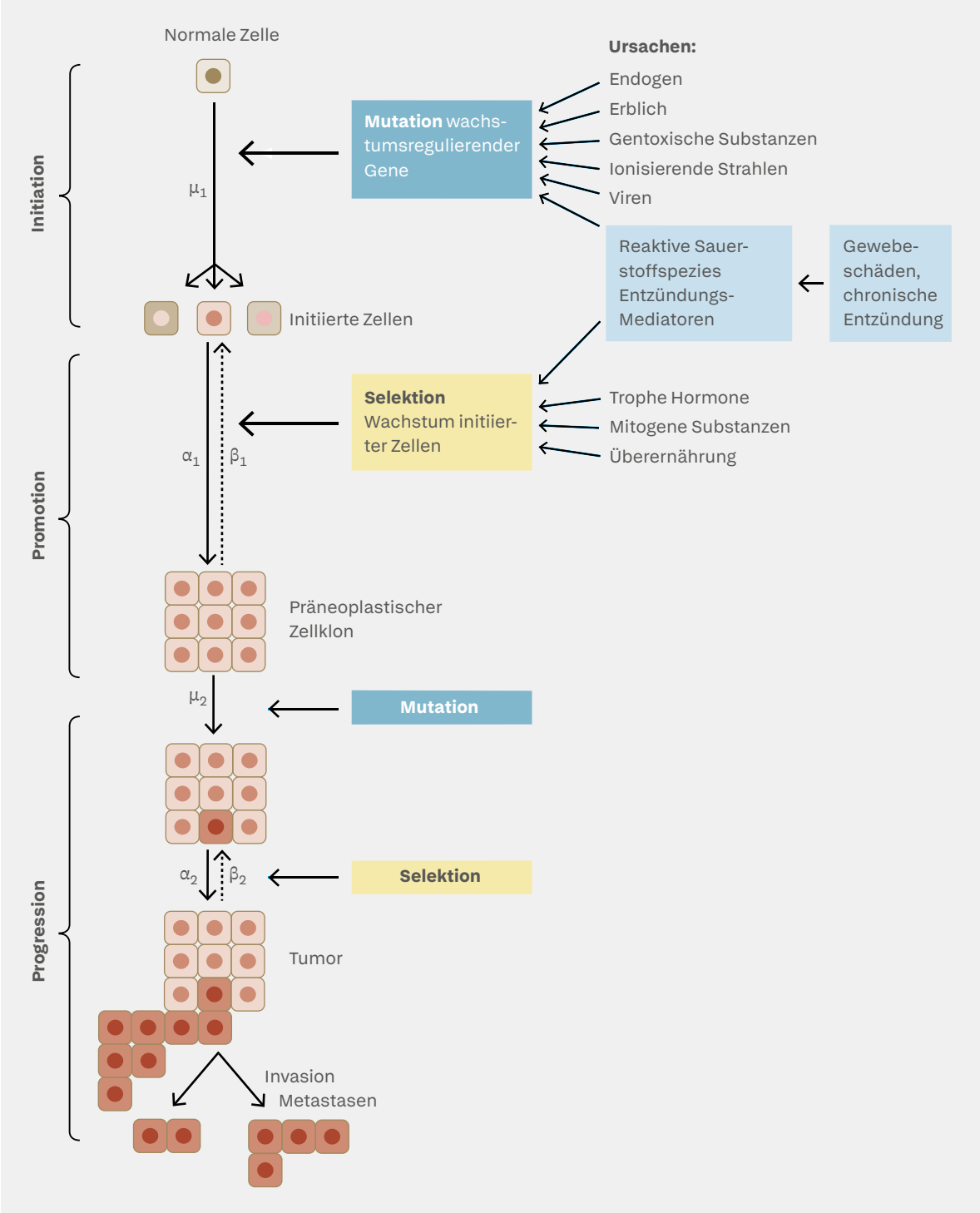
Kanzerogenese wird heute als ein Mehrstufenprozess gesehen, der zumindest aus den Phasen Initiation, Promotion und Progression besteht, die beim Menschen nach einer Latenzzeit von Jahren bis Jahrzehnten von der initialen Transformation einer Normalzelle zu einem klinisch manifesten Tumor führen (● Abb. 7.2). R. van Potter sieht Krebs als das Ergebnis einer Kanzerogen-induzierten irreversiblen Blockade der terminalen Differenzierung einer Stammzelle, wobei unter Initiation die irreversible Konversion einer Normalzelle in einen „prä-malignen" Zustand zu verstehen ist. Ohne einen später folgenden Proliferationsstimulus wird diese Zelle durch die umgebenden Normalzellen zunächst unter Kontrolle gehalten. Während der Promotion wird diese initiierte Zelle klonal amplifiziert; dieser Prozess scheint teilweise reversibel zu sein. Hautpapillome während der Haut-Kanzerogenese, enzymveränderte Foci während der Hepatokanzerogenese und Polypen während der Colon-Kanzerogenese können als Manifestationen dieses Prozesses gesehen werden. Zugrunde liegende Proliferationsstimuli sind Wachstumsfaktoren, chemische Tumorpromotoren, Festkörper, Wunden sowie Zell- und Gewebetod. In der Progressions-Phase entsteht durch weitere genetische und epigenetische Faktoren eine maligne Zelle mit der Fähigkeit zu invasivem Wachstum und Metastasierung.

Initiation

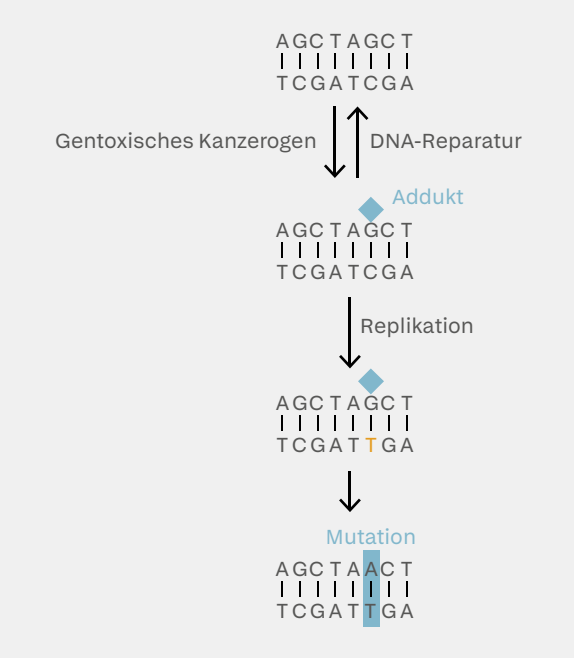
Initiation und Promotion sind operational und nur im Zusammenhang miteinander definiert, im Wesentlichen auf der Basis von Experimenten an der Mäusehaut. Der erste Schritt zur malignen Entartung wird als Initiation bezeichnet. Sie ist in der Regel eng mit der Mutagenese verknüpft (zur Entstehung von Mutationen ▶ Kap. 7.5.2). Die Initiation verleiht der betroffenen Zelle einen Wachstumsvorteil, der aber so gering ist, dass klonales Wachstum ohne Tumorpromotion nicht oder nur sehr langsam erfolgt. Die Initiation ist ein seltenes Ereignis und betrifft nur einzelne, im Gewebe verstreut liegende Zellen. Ihre phänotypischen Auswirkungen sind (zunächst) gering; daher ist die Identifizierung initiierter Zellen bis heute nur in wenigen Modellen möglich, z. B. in der Haut des Menschen und in der Leber der Ratte. Die heutigen Erkenntnisse basieren im Wesentlichen auf der Untersuchung der Nachkommen initiierter Zellen, d. h. von Präneoplasien und Tumoren.

Die Initiation kann schnell erfolgen. Die einmalige Gabe kurzlebiger Kanzerogene, z. B. Methyl- oder Ethylnitrosoharnstoff (MNU, ENU) kann ausreichen, um in sensitiven Geweben eine Initiation auszulösen („Puls-Kanzerogenese").

Die Initiation erfolgt nur in proliferationsfähigen Zellen. Dabei basiert die initiierende Wirkung von Chemikalien zumeist auf ihrer Reaktivität mit der DNA und auf daraus resultierenden Mutationen im Genom. Die Manifestation der entstehenden Reaktionsprodukte (DNA-Addukte) als genetisch fixierte Mutationen erfordert eine Proliferation der betroffenen Zelle (● Abb. 7.3). Zusätzlich besteht in proliferierenden Zellen in der späten G1- und S-Phase des Zellzyklus eine hohe Empfindlichkeit gegenüber der gentoxischen/initiierenden Wirkung. Daher sind Individuen im embryonalen bzw. perinatalen Entwicklungsstadium meist wesentlich empfindlicher gegenüber Kanzerogenen als der adulte Organismus. Beim Menschen besteht eine erhöhte Empfindlichkeit für Leukämie-Auslösung, wenn pränatal eine Exposition gegenüber Röntgenstrahlen erfolgt. Perso-



● **Abb. 7.2** Mehrstufenprozess der Krebsentstehung. Die Krebsentstehung ist beispielhaft in drei Stadien dargestellt: initiierte Zellen, präneoplastischer Zellklon, Tumor. Die Initiation resultiert aus der Exposition gegenüber gentoxischen Noxen, durch ererbte Mutationen oder „spontan" durch endogene DNA-Schäden. Es können mehrere verschiedene Typen von initiierten Zellen entstehen; die Promotion (Selektion) einer dieser Zellen wird dargestellt. Im Verlauf der Kanzerogenese werden häufig auch DNA-Reparaturgene ausgeschaltet. Durch zunehmende genetische Instabilität und Wachstumsautonomie wird die Abhängigkeit des Prozesses von exogenen gentoxischen oder promovierenden Noxen geringer. ROS: reaktive Sauerstoffspezies, μ: Bildungsrate initiierter/mutierter Zellen, α: Replikationsrate, β: Absterberate der Zellen



● **Abb. 7.3** DNA-Adduktbildung und Mutation. Die Bildung eines kovalenten DNA-Addukts durch ein elektrophiles Kanzerogen stellt zunächst lediglich eine reversible, prä-mutagene Veränderung dar. Erst durch den Einbau einer „falschen" Base (hier: T statt C infolge eines fehlcodierenden Addukts auf dem Gegenstrang) in die DNA während der Replikation manifestiert sich der Schaden als Mutation (hier: G/C → A/T) irreversibel. Die Zellproliferation ist somit ein wichtiger Faktor bei der Initiation.

nen, die im früh-jugendlichen Alter mit dem Zigarettenrauchen beginnen, zeigen ein erhöhtes Krebsrisiko. Beim Erwachsenen gelten aus gleichen Gründen die Stammzellen in den Wechselgeweben (Knochenmark, Krypten im Darm, Basalzellschicht der Haut) als Zielzellen initiierender Wirkungen. Initiierung in Stammzellen hemmt die „terminale Differenzierung" und erhält die Proliferationsfähigkeit der Tochterzellen. In „ruhenden", d. h. im Erwachsenen nicht proliferierenden Geweben ist die Wahrscheinlichkeit einer Initiation dagegen gering. Unvollständige Kanzerogene wie MNU wirken bei niedriger Dosierung in der Leber des erwachsenen Versuchstieres praktisch nicht initiierend. Initiierung tritt jedoch auf, wenn vor der MNU-Gabe eine partielle Hepatektomie durchgeführt wird, die ein starker Proliferationsreiz für die Leber ist, oder wenn nach Gabe hoher zytotoxischer Konzentrationen regeneratives Wachstum zu beobachten ist.

Ein wesentliches Charakteristikum der Initiation ist ihre prinzipielle Irreversibilität; der genetische Schaden wird an Tochterzellen weitergegeben. Hierzu ist allerdings anzumerken, dass initiierte Zellen durchaus z. B. durch Apoptose aus dem Organismus eliminiert werden können. Die Verabreichung von Promotoren führt dementsprechend in Tierexperimenten auch dann zu Tumoren, wenn zwischen Initiation und Promotion lange Intervalle liegen. Initiation kann auch ohne bekannte Ursachen „spontan" erfolgen. Insbesondere im höheren Lebensalter finden sich in vielen Geweben von Mensch und Tier Präneoplasien oder gutartige Tumoren ohne erkennbare vorherige Kanzerogen-Exposition. Ursache sind entweder unerkannte Umwelteinflüsse oder endogene Störungen, die z. B. im Verlauf von Entzündungen oder durch Replikationsfehler bei der Zellteilung auftreten. Die sogenannte spontane Initiation dürfte ein häufiges Ereignis sein. Daher sind Tumorpromotoren wichtige Risikofaktoren in der Kanzerogenese. Dies wird beispielsweise durch die große Bedeutung von Hormonen für die Krebsentstehung illustriert.

Promotion

Tumorpromotion ist definiert als der Prozess, der nach der Initiation die Entstehung eines Tumors beschleunigt und/oder die Wahrscheinlichkeit seines Auftretens erhöht (I. Berenblum). Definitionsgemäß führt der Vorgang der Tumorpromotion ohne vorherige Initiation nicht zu Tumoren; weitere gentoxische Ereignisse/Mutationen sind nach heutigem Kenntnisstand auf der Stufe der Promotion nicht notwendig. Zur Promotion ist stets eine längere Exposition erforderlich, die Wochen, Monate oder Jahre dauern kann. Nach Unterbrechung verschwindet die Wirkung einer promovierenden Behandlung – zumindest teilweise – wieder. Dosen unterhalb einer bestimmten Schwelle sind vermutlich nicht wirksam. Dies steht in deutlichem Kontrast zur irreversiblen und additiven Wirksamkeit initiierender Kanzerogene. Die Möglichkeit, eventuell Schwellenwerte auch für gentoxische Verbindungen abzuleiten, ist Gegenstand kontroverser wissenschaftlicher Diskussionen. Im Gegensatz zur Initiation, bei der einzelne Zellen irreversibel betroffen sind, wirken Tumorpromotoren in der Regel auf alle Zellen eines Gewebes oder Organs ein. Das wesentliche Charakteristikum der Promotion ist dabei die selektive Vermehrung initiierter Zellen, die in der Anwesenheit des Tumorpromotors einen Proliferationsvorteil gegenüber den umliegenden normalen Zellen des Gewebes besitzen. Dies führt zur Vergrößerung der präneoplastischen Zellpopulationen, zur Bildung gutartiger Tumoren und zum erhöhten Risiko einer Progression zum malignen Tumor (■ Tab. 7.5).

Nach ihrem Wachstumsverhalten lassen sich Wechselgewebe, stabile Gewebe und permanente Gewebe unterscheiden. Je nach Entwicklungsstadium und verursachendem Reiz treten altersabhängiges, regeneratives, adaptives oder hormonell induziertes Wachstum auf; sie alle können Tumorpromotion bewirken. Tumorpromovierende Substanzen lösen häufig entweder regeneratives oder mit Funktionssteigerung assoziiertes adaptives Wachstum aus (■ Tab. 7.6).

Tab. 7.5 Charakteristika der tumorpromovierenden Wirkung

Verstärkung und Beschleunigung der Tumorentwicklung (größere Tumorausbeute, kürzere Latenzzeit)
Synergistische (überadditive) Wirkung mit initiierenden Kanzerogenen
Wachstum im Zielorgan (regenerativ, adaptiv oder hormoninduziert)
Präferenzielles (selektives) Wachstum von Tumorvorstadien
Organspezifität (oft)
Verstärkte Expression des „präneoplastischen Phänotyps" von Tumorvorstadien
(Zumindest teilweise) Reversibilität
Schwellendosis
Lange Exposition erforderlich

Tab. 7.6 Kategorien von Wachstum

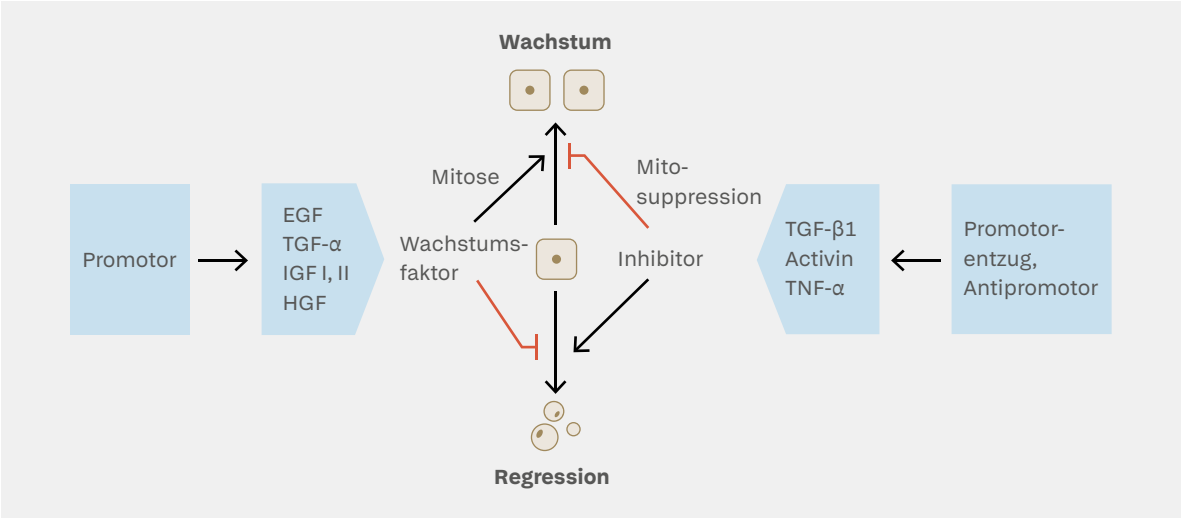
1.	Fetales und perinatales Wachstum; Stammzellabhängiges Wachstum	→ Ständig (relativ) hohe Zellreplikation
2.	Regeneratives Wachstum	Zellverlust durch akute oder chronische Toxizität → Ersatz durch erhöhte Zellreplikation
3.	Adaptives und hormonell induziertes Wachstum	Nur initial erhöhte Zellproliferation → Chronische Hyperplasie, „Wachstumsdruck" während der Dauer der Stimulation Regression nach Stimulationsende durch Apoptose

In den Wechselgeweben (Haut, Schleimhaut, Blutzellen, Immunzellen) findet eine ständige Proliferation undifferenzierter Zellen (Stammzellen, Progenitorzellen) statt. Dabei wird eine Tochterzelle zur neuen Stammzelle, die andere differenziert, verliert ihre Proliferationsfähigkeit und stirbt nach einer begrenzten Lebenszeit ab. Stammzellen finden sich in Haut und Schleimhaut in der Basalzellschicht bzw. in den Krypten des Darmes, die Stammzellen der Blutbildung im Knochenmark. Zellverlust oder funktionelle/hormonelle Stimulation erhöhen die Proliferationsrate der Stammzellen. Stammzellen gelten als wichtige Zielzellen der initiierenden Wirkung und somit als Ausgangszellen für malignes Wachstum in den Wechselgeweben. In stabilen Geweben (z. B. Leber, Niere) ist der Zellumsatz im gesunden, adulten Organismus gering. Nach Zellverlust oder funktioneller Belastung bzw. hormoneller Stimulation kann die Zellneubildung aber im Zuge einer Anpassungs-(Adaptations-)Reaktion drastisch ansteigen; die Proliferation kann hier prinzipiell in allen differenzierten Zellen des Gewebes erfolgen. Die Initiation kann in den differenzierten Zellen eintreten. Zellen der permanenten Gewebe (z. B. Nervenzellen) sind im erwachsenen Organismus nicht proliferationsfähig; in ihnen können nach der Vermehrungsphase keine Tumoren erzeugt werden (Gehirntumoren entstehen in Erwachsenen aus nicht-neuronalen Zellen).

Hormonelle oder funktionelle Stimulation von Wachstum in stabilen Geweben führt zu Zellvergrößerung (Hypertrophie), Zellvermehrung (Hyperplasie) oder beiden Vorgängen nebeneinander. Die Zellreplikationsrate wird initial erhöht, kehrt jedoch zum Ausgangswert zurück, sobald ein neuer „Sollwert" der Zellzahl erreicht ist. Offenbar sind die Zellen resistent gegenüber der mitogenen Wirkung geworden, besitzen aber nach wie vor ihre gesteigerte funktionelle Aktivität (z. B. gesteigerter Fremdstoffmetabolismus nach Gabe von Phenobarbital). Diese Resistenz („Mitosuppression") lässt auf einen Rückkopplungsmechanismus schließen, der Zellzahl bzw. DNA-Gehalt registriert und eine Zellvermehrung über den Bedarf hinaus verhindert. Organvergrößerung und Hyperplasie sind reversibel. Der Stimulus ermöglicht das Überleben der vermehrten Zellen; nach Stimulationsende erfolgt Zelltod und eine Regression zur ursprünglichen Organgröße. Die Zunahme spezifischer Funktionen und Enzyme ist ebenfalls reversibel. Initiierte Zellen können unter der Einwirkung von Promotoren diesem Rückkopplungsmechanismus entkommen und sich im Zustand der persistierenden Hyperplasie selektiv vermehren.

Wachstums- oder Zelltod-Signale werden entweder in entfernt liegenden Organen gebildet und über das Blut zur Zielzelle transportiert (endokrin), oder in der nahen Umgebung (parakrin) gebildet. Autokrine Signale werden von der Zielzelle selbst produziert. Diese Signale regulieren Zellteilung und Zelltod gegensinnig, d. h. durch Stimulation oder Hemmung. Viele Wachstumsfaktoren, welche die Mitose stimulieren, hemmen gleichzeitig den aktiven Zelltod, d. h. sie wirken als Überlebensfaktor („survival factor"). Umgekehrt können wachstumshemmende Signale Zelltod auslösen (● Abb. 7.4).

Viele extrazelluläre Signalmoleküle binden spezifisch an bestimmte Proteine (Rezeptoren), die zumeist an der Oberfläche der Zelle lokalisiert sind, teilweise aber auch im Zellinneren. Die Bindung von extrazellulären Signalfaktoren an einen Rezeptor an der Zelloberfläche führt zumeist über eine Kaskade von intrazellulären Signalproteinen (häufig über Phosphorylierungsreaktionen gesteuert) in den Zellkern. Am Ende dieser Signalkaskaden steht die Expression oder Aktivierung von Transkriptionsfaktoren wie c-Fos oder c-Jun und von Cyclinen der D-Gruppe. Andere membranständige Rezeptoren aktivieren intrazelluläre Signalkaskaden über G-Proteine



● **Abb. 7.4** Wachstumssignale und die Regulation von Zellreplikation und Zelltod. Die Balance zwischen Zellteilung und Zelltod wird streng entsprechend dem physiologischen Bedarf des Organismus reguliert. Einige mitogene Faktoren wirken auch als Überlebens-(survival-)Signale. Beispiele sind transformierender Wachstumsfaktor α (TGF-α), epidermaler Wachstumsfaktor (EGF) oder insulinähnlicher Wachstumsfaktor (IGF I und II). Wachstumshemmende Signalfaktoren hemmen die Zellteilung und/oder induzieren Zelltod, z. B. transformierender Wachstumsfaktor β (TGF-β), Activin oder Tumornekrosefaktor α (TNF-α). Tumorpromotoren interferieren mit den Mechanismen, die die Balance von Zellvermehrung und Zelltod regulieren.

■ **Tab. 7.7** Tumorpromotoren können das Zielorgan kanzerogener Einwirkungen determinieren. Ergänzt nach Yuspa 1986

Initiation	Promotion	Zielorgan
Methylnitroso-harnstoff	Phenobarbital Saccharin	Leber, Schild-drüse Blase
4-Acetylamino-stilben	keine Phenobarbital DDT Diethylstilbestrol β-Cyclodextrin	Talgdrüse (Ohr) Leber Leber Mamma, Leber Niere
N-Nitrosodi-ethylamin	Phenobarbital Saccharin Methylthiouracil	Leber Blase Schilddrüse
2-Acetylamino-fluoren	Butylhydroxyanisol	Blase: Promotion Leber: **Inhibition!**

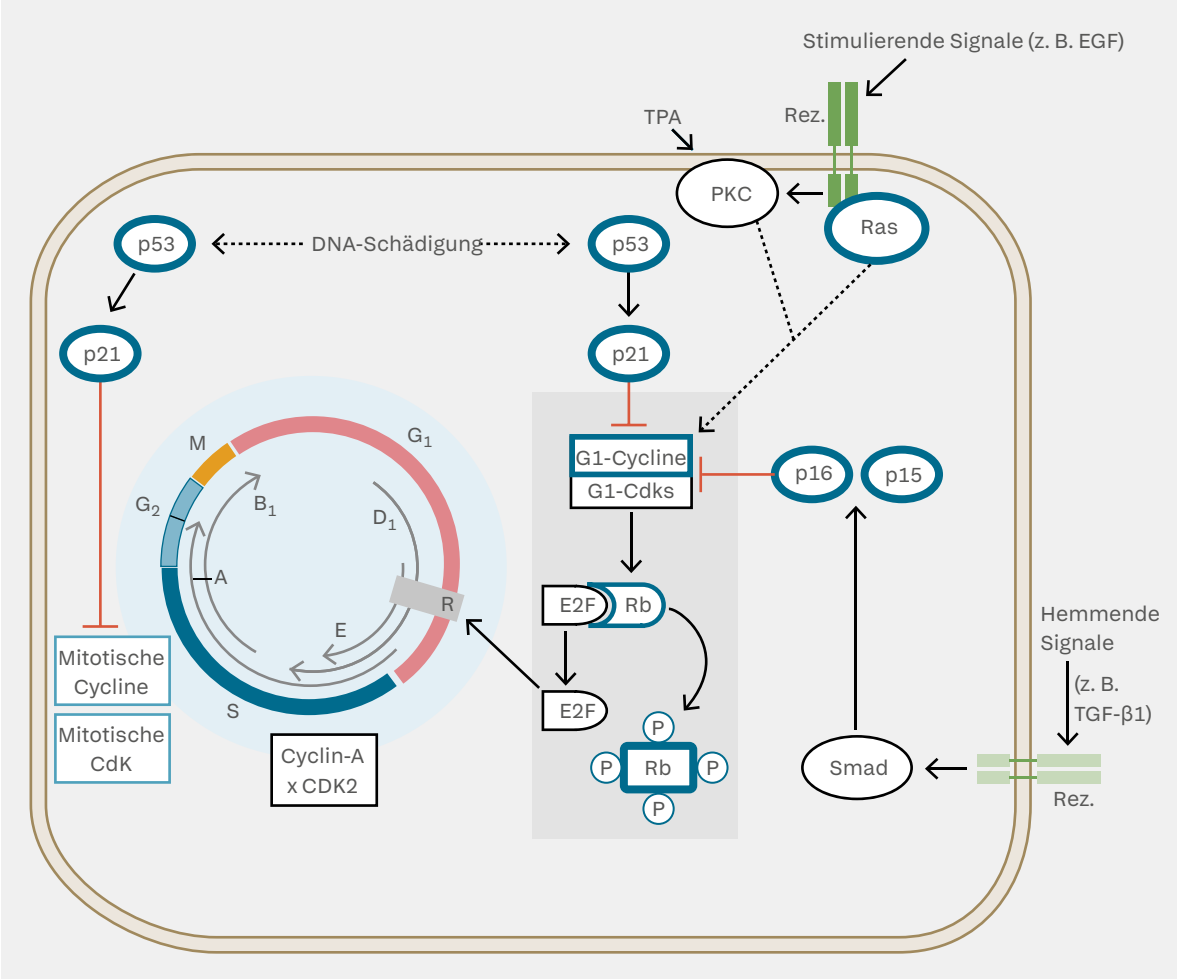
und „second messenger“ wie cAMP und Diglyceride. Letztlich steuern diese Mechanismen unter anderem die Transkription von wachstums- und zelltodregulierenden Genen (● Abb. 7.5).

Lipophile extrazelluläre Signalmoleküle wie Steroid- und Schilddrüsenhormone diffundieren passiv durch die Zellmembran und binden an spezifische Rezeptorproteine innerhalb der Zelle. Dabei handelt es sich um Transkriptionsfaktoren, die durch Bindung ihres Liganden aktiviert werden und im Kern an spezifische Erkennungssequenzen in der DNA (responsive Elemente) binden; dieser Typ von Rezeptoren wird deshalb auch als „nukleäre Rezeptoren“, „Kernrezeptoren“ oder „Ligan-denaktivierte Transkriptionsfaktoren“ bezeichnet. Rezeptoren dieses Typs sind häufig Zielmoleküle lipophiler Tumorpromotoren.

Tumorpromovierende Substanzen wirken aufgrund ihrer spezifischen Interaktion mit zellulären Signalkaskaden oft sehr organspezifisch, während initiierende Karzinogene häufig auf mehrere Organe gleichzeitig wirken. Daher können Tumorpromotoren das Erfolgsorgan einer kanzerogenen Einwirkung determinieren (■ Tab. 7.7). Einige Substanzen können sogar in bestimmten Organen als Promotor, in anderen dagegen als Anti-Promotor wirken. Für den Tumorpromotor Phenobarbital wurde gezeigt, dass die Substanz im Nagermodell verschiedene, genetisch unterscheidbare Tumorpopulationen im Zielorgan Leber teils promoviert, teils inhibiert. Hier ist also eher von einer Tumorselektion als von einer reinen Tumorpromotion zu sprechen (Braeuning u. Schwarz 2016).

Progression

Durch die Sequenz Initiation → Promotion entstehen zunächst Präneoplasien und gutartige Tumoren. Deren Weiterentwicklung zu malignen Geschwulsten wird als Progression bezeichnet. Die Progression besteht dabei aus zahlreichen genetischen und phänotypischen Veränderungen. Eine wesentliche Ursache der Progression kann genetische Instabilität sein, die für viele Tumorzellen charakteristisch ist („Mutator-Phänotyp“). Sie beruht nach heutigem Kenntnisstand häufig auf dem Verlust oder der Inaktivierung von Genen, die Proteine codieren, welche für die Reparatur beschädigter DNA verantwortlich sind („caretaker“-Gene). Defekte DNA-



● **Abb. 7.5** Regulation des Zellzyklus. Der Zellzyklus besteht aus den Phasen G_1 (Gap 1), S (DNA-Synthese), G_2 (Gap 2), M (Mitose). R: Restriktionspunkt, auch G_1-„Checkpoint" genannt. Einzelne Signalwege und Faktoren sind exemplarisch gezeigt. TPA: 12-O-Tetradecanoylphorbol-13-Acetat. PKC: Proteinkinase C, Rb: Retinoblastom-Protein, E2F: Elongationsfaktor 2, Cdks: cyclin-dependent kinases, Rez.: Rezeptor. Stimulierende und hemmende Wachstumssignale siehe ○ Abb. 7.4. Onko- bzw. Tumorsuppressorproteine, die durch Mutation der entsprechenden Gene aktiviert oder inaktiviert werden können, sind durch einen breiten blauen Rahmen gekennzeichnet. Grau unterlegt: R-Kontrolle. Einige wichtige Cycline (A, B_1, D_1, E) und die von ihnen kontrollierten Phasen des Zellzyklus sind angegeben (graue Pfeile innerhalb des Zyklus-Kreises). Weitere Erläuterungen fnden sich im Text.

Reparatur begünstigt die Entstehung von Mutationen und damit deren Akkumulation; dies manifestiert sich in der raschen Entstehung neuer Subklone von Zellen mit zunehmend aggressivem Verhalten. So besteht der gleiche Tumor oft aus mehreren Zellklonen mit unterschiedlichem Genotyp („Tumor-Heterogenität"). Solche Subklone können „spontan" oder durch weitere Einwirkung gentoxischer Substanzen entstehen. Daneben haben auch epigenetische Mechanismen große Bedeutung für die Entwicklung des malignen Phänotyps. Die Schritte während der Progression können mit zunehmender genetischer Instabilität auch mehr und mehr unabhängig von exogenen Faktoren verlaufen. Der Prozess der Krebsentstehung wird also meist durch äußere Einflüsse in Gang gesetzt und kann dann zunehmend autonom verlaufen.

Zu den phänotypischen Charakteristika, die während der Progression erworben werden, gehört das unbeschränkte Vermehrungspotenzial maligner Zellen, das die normalen Zellen des Organismus mit Ausnahme von Keimzellen und einigen Stammzellen nicht besitzen, sowie eine zunehmende Umprogrammierung des Stoffwechsels zugunsten der Synthese von Energie und Bausteinen für die Zellvermehrung, während „Service"-Funktionen für den Organismus abgeschaltet werden. Tumorzellen müssen die Bildung von Gefäßen induzieren, um ihren Sauerstoff- und Nährstoffbedarf zu decken. Auch die Bildung von Metastasen setzt den Erwerb spezifischer Fähigkeiten voraus. Die Zellen müssen Gewebegrenzen durchwandern, die Basalmembran zerstören, außerhalb ihres Ursprungsgewebes überleben, proliferieren und mehr.

22 Kohlenwasserstoffe

Albrecht Seidel†, Alfonso Lampen und Pablo Steinberg

22.1 Aromatische Kohlenwasserstoffe

22.1.1 Benzol

Benzol ist eine Vorstufe bei der Synthese von Styrol, alkylierten, nitrierten und halogenierten Benzolen, Phenolen, Anilin, Cyclohexan und darf seit dem Jahr 2000 in Deutschland und Ländern der Europäischen Union nur bis zu 1 % im Ottokraftstoff enthalten sein. Gemäß einer Konvention der Internationalen Arbeitsorganisation (ILO) von 1972 ist die Verwendung von Benzol untersagt (außer beim Ottokraftstoff), wenn geeignete Substitutionsprodukte zur Verfügung stehen. Seine Jahresproduktion in der Bundesrepublik betrug 2015 etwa 1,97 Mio. Tonnen. Benzolemissionen beliefen sich im Jahr 1983 auf knapp 70 000 Jahrestonnen in der Bundesrepublik (alte Länder). Davon gingen 80–90 % auf den Kraftfahrzeug-Verkehr zurück. Seit der Beschränkung des Benzolgehalts im Ottokraftstoff und schärferer Abgasnormen sind die kraftverkehrsbedingten Benzolemissionen rückläufig. Als natürlicher Bestandteil ist es im Erdöl, Erdgas und Steinkohlenteer enthalten. Ferner ist es Bestandteil des Tabakrauches. Seine biogene Entstehung (z. B. durch Decarboxylierung der Benzoesäure) ist vermutlich zu vernachlässigen. Sowohl Produktionsumfang und Verwendung als auch eine mangelhafte Entsorgung führen zu ubiquitärer Kontamination und infolgedessen seit Jahrzehnten zu einer kontinuierlichen Aufnahme mit der Atemluft sowie über Lebensmittel und Trinkwasser. Zum Schutz der menschlichen Gesundheit gilt für Benzol seit dem Jahr 2010 ein Luftgrenzwert von 5 µg/m^3, der im Jahresmittel nicht überschritten werden darf. Bereits seit 2007 wurden deutschlandweit selbst in Ballungsräumen keine Überschreitungen dieses Grenzwertes mehr beobachtet. Seltene Ausnahmen bilden Standorte von Kokereien, in deren Umgebung vor 2015 gelegentlich höhere Werte auftraten. Seither jedoch wird auch dort der Grenzwert eingehalten. Die Jahresmittelwerte liegen derzeit zwischen 0,2–2 µg/m^3.

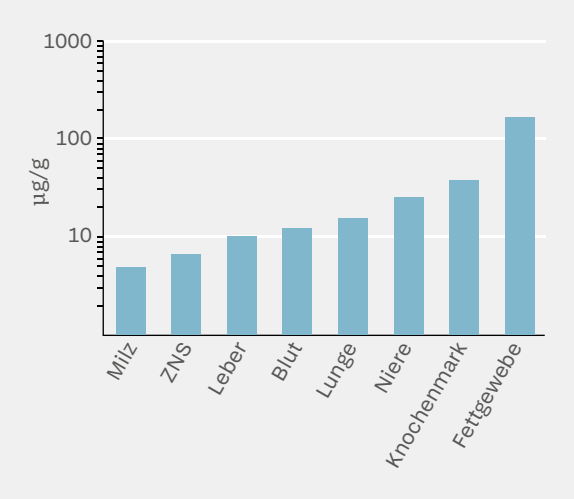
Wichtigste Aufnahmequellen für den Menschen sind das Rauchen und die Aufnahme mittels kontaminierter Atemluft, während die Aufnahme von Benzol aus Nahrungsmitteln und Trinkwasser für die Belastung des Erwachsenen nur eine untergeordnete Rolle spielt. Bei einem Raucher mit einem Konsum von 10 Zigaretten täglich liegt die inhalative Aufnahme durchschnittlich bei 200 µg Benzol/Tag. Schätzungen ergeben, dass der Mensch über die verschiedenen Aufnahmepfade etwa 250 µg/Tag aufnimmt. Im Einzelfall können am Arbeitsplatz größere Benzolmengen inhalativ und dermal aufgenommen werden.

Aufnahme, Verteilung, Metabolismus, Ausscheidung

Nach inhalativer Aufnahme folgt die Benzolresorption einer Sättigungskinetik. Zu Beginn einer Benzol-Exposition werden ca. 80 % des Benzols resorbiert. Im Gleichgewicht zwischen Inhalation und Exhalation liegt die Resorptionsquote zwischen 40 und 50 %. Der Zeitpunkt der Gleichgewichtseinstellung ist von Ventilationsparametern (Atemminutenvolumen) und der individuellen Aufnahmekapazität (Biotransformation, Fettgewebe) abhängig. Ruhende Männer (Atemminutenvolumen von 7,4 l/min) resorbieren beispielsweise bei einer Konzentration von 3,25 mg Benzol pro m^3 Luft etwa 0,72 mg Benzol/h, während sie bei schwerer Arbeit (Atemminutenvolumen von 43 l/min) 4,2 mg Benzol/h resorbieren. Die Geruchsschwelle liegt bei 16 mg/m^3 Luft. Benzol wird dermal gut resorbiert. Die menschliche Haut kann 400 mg/cm^2/h nach Auftragen flüssigen Benzols resorbieren. Beim Rhesusaffen wurde eine Resorption von 7 mg/cm^2 und Stunde ermittelt. Bei epikutaner Applikation einer Lösung von Benzol in anderen Lösemitteln ist die Menge an Benzol, die resorbiert wird, wesentlich geringer. Bei Exposition gegenüber Benzol in der Luft ist die dermale Aufnahme von Benzol praktisch ohne Bedeutung.

Oral zugeführtes Benzol wird nahezu vollständig aus dem Gastrointestinaltrakt resorbiert. Nach oraler Gabe von 1,5 mg/kg ^{14}C-Benzol (entsprechend 16 mg/m^3 Luft, 6 h eingeatmet) wird beim Versuchstier Radioaktivität in Leber, Niere, Blut, Knochenmark, Nasen- und Rachenhöhlen sowie in Zymbal- und Brustdrüse nachgewiesen. Bei Erhöhung der Dosis auf 15 mg/kg (entsprechend 160 mg/m^3 Luft, 6 h eingeatmet) reichert sich Radioaktivität in der Zymbal- und Brustdrüse an.

Die Verteilung im Organismus hängt wegen der Lipophilie des Benzols wesentlich vom Lipidgehalt der Organe und Gewebe ab (■ Tab. 22.1). Das Fettgewebe weist die höchste Konzentration und Speicherkapazität auf (● Abb. 22.1). Im Blut stellt sich ein Verteilungsverhältnis von 2:1 zwischen Erythrozyten und Plasma ein. Inhala-



● **Abb. 22.1** Benzolkonzentrationen im Fließgleichgewicht bei einer 6-h-Exposition von Ratten gegenüber 1,62 g Benzol pro m^3 Luft. Die Konzentrationen sind in µg Benzol/g Frischgewicht angegeben. Nach Rickert et al. 1979

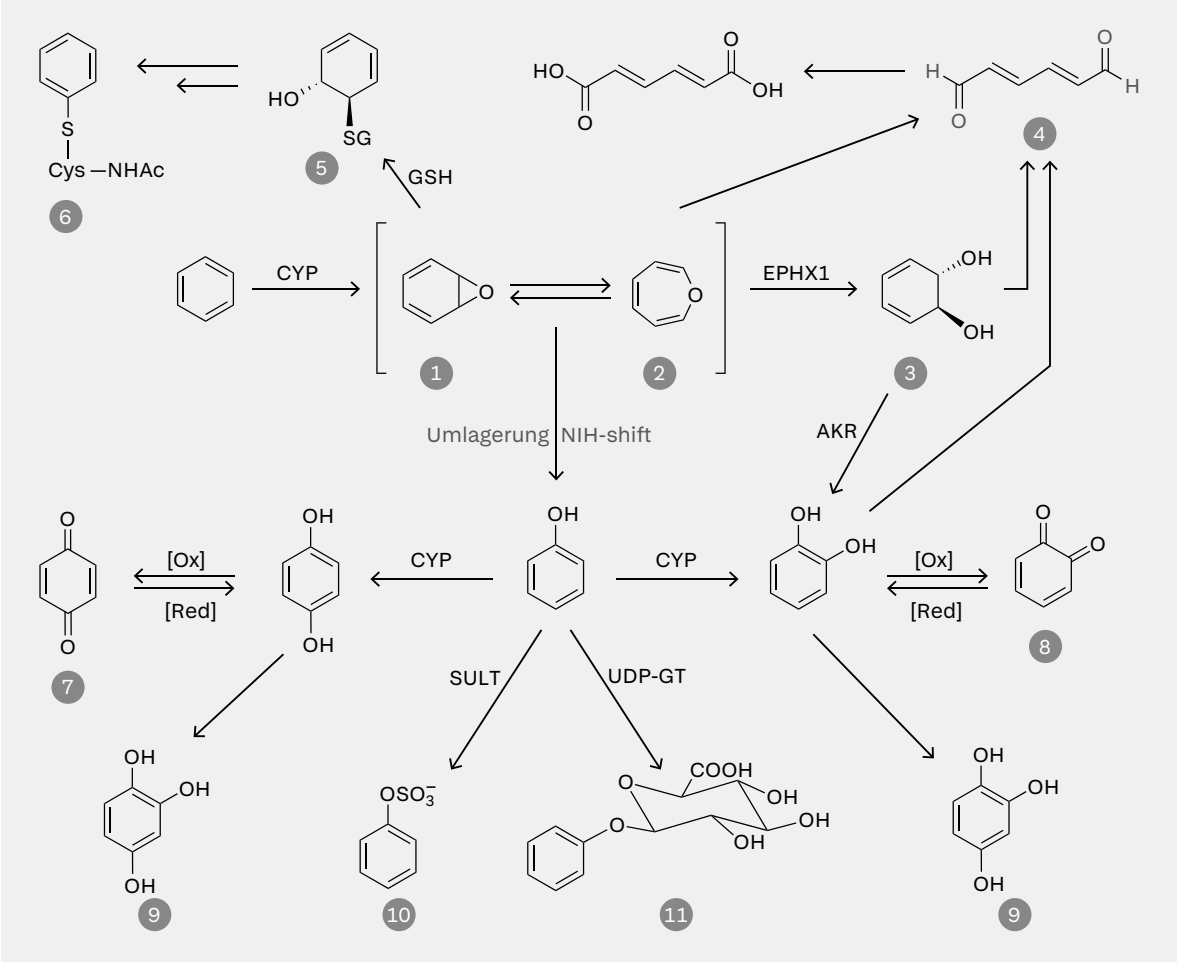
tionsstudien an der Ratte zeigen, dass die Benzolkonzentration innerhalb von 4 h im Blut, innerhalb von 6 h im Fettgewebe und in weniger als 2 h im Knochenmark ein Gleichgewicht erreichen kann. Die Verteilung von Benzol im Organismus ist weitgehend unabhängig von der Spezies und von der Applikationsart.

Hepatische Cytochrom-P450-abhängige Monooxygenasen (CYP, vorrangig CYP2E1) katalysieren die Addition eines Sauerstoffatoms an den Benzolring. Das gebildete Arenoxid ist ein reaktives, kurzlebiges Intermediärprodukt, das in einem tautomeren Gleichgewicht mit dem Oxepin existiert und sich nach Aufnahme hoher Benzoldosen nichtenzymatisch hauptsächlich in Phenol umlagert. Ein kleinerer Anteil des Arenoxids wird durch die mikrosomale Epoxidhydrolase zum *trans*-Dihydrodiol umgesetzt und dies anschließend durch Dihydrodiol-Dehydrogenasen ins Katechol überführt. Alternativ kann das Arenoxid in Gegenwart von Glutathion-*S*-Transferasen (GST) mit Glutathion (GSH) konjugiert werden. Das GSH-Konjugat wird anschließend in die nierengängige Phenylmercaptursäure umgewandelt (● Abb. 22.2). Bei kleineren Benzoldosen (5 ppm in der Luft entsprechend 1,5 mg/kg KG) katalysieren CYP-Enzyme durch Ringoxidation die Bildung von Phenol, Katechol und Hydrochinon sowie von 1,2,4-Trihydroxybenzol. Aus dem Gleichgewicht zwischen Arenoxid und Oxepin oder dem *trans*-Dihydrodiol sowie über das Katechol kann nach Ringöffnung *trans*,*trans*-Muconaldehyd entstehen, der durch weitere Oxidation in *trans*,*trans*-Muconsäure überführt wird. In der Leber und in einem geringen Ausmaß auch im Zielorgan der Benzoltoxizität, dem roten Knochenmark, werden die hydroxylierten Metaboliten in Glucuronide und Sulfatkonjugate umgewandelt.

Nichtkonjugierte Metaboliten unterliegen nach ihrer Aufnahme in das Knochenmark weiteren Oxidationsprozessen. Hier finden sich rund 90 % der im Körper vorkommenden granulozytären Leukozyten. Sie besitzen die Fähigkeit zum „oxidative burst", einer besonderen Form des oxidativen Metabolismus. Dabei kommt es zur Freisetzung verschiedener lysosomaler und peroxidativer Enzyme sowie von Oxidanzien einschließlich H_2O_2 und deren Transfer in die Phagosomen und in den Extrazellulärraum. Zu den Enzymen gehört die Myeloperoxidase, die in peripheren neutrophilen Granulozyten bis zu 5 % der Trockenmasse ausmacht. In den im Knochenmark befindlichen, noch nicht ausgereiften Granulozyten kann der Gewichtsanteil der Myeloperoxidase noch höher sein. Phenol, Hydrochinon und Katechol scheinen potenzielle Substrate dieser Peroxidase zu sein. Der „oxidative burst" stimulierter menschlicher Leukozyten führt zur Umwandlung von Phenol in Reaktionsprodukte, die kovalent an zelluläre Strukturen binden. In In-vitro-Studien wurden Biphenole und 4,4'-Diphenochinon identifiziert. Katalase und Natriumazid unterbinden die Bildung derartiger Reaktionsprodukte vermutlich durch Entgiftung des H_2O_2 bzw. durch Hemmung der Myeloperoxidase. Die Bindung wird außerdem durch GSH und Ascorbinsäure unterbunden. Beide Faktoren besitzen die Eigenschaft eines Antioxidans, wodurch beispielsweise das Phenoxy-Radikal zu Phenol reduziert wird. In gleichen Tests wurde die oxidative Umwandlung von Hydrochinon in 1,4-Benzochinon beobachtet. Auf die Myeloperoxidase-abhängige Hydrochinonoxidation kann Phenol stimulierend einwirken. Neben der Myeloperoxidase spielen vermutlich auch andere Peroxidasen sowie die Hydroperoxidase-Komponente der Prostaglandinsyn-

■ **Tab. 22.1** Gemessene Benzolkonzentration in Blut und Gewebe sowie berechnete Benzolkonzentration im Fett dieser Gewebe von Ratten nach einer 6-h-Exposition gegenüber 1,62 g Benzol pro m^3 Luft. Es ergibt sich das Bild einer Gleichverteilung. Die Berechnung erleichtert die Abschätzung der insgesamt vom Organismus retinierten Benzolmenge, wenn für die analytische Erfassung lediglich Blut verfügbar ist.

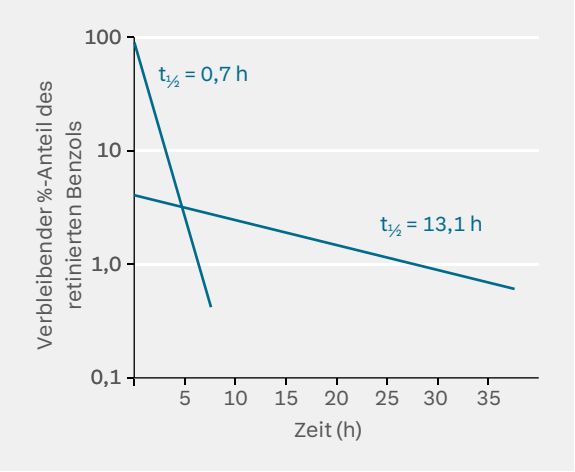
	Benzolgehalt in µg/g Frischgewicht	Fettgehalt in mg/g Gewebe	Benzolgehalt in µg/g Fett
Blut	11,5	35	329
Knochenmark	37,0	100	370
Fettgewebe	164,4	600	274



● **Abb. 22.2** Biotransformation von Benzol in der Leber des Säugetiers einschließlich reaktiver Intermediärprodukte und identifizierter Metaboliten. Wie am Beispiel des Phenols selbst gezeigt, werden phenolische Metaboliten in ausscheidbare Glucuronsäure- ⑪ und Schwefelsäurekonjugate ⑩ umgewandelt. Benzol wird besonders durch CYP2E1 zum Arenoxid ① oxidiert, das im tautomeren Gleichgewicht mit dem Oxepin ② steht und nichtenzymatisch in Phenol oder durch die mikrosomale Epoxidhydrolase (EPHX1) in das *trans*-Dihydrodiol ③ umgewandelt wird. Die Metaboliten ② und ③ sowie Katechol ergeben nach Ringöffnung den *trans,trans*-Muconaldehyd ④, der zur *trans,trans*-Muconsäure oxidiert wird. Das Arenoxid wird außerdem durch Glutathion-S-Transferasen mit Glutathion konjugiert ⑤. Aus dem Glutathionkonjugat (Prä-Merkaptursäure) entsteht Phenylmercaptursäure ⑥. Die aus Phenol entstehenden Metaboliten 1,4-Hydrochinon und Katechol gehen durch schrittweise Oxidation in *p*- ⑦ und *o*-Benzochinon ⑧ über und bilden durch weitere Oxidation gemeinsam das 1,2,4-Trihydroxybenzol ⑨. In der Maus werden nach Inhalation von 16 mg Benzol/m^3 Luft unverhältnismäßig hohe Konzentrationen an Hydrochinonkonjugaten und Muconsäure nachgewiesen, während nach Inhalation von 1900 mg Benzol/m^3 vermehrt GSH- und Phenylsulfatkonjugate gebildet werden.

thase eine Rolle bei der Hydrochinon-Aktivierung. Die Beeinträchtigung der metabolischen Umwandlung von Benzol in der Leber durch andere Substanzen sowie eine partielle Hepatektomie mindern das Ausmaß Benzol-induzierter Effekte. Toluol antagonisiert die hämatotoxischen und genotoxischen Effekte von Benzol durch kompetitive Hemmung mikrosomaler Biotransformationsprozesse. Andererseits zeigen Tierexperimente, dass die Zufuhr beider Substanzen zu größeren neurotoxischen Effekten (Erhöhung der Konzentration biogener Amine in verschiedenen Regionen des Zentralnervensystems [ZNS]) führt als die Zufuhr der einen oder der anderen Substanz allein. Ursache ist vermutlich die eingeschränkte Biotransformation, die sich daraus ergebende verlängerte Halbwertszeit und zunehmende Konzentration beider Aromaten im ZNS. Die beobachtete Neurotoxizität wird auf die Muttersubstanzen zurückgeführt. Die gleichzeitige Zufuhr von Benzol und Blei oder Alkohol führt zu einer Beeinträchtigung der Häm- und Proteinsynthese bei den Vorstufen der roten Blutzellen.

Die Eliminationskinetik des Benzols wird durch die hohe Biotransformationsrate und durch den hohen Dampfdruck (157,8 mbar bei 30 °C) bestimmt. Die Eliminationshalbwertszeit der unveränderten Substanz in den Geweben der Ratte liegt zwischen 0,4–0,8 h (Blut, Knochenmark, Leber, Lunge, Niere, Milz und ZNS) und 1,6 h



● **Abb. 22.3** Abnahme der von Ratten nach Beendigung der Exposition gegenüber Benzol (6 h, 1,62 g/m^3) retinierten Benzolmenge durch Abatmung. Der biphasische Verlauf der Benzolelimination ist mathematisch als 2-Kompartiment-Modell anzusehen. Das 1. Kompartiment aus Blut, Knochenmark, Leber, Lunge, Niere, Milz und ZNS eliminiert Benzol mit einer Halbwertszeit von $t_{1/2}$ = 0,7 h. Das 2., sogenannte tiefe Kompartiment aus Fettgewebe und Lipiden in verschiedenen Organen eliminiert Benzol mit einer Halbwertszeit von $t_{1/2}$ = 13,1 h.

(Fettgewebe). Die Eliminationshalbwertszeit des Hauptmetaboliten Phenol im Blut beträgt rund 1 h. Im Gegensatz dazu bleiben die Konzentrationen von Katechol und Hydrochinon im Blut über einen weiten Zeitbereich nach Expositionsende (9 h) nahezu unverändert. Die Ausscheidung des unveränderten Benzols (ca. 50 %) erfolgt hauptsächlich über die Lunge (Exhalation). Im Tierexperiment sind zwei Phasen mit unterschiedlichen Halbwertszeiten erkennbar (● Abb. 22.3). Die Halbwertszeit der initialen pulmonalen Elimination entspricht derjenigen der Benzolelimination im Blut. Spätere Eliminationsphasen haben deutlich längere Halbwertszeiten. Ursache könnte ein nicht näher charakterisiertes tiefes Kompartiment sein.

Mit dem Urin werden hauptsächlich Phenol und in vergleichsweise geringerer Menge Hydrochinon, Katechol, Trihydroxychinon, Muconsäure in freier wie auch in konjugierter Form sowie Phenylmercaptursäure ausgeschieden. Spuren des retinierten Benzols erscheinen als CO_2 in der abgeatmeten Luft und in metabolisierter Form in der Galle.

■ **Tab. 22.2** Symptomatik einer schweren akuten Benzolvergiftung

- Schwindel
- Schweißausbruch
- Kammerflimmern
- Absolute Arrhythmie
- Erbrechen
- Krämpfe
- Pupillenstarre
- Lähmungserscheinungen
- Kreislaufversagen (Todesursache)

Akute und chronische Toxizität

Eine Benzolkonzentration von rund 2300 mg/m^3 Luft führt nach 30–60 min zur Bewusstlosigkeit. 65000 mg/m^3 Luft können bereits nach 5–10 min tödlich sein. Zentraldepressorische Wirkungen stehen im Vordergrund der Vergiftung. Leichtere Formen der Intoxikation sind durch subjektive Befindlichkeitsstörungen (Schwindel, Benommenheit, Kopfschmerz, Brechreiz, Trunkenheitsgefühl sowie Rauschzustände und euphorische Gefühle) gekennzeichnet. Bei labiler Persönlichkeitsstruktur kann aufgrund der euphorischen Wirkung die Gefahr einer Benzolsucht gegeben sein. Schwere Formen der Vergiftung sind überwiegend durch objektivierbare Störungen charakterisiert (■ Tab. 22.2). In deren Verlauf kann ein Blutgehalt von 1–20 mg Benzol/l erreicht werden. Mikroskopisch erkennbare Veränderungen des Blutbildes sind dabei nicht zu erwarten (kurze Expositionsdauer). Bei Aufnahme großer Benzolmengen sind Schädigungen von Leber und Niere nicht auszuschließen.

Die chronische Exposition gegenüber Benzol führt zu einer Beeinflussung des hämatopoetischen Systems auf drei Ebenen, der Erythropoese, Leukopoese und Thrombopoese (■ Tab. 22.3).

Kasuistiken aus dem gewerblichen Bereich belegen bei längerfristiger Exposition das Auftreten benzolinduzier-

■ **Tab. 22.3** Hämatopoetische Störungen nach chronischer Benzol-Exposition

Benzol-induzierte Veränderungen		
Erythropoetisches System	**Leukopoetisches System**	**Thrombopoetisches System**
Anämie (aplast.)	Neutropenie	Thrombozytopenie
– Erythroblastische Myelose – Akute Erythrämie	– Leukopenie – Leukozytose – Leukose (akute myelogene, akute myeloblastische, chronische myeloische, chronische lymphatische) – Lymphozytose	
	Granulothrombopenien	

ter Hämopathien mit unterschiedlichem Schweregrad und Verlauf. Die diagnostischen Kriterien überlappen sich und können zeitbedingten faktischen Änderungen unterliegen. Als folgenschwere Zeichen der Benzolvergiftung werden Panmyelophthise (Aplastisches Syndrom), Panmyelopathie und Panzytopenie sowie isolierte Zytopenien der drei hämatopoetischen Teilbereiche beschrieben. Die Unterfunktion des erythro-, leuko- oder thrombopoetischen Systems kann mit der Überfunktion eines anderen Systems einhergehen. Andererseits kann die Benzolexposition als erste Reaktion eine Proliferationszunahme („initialer Reizzustand") im erythropoetischen oder leukopoetischen System auslösen, auf die eine Unterfunktion folgt. Jedoch ist weder eine bestimmte Reihenfolge noch eine Kombination der Knochenmarkschädigungen regelhaft zu erkennen. Myeloproliferative Veränderungen, denen gelegentlich eine chronische Panzytopenie vorangeht, können zur malignen Erkrankung, d. h. zu einer Leukämie vom akuten myelogenen Typ führen. Bereits 1977 wurde Benzol aufgrund seiner leukämogenen Wirkung als Kanzerogen eingestuft.

Expositionsdauer und -dosis sowie die Latenzperioden bis zum Auftreten hämatotoxischer Effekte sind nicht eindeutig zu quantifizieren. Eine Depression der blutbildenden Systeme kann sich bereits innerhalb weniger Monate manifestieren. Dabei kann die auslösende Benzoldosis dem während der Arbeitsschicht auftretenden Konzentrationsbereich von 6,5 bis 81 mg/m^3 entsprechen. Leukosen (Leukämien) traten nach einer Expositionsdauer von 1,5 bis 15 Jahren und einer Latenz von bis zu 12 Jahren nach Expositionsende auf. Die damit im ursächlichen Zusammenhang stehenden Benzolkonzentrationen erstreckten sich über den Bereich von durchschnittlich 513 bis 1 594 mg/m^3. In einem Fall (chronische Leukose) wurde der untere Konzentrationsbereich mit 52 mg/m^3 angegeben.

Bei ausreichend hoher Benzolexposition von Versuchstieren (Ratte, Maus) zeigen sich Verzögerungen im Zellzyklusdurchlauf und Veränderungen der mitotischen Indizes im Knochenmark, Untergang von Stammzellen in spezifischen Phasen des Zellzyklus, Hemmung der zellulären Funktionen und Schäden im funktionalen Aufbau des Knochenmarks, wodurch die Stammzellproliferation und -differenzierung gestört werden. Die hemmende Wirkung von Benzolmetaboliten auf die Zellteilung von Promyelozyten, Myelozyten, Erythroblasten und Pronormoblasten führt zur Abnahme der Zellzahl. Hierdurch werden Stammzellen über Signalmechanismen zur Differenzierung angeregt, was längerfristig zu einer Verminderung des multipotenten Stammzellpools (colony forming unit stem cell) führen kann. Knochenmarkmakrophagen, die durch Produktion hämatopoetischer Wachstumsfaktoren (Interleukin 1 und 6, Erythropoetin) Stammzellproliferation auslösen können, werden als Zielzellen myelotoxischer Effekte des Hydrochinons und anderer Benzolmetaboliten angesehen.

In-vitro-Studien an Knochenmarkzellen von Mäusestämmen unterschiedlicher Empfindlichkeit gegenüber Benzol in der Atemluft belegen eine hohe zytotoxische Wirksamkeit von Benzochinon und Hydrochinon gegenüber einer frühen Vorstufe der Erythrozyten (colony forming unit-erythroid [CFUe]). Deutlich geringer ist die Wirksamkeit des Catechols, der Muconsäure und des Phenols. Die zytotoxischen Effekte manifestieren sich besonders in der späten DNA-Synthese (S) oder in der prämitotischen Ruhephase (G2) des Zellzyklus.

Spezielle Toxikologie

Reproduktionstoxizität

Die subkutane Applikation von 3 ml Benzol/kg am 13. Tag der Trächtigkeit führt bei Mäusen zu Gaumenspalten und Kiefermissbildungen. Sechsstündige Expositionen vom 6. bis zum 15. Tag der Trächtigkeit gegenüber 950 bzw. 6 900 mg/m^3 Luft verursachen bei Ratten eine verzögerte Ossifikation, wovon weibliche Feten in größerem Ausmaß als männliche Feten betroffen sind. Diese Effekte wurden nicht beobachtet, wenn die Tiere gegenüber etwa 320 mg/m^3 exponiert waren. In den Keimzellen männlicher Tiere ruft Benzol nach einmaliger oraler Dosis (1 ml/kg) klastogene Veränderungen hervor. Trotz teratogener Wirkung gibt es keinen Hinweis auf einen Einfluss des Benzols auf die Zahl der Implantationen und Lebendgeburten.

Bei Exposition gegenüber 6 900 mg/m^3 (6 Stunden täglich vom 6. bis zum 15. Tag der Trächtigkeit) sind Gewicht und Länge der Feten stark beeinträchtigt. Diese Beeinträchtigungen treten nicht bei Konzentrationen von 950 mg/m^3 Luft und weniger auf. Es ist ungeklärt, ob die fetotoxischen Effekte durch eine reduzierte Futteraufnahme seitens der Muttertiere verursacht werden.

Mutagenität

Durch die kovalente Bindung reaktiver Benzolmetaboliten (Hydrochinon, *p*-Benzochinon) an Zellkern-DNA (Deoxyguanosin) können biologisch stabile Schäden in somatischen Zellen gesetzt werden. Punktmutationen sowie chromosomale Deletionen, Inversionen oder Translokationen können ebenfalls bei einer Exposition gegenüber Benzol auftreten und zur Tumorentstehung beitragen. Chromosomale Veränderungen, in die DNA-Segmente einbezogen sind, die größer als ein Gen sind, können Proto-Onkogene aktivieren oder Tumorsuppressorgene deaktivieren. Genotoxische Schäden, vermutlich ohne ursächlichen Zusammenhang mit der Auslösung von Krebs, schließen die Induktion von Mikronuklei in peripheren normochromatischen und polychromatischen Erythrozyten sowie den Schwesterchromatidaus-

■ **Tab. 22.4** Tumoren in Organen und Drüsen von Ratte und Maus, die auf die langfristige Aufnahme von Benzol zurückgeführt werden. Die Zusammenstellung beruht auf der „Carcinogenetic Potency"-Datenbank, die allgemein zugängliche Fachliteratur sowie die NCI/NTP-Technical Reports des amerikanischen National Toxicology Program (NTP) berücksichtigt. NCI: National Cancer Institute

Benzol-induzierte Tumoren in
– Ohr/Zymbaldrüse
– Harder'scher Drüse
– Hämatopoetischem System
– Brustdrüse
– Nasenhöhle
– Ovar
– Präputialdrüsen
– Haut
– Magen
– Gefäßsystem

tausch (SCE) in peripheren Lymphozyten und in Knochenmarkzellen ein. Das Auftreten von Mikronuklei spiegelt eine Chromosomenfragmentierung durch einen kumulativen clastogenen Effekt wider. Zytotoxische und genotoxische Effekte sind in ihrem Ausmaß von Geschlecht, Alter und Stamm der Versuchstiere (Maus) abhängig. Gegenüber clastogenen Effekten sind männliche Tiere sehr empfindlich, während weibliche Tiere (einschließlich trächtiger Tiere) eher wenig empfindlich sind. Die In-vitro- und die In-vivo-Exposition menschlicher peripherer Lymphozyten gegenüber Benzol führen zu SCE und anderen Chromosomenaberrationen. Sowohl Phenol, Katechol, Hydrochinon und 1,2,4-Trihydroxybenzol sowie *p*-Benzochinon induzieren in isolierten peripheren menschlichen Lymphozyten das Auftreten von SCE. Dieser Effekt wird durch Zugabe von GSH verhindert.

Kanzerogenität

Aus Beobachtungen am Menschen ergaben sich erste Hinweise auf eine leukämogene Wirkung. Erste umfassende klinische Studien in den 1970er-Jahren an Arbeitern der türkischen Schuhindustrie belegten die Humankanzerogenität von Benzol. Studien am Versuchstier bestätigen die am Menschen gemachten Beobachtungen, dass Benzol-induzierte Tumoren abhängig von Spezies, Geschlecht und Applikationsart (s. c., oral, inhalativ) in verschiedenen Bereichen des Organismus auftreten können (■ Tab. 22.4). Die Beziehung zwischen der applizierten Dosis und der Tumorinzidenz ist vermutlich nichtlinear. Im Gegensatz dazu scheint es eine lineare Abhängigkeit der Tumorentstehung von der Zahl der genotoxischen Veränderungen (DNA-Addukte) im Zielorgan zu geben. Die Komplexität der Biotransformation und der Wirkungen des Benzols spiegelt sich in den verschiedenen Mechanismen wider, die den malignen Veränderungen zugrunde liegen können.

Denkbar ist die kompetitive Bindung von Benzol oder eines Metaboliten an Zellmembranrezeptoren. Dadurch könnte der Zugang normaler wachstumsregulierender Botenstoffe zu den entsprechenden Rezeptoren blockiert werden. Ebenfalls denkbar ist die durch Benzol oder seine Umwandlungsprodukte stimulierte Übertragung intrazellulärer Botenstoffe auf den Zellkern, wodurch eine Zellproliferation statt der normalerweise auftretenden Zelldifferenzierung ausgelöst wird. In beiden Fällen wäre Benzol als Promotor einzustufen. Als Rezeptor wird die Proteinkinase C angesehen, die durch Benzol in vitro aktiviert wird. Ein weiterer epigenetischer Mechanismus könnte die Hemmung der Bildung von „gap junctions" in Zielzellen durch Phenol sein, das tumorpromovierende Eigenschaften besitzt. Benzol-induzierte Effekte sind in ■ Tab. 22.5 dargestellt.

Der ursächliche Zusammenhang bleibt jedoch einer weiteren Prüfung vorbehalten. Eine Gefährdungsabschätzung auf der Basis von Dosis-Häufigkeitsbeziehungen und Dosis-Wirkungsbeziehungen ist daher mit gro-

■ **Tab. 22.5** Effekte und Folgeerscheinungen im benzolexponierten Organismus

Benzol-induzierte Kanzerogenese und Leukämogenese (hypothetisch)	
Effekt	**Folgeerscheinungen**
DNA-Adduktbildung	Initiation
Zytotoxischer Schaden an teildifferenzierten Knochenmarkzellen	Kompensatorische Stammzellproliferation
Zytotoxischer Schaden an Knochenmarkstroma und Makrophagen	Beeinträchtigung der Stammzellproliferation und -differenzierung (Leukämie durch verminderte Produktion von Botenstoffen für die Differenzierung)
Immuntoxizität	Überleben und Proliferation von Tumorzellen
Deletion oder Translokation von Chromosomenbruchstücken	Aktivierung von Onkogenen durch ihre Übertragung auf einen aktiven Chromosomenabschnitt oder Inaktivierung von Antionkogenen

ßer Unsicherheit verbunden. Aus den Ergebnissen der amerikanischen National-Toxicology-Program-Studie an Ratten und Mäusen wird eine nichtlineare Dosis-Häufigkeitsbeziehung für die verschiedenen Tumortypen abgleitet. So steigt die Inzidenz des Zymbaldrüsentumors um das 3- bis 5-Fache an, obwohl die tägliche Dosis sich nur um das Doppelte (25 bzw. 50 mg/kg) unterscheidet. Andererseits zeigt sich eine Inzidenz von 28 % bei Neoplasien des Uterus, wenn 100 mg/kg und Tag verabreicht werden, und von lediglich 15 %, wenn die tägliche Dosis 25 bzw. 50 mg/kg beträgt. Aus epidemiologischen Untersuchungen am Arbeitsplatz geht hervor, dass bei einer Exposition gegenüber 32,5 bis 325 mg/m^3 Benzol während des Arbeitslebens zwischen 140 und 170 Leukämiefälle auf 1 000 Arbeiter auftreten können. Im Hinblick auf die Gefährdung der Allgemeinbevölkerung durch Benzol in der Umwelt wird das zusätzliche Lebenszeitrisiko bei einer Exposition gegenüber 1 mg/m^3 mit 1–32 Leukämiefällen pro 1 Million Personen angegeben.

Immuntoxizität

Im Tierexperiment zeigen sich eine Hemmung der Reifung und Proliferation von B-Lymphozytenvorstufen und eine Abnahme der Leukozyten sowie der B- und T-Lymphozytenzahl in Knochenmark, Milz und Thymus. Die Abnahme der B-Lymphozytenzahl ist dosisabhängig und drastischer als die Abnahme der T-Lymphozyten. Ebenfalls dosisabhängig wird das relative Gewicht von Thymus und Milz reduziert. Vermutlich blockiert das *p*-Benzochinon die Mitose der Lymphozyten durch eine Reaktion mit SH-Gruppen des Tubulins. Ferner hemmt es die Bildung von Interleukin 2 und die RNA-Synthese. Hydrochinon, *p*-Benzochinon und Katechol hemmen die Wasserstoffperoxidfreisetzung aus stimulierten Makrophagen. *p*-Benzochinon mindert die phagozytische und zytolytische Aktivität von Makrophagen gegenüber Tumorzellen. Die humorale Immunantwort wird durch Benzol beeinträchtigt, während die zellvermittelte Immunantwort unverändert bleibt oder bei höherer Exposition durch Beeinträchtigung der Suppressor-T-Zellen stimuliert wird.

22.1.2 Toluol

Kohle und Mineralöl sind wesentliche Ausgangsmaterialien der industriellen Toluolgewinnung. Dabei ebenfalls anfallende weitere Alkylbenzole sowie Benzol werden durch Destillation, Waschen mit Schwefelsäure und Redestillation abgetrennt. Hochgereinigtes Toluol enthält weniger als 0,01 % Benzol, während industriell weiterverwendetes Toluol 10–20 % Benzol und andere Kohlenwasserstoffe enthalten kann. In der Bundesrepublik wurden im Jahr 2015 etwa 0,59 Mio. Tonnen Toluol produziert. Es ist Ausgangsstoff bei der Synthese zahlreicher organischer Verbindungen. Hauptemittenten sind Kraftfahrzeuge, Farb- und Deckanstriche (auch Innenraum), großflächig aufgebrachte Klebstoffe (auch Innenraum), die Mineralölindustrie, die industrielle Toluolverwendung und Holzfeuer.

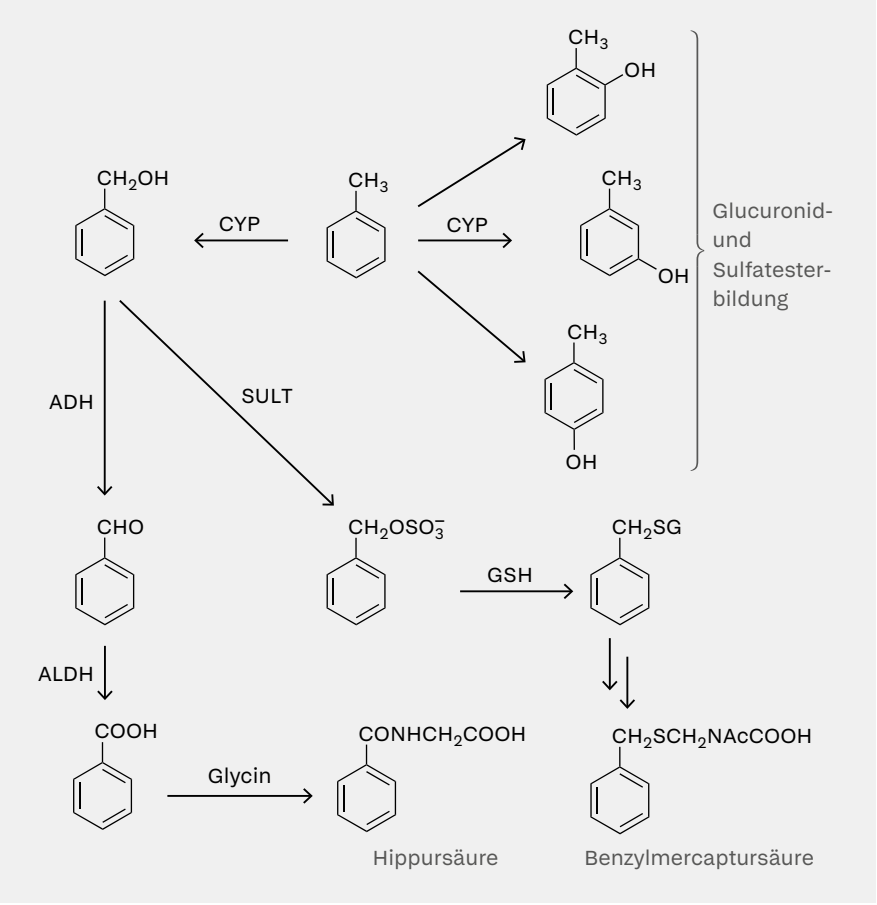
Toluol hat in den letzten Jahren als Benzolersatz (z. B. Lösemittel) zunehmend an Bedeutung gewonnen. Immissionskonzentrationen in Ballungsgebieten liegen bei 0,08 mg/m^3 und in Reinluftgebieten bei ≤ 0,01 mg/m^3. Im Innenraumbereich können Konzentrationen von ≥ 0,1 bis 0,2 mg/m^3 auftreten. Für die Allgemeinbevölkerung wird die tägliche Aufnahme mit 0,2 mg pro Einwohner angenommen, wovon ca. 60 % aus der Luft und ca. 40 % aus den Lebensmitteln stammen. Eine im Einzelfall größere Zufuhr kann sich durch die Kontamination fetthaltiger Lebensmittel durch Toluol aus der Umgebungsluft (Innenraum) und durch Tabakrauchen ergeben. Bei der Aufbewahrung von Lebensmitteln und Druckerzeugnissen wie Zeitungen und Zeitschriften im gleichen Raum nimmt der Toluolgehalt in lipophilen Lebensmitteln zu.

Aufnahme, Verteilung, Metabolismus, Ausscheidung

Der Mensch resorbiert 40 bis 60 % des eingeatmeten Toluols. Die dermale Resorptionsquote beträgt 14 bis 23 mg Toluol/cm^2/h, wenn Toluol in einem lipophilen Lösemittel aufgetragen wird und lediglich 0,16 bis 0,6 mg/cm^2, wenn die Substanz in gesättigter wässriger Lösung appliziert wird. Die dermale Aufnahme von Toluol aus der Luft beläuft sich auf maximal 1 % der inhalativen Aufnahme. Die orale Resorption von Toluol ist nahezu vollständig, allerdings ist die Resorptionsgeschwindigkeit geringer als nach inhalativer Aufnahme.

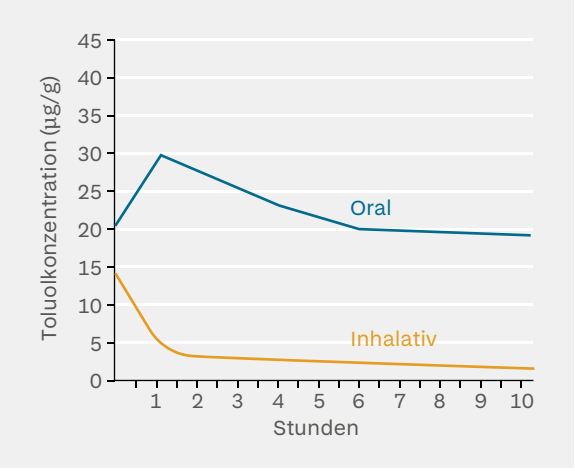
Die Verteilung von Toluol im Organismus wird durch den Lipidgehalt in den Geweben und Organen bestimmt. Das Konzentrationsverhältnis zwischen Blut, Organen (Leber, Lunge, Nieren, ZNS) und Fettgewebe ist 1:1–3:80. Das ZNS von Mensch und Ratte weist eine uneinheitliche Verteilung auf. In der Stammregion mit den regulatorischen Zentren der Herztätigkeit, Vasomotorik und Atmung ist der Toluolgehalt nahezu doppelt so hoch wie im Hippocampus (endokrine und vegetativ nervöse Regulation) und zerebralen Kortex. Bei erhöhter Blutzirkulation durch körperliche Aktivität kommt es zur vermehrten Aufnahme in die Skelettmuskulatur, das Herz, das ZNS und das Fettgewebe. Daraus ergibt sich, dass die Toluolkonzentration in Leber, Niere und Gastrointestinaltrakt vergleichsweise gering ist.

Die metabolische Umwandlung (● Abb. 22.4) erfolgt hauptsächlich in der Leber. Toluol interferiert mit der Biotransformation anderer Fremdstoffe. So hemmt es die metabolische Umwandlung von Benzol, Styrol, Xylol und Trichlorethan. Außerdem erhöht es ebenso wie *m*- und *p*-Xylol den Quotienten aus Giftung und Entgiftung



● **Abb. 22.4** Biotransformation von Toluol im Säugetier. Die Oxidation der Methylgruppe und des Rings erfolgt durch mikrosomale Cytochrom-P450-abhängige Monooxygenasen (CYP). Die Bildung der Benzoesäure wird stufenweise durch die Alkoholdehydrogenase (ADH) und die Aldehyddehydrogenase (ALDH) katalysiert. Die Konjugation mit Glucuronsäure findet erst nach Sättigung der Konjugationsreaktion mit Glycin zur Hippursäure statt. Die Bildung der Benzylmercaptursäure erklärt sich durch GSH-Konjugation des reaktiven Benzylsulfats nach dessen Entstehung durch Sulfotransferase(SULT)-Konjugation des Benzylalkohols. Rund 80 % des resorbierten Toluols werden nach Oxidation der Methylgruppe mit Glycin konjugiert und nur rund 1 % wird am Ring zu Kresol hydroxyliert. 19 % des resorbierten Toluols werden in unveränderter Form abgeatmet. Nach Dean 1978

des Benzo[*a*]pyrens bei Ratten, wodurch es zu einer Steigerung der Benzo[*a*]pyren-Toxizität kommt. Andererseits hemmt Ethanol die metabolische Umwandlung von Toluol, wie Untersuchungen an Druckern zeigen.



● **Abb. 22.5** Veränderung der Toluolkonzentration im Blut von Ratten nach einer halbstündigen Inhalation von 7600 mg/m^3 Toluol in der Luft und einmaliger oraler Gabe von 400 mg/kg Körpergewicht. Nach Ameno et al. 1992

Rund 20 % des aufgenommenen Toluols wird vom Menschen wieder abgeatmet und 80 % nach Metabolisierung über die Niere eliminiert. Die Eliminationshalbwertszeit von Toluol im subkutanen Fettgewebe des Menschen liegt zwischen 0,5 und 2,7 Tagen, im Blut zwischen 6 und 8 Stunden (● Abb. 22.5). Beim Menschen zeigt sich eine Korrelation zwischen der Eliminationshalbwertszeit und dem individuellen Anteil des Körperfetts am Gesamtgewicht. Das bedeutet, dass Toluol umso langsamer ausgeschieden wird, je höher der Fettgewebsanteil am Körpergewicht ist.

Akute und chronische Toxizität

Reizungen der Schleimhäute sowie narkotische und neurotoxische Effekte bestimmen das akute Vergiftungsbild (■ Tab. 22.6).

Nach inhalativer Aufnahme können Leber- und Herzfunktionsstörungen sowie Knochenmarkschädigung und Veränderungen des Blutbildes auftreten. Aufgrund der Datenlage ist es jedoch nicht möglich, den Einfluss von Benzol zu quantifizieren, das als Verunreinigung in Toluol vorkommt. In besonderer Weise bekannt wurde Toluol als Agens für Schnüffler („sniffing histories"). Die festgestellten Symptome sind motorische Schwächen,

■ **Tab. 22.6** Wirkung verschiedener Toluolkonzentrationen auf den Menschen bei einmaliger 8-stündiger Exposition. Die Effekte sind reversibel. Sie können bei hohen Konzentrationen jedoch über Tage anhalten. Nach Fishbein 1985a

Toluolkonzentration in der Luft	Wirkung
9,4 mg/m^3	Geruchsschwelle (bei kurzfristiger Exposition)
118–375 mg/m^3	Schläfrigkeit, Erschöpfung, milde Kopfschmerzen
750 mg/m^3	Milde Rachen- und Augenreizung, verlängerte Reaktionsgeschwindigkeit, beeinträchtigte Wahrnehmung, Kopfschmerzen, Schwindelanfall
1 125 mg/m^3	Beeinträchtigung der Koordination (Finger-Versuch, Finger-Nase-Versuch)
1 500 mg/m^3	Rachen- und Augenreizung, Tränenfluss, Parästhesie, Verwirrtheit
1 875–2 250 mg/m^3	Anorexie, taumelnder Gang, Übelkeit, Nervosität (hält bis zu 24 h nach Expositionsstopp an), Verlust des Erinnerungsvermögens
3 000 mg/m^3	Mangel an Selbstkontrolle, extreme Nervosität, motorische Erschöpfung, Schlaflosigkeit (hält über mehrere Tage nach Expositionsstopp an)
15 000 mg/m^3	Narkose, kann zum Tod führen

Intentionstremor, Ataxie und seltener zerebrale Atrophie. Mit Ausnahme des morphologischen Schadens ist nach wenigen Monaten des Entzugs eine Heilung zumeist möglich. Zur Vermeidung chronischer gesundheitlicher Beeinträchtigung hat die WHO einen Leitwert von 0,26 mg Toluol/m^3 Luft für die Allgemeinbevölkerung als wöchentlichen Mittelwert ermittelt.

Spezielle Toxikologie

Reproduktionstoxizität

Es wurden Fälle beschrieben, in denen Kinder mit ZNS-Dysfunktion, Anomalien des Gesichtsschädels und der Gliedmaßen sowie Wachstumsverzögerungen geboren wurden. Die Mütter hatten während der Schwangerschaft sowie in den vorausgegangenen vier bis fünf Jahren während des Abbeizens von Farbanstrichen Toluol eingeatmet. Allerdings ist weder etwas über die Toluolkonzentration in der Luft noch über die Aufnahme weiterer Lösemittel bekannt. Bei Ratten, die täglich vom 1. bis 21. Tag der Trächtigkeit gegenüber 6 000 mg Toluol/m^3 Luft exponiert wurden, ergaben sich keine Anhaltspunkte für eine teratogene Wirkung des Toluols.

Bei 6 000 mg Toluol/m^3 täglich während der gesamten Dauer der Trächtigkeit sterben bei Ratten ca. 20 % der Embryonen ab. Bei Kaninchen, die während des 6. bis 20. Tages der Trächtigkeit gegenüber 1 000 mg/m^3 Luft exponiert sind, kommt es zu Spontanaborten.

Bei Ratten, die 8 Stunden täglich vom 1. bis zum 21. Tag der Trächtigkeit gegenüber 1 000 mg/m^3 Toluol in der Luft exponiert sind, ist das Fetalgewicht um 13 % reduziert. Toxische Effekte bei den Muttertieren treten bei dieser Konzentration nicht auf. Bei Mäusen, denen täglich vom 6. bis 15. Tag der Trächtigkeit Dosen zwischen 260 und 870 mg/kg KG verabreicht wurden, zeigte sich eine Zunahme der embryonalen Letalität über den gesamten Dosisbereich und eine Abnahme des Fetalgewichts bei Dosen von 430 und 870 mg/kg KG. Bei Kaninchen, die vom 6. bis zum 18. Tag nach der Insemination 6 h täglich einer Dosis von 113 bis 1 875 mg/m^3 Toluol in der Luft ausgesetzt sind, zeigen sich keine zusätzlichen fetalen Veränderungen der Weichteile und des Skeletts im Vergleich zu den Kontrolltieren. Daraus ist zu schließen, dass Toluol beim Kaninchen weder embryotoxische, fetotoxische noch teratogene Wirkungen bis zu einer Konzentration von 1 875 mg/m^3 Toluol in der Luft entfaltet. Dieser Wert wird daher als NOAEL(no observed adverse effect level)-Wert für erwachsene Kaninchen und Kaninchen im Fetalstadium angesehen.

Bei gleichzeitiger Zufuhr von Toluol und Aspirin ist das Ausmaß der durch Aspirin induzierten maternalen und embryotoxischen Effekte drastisch erhöht. Ursache scheint die durch beide Substanzen herbeigeführte Minderung des Glycinpools und eine darauf zurückzuführende Zunahme des Salicylsäuregehalts im Plasma zu sein.

Mutagenität und Kanzerogenität

Tests an verschiedenen *Salmonella-typhimurium*-Stämmen und an *Escherichia coli* ergeben keinen Hinweis auf genotoxische und mutagene Wirkungen des Toluols.

Die kanzerogene Wirkung von inhaliertem Toluol wurde in Ratten bis zu einer Konzentration von 1 125 mg/m^3 Luft untersucht. Eine Zunahme neoplastischer Veränderungen wurde weder in den männlichen noch in den weiblichen Versuchstieren beobachtet. Nach oraler Zufuhr von 500 mg Toluol/kg KG an vier bis fünf Tagen pro Woche über einen Zeitraum von 2 Jahren ergab sich bei den Ratten kein Anhalt für eine Zunahme der Tumoren. Widersprüchlich sind die Ergebnisse nach Auftragen von Toluol auf die Haut von Mäusen. In einer Kanzero-

genitätsstudie ergab sich kein Hinweis auf Kanzerogenität; in einer anderen Studie (72-wöchige Applikation) zeigten sich Karzinome und Papillome der Haut.

22.1.3 Ethylbenzol

Ebenso wie Benzol, Toluol und Xylol wird Ethylbenzol (BTEX) aufgrund seiner Antiklopf-Eigenschaften dem Ottokraftstoff zugesetzt. Weitere Verwendung findet Ethylbenzol als Ausgangsstoff in der Styrolsynthese und als Lösemittel (Benzolersatz). Obwohl man es neben den anderen Alkylbenzolen im Mineralöl findet, wird es daraus nicht isoliert, sondern durch Alkylierung von Benzol mit Ethylen synthetisiert. Im Jahr 2009 wurden in der Bundesrepublik etwa 0,81 Mio. t Ethylbenzol produziert. Der Hauptanteil der Immission stammt aus dem Kfz-Verkehr und dem Gebrauch als Lösemittel. Bei der Pyrolyse von Ethylbenzol entstehen Benzol, Toluol, Phenanthren, Styrol, Biphenyl und verschiedene andere polyzyklische aromatische Kohlenwasserstoffe. In der Gasphase wird Ethylbenzol in Ethylphenole, Benzaldehyd, Acetophenon sowie *m*- und *p*-Nitroethylbenzol umgewandelt, wenn es mit Hydroxylradikalen reagiert, die bei der photolytischen Umsetzung von Stickstoffoxiden entstehen.

Haupteintragspfad für den Menschen ist die Luft, die in Ballungsgebieten bis zu 40 mg/m^3 und im Innenraum bis zu 100 mg/m^3 enthalten kann. Eine besondere Kontaminationsquelle ist der Tabakrauch. Als natürliche Komponente kann Ethylbenzol in Honig, Jasmin, Papaya, Olivenöl und Käse vorkommen.

Aufnahme, Verteilung, Metabolismus, Ausscheidung

Die pulmonale und enterale Resorptionsquote beim Menschen ist ungeklärt. Sie hat aber vermutlich den gleichen Wert wie die anderer Alkylbenzole. Bei der Ratte werden pulmonal ca. 60 % resorbiert. Über die Haut wird flüssiges Ethylbenzol mit der Geschwindigkeit von 22–33 mg/cm^2/h aufgenommen. Die Verteilung der resorbierten Substanz ist nicht bekannt. Ihre Elimination erfolgt zum großen Teil über die Nieren in Form von Metaboliten. Die metabolische Umwandlung betrifft hauptsächlich die Seitenkette (● Abb. 22.6). Nur etwa 4 % des aufgenommenen Ehylbenzols wird am Ring oxidiert. Dementsprechend hat die Ringoxidation eine geringere Bedeutung. Die Ausscheidung der Ethylbenzol-Metaboliten erfolgt langsamer als die der Umwandlungsprodukte von *m*-Xylol. Die gleichzeitige Aufnahme von Ethylbenzol und *m*-Xylol führt zur gegenseitigen Stoffwechselhemmung. Dadurch kommt es zu einer deutlichen Verzögerung bei der Ausscheidung ihrer Metaboliten.

Akute und chronische Toxizität

Die kurzfristige Exposition gegenüber 4 400 mg/m^3 Luft führt zur Reizung der Augen, wobei sich eine Toleranz relativ rasch entwickelt. Bei 8 800 mg/m^3 ist mit Tränenfluss, Reizung der Nasenschleimhaut und Schwindel und bei 22 000 mg/m^3 mit nicht tolerabler Augen- und Nasenreizung zu rechnen. Systemische Vergiftungsbilder sind nicht bekannt.

44 000 mg/m^3 Luft sind nach wenigen Minuten und 22 000 mg/m^3 nach 30–60 min tödlich für Meerschweinchen. Anzeichen einer Vergiftung sind pulmonales Ödem und generalisierte viszerale Hyperämie als Reaktion auf Entzündungsreize. Die chronische Aufnahme von 1 760–2 640 mg/m^3 Atemluft führte zu einer geringfügigen Gewichtszunahme von Leber, Nieren und Testes in der Ratte. Hinweise auf hämatotoxische Effekte existieren nicht.

Studien zur Reproduktionstoxizität, Mutagenität und Kanzerogenität liegen nicht vor. Ames-Tests mit den Metaboliten Mandelsäure, Phenylglyoxyl- und Hippursäure waren negativ.

22.1.4 Xylol

Xylol ist auch unter der Bezeichnung Dimethylbenzol bekannt. In Handelsprodukten sind alle drei existierenden Isomere (● Abb. 22.7) enthalten, wobei der Anteil an *meta*-Xylol 60–70 % betragen kann. Außerdem kann es kleinere Anteile an Toluol, Benzol, Trimethylbenzol (Pseudocumen), Phenol, Thiophen, Pyridin und aliphatischen Kohlenwasserstoffen enthalten. Das technische Produkt, das hauptsächlich aus Mineralöl und Kohle gewonnen wird, enthält 10–20 % *ortho*-, 44–70 % *meta*- und 20 % *para*-Xylol sowie ca. 10 % Ethylbenzol. In der Bundesrepublik wurden im Jahr 2015 etwa 0,5 Mio. Tonnen Xylole produziert. Das Isomeren-Gemisch wird hauptsächlich als Teil der BTX (Benzol-Toluol-Xylol)-Komponenten im Benzin verwendet. Außerdem finden die Xylole Anwendung als Lösemittel in Farben und im Druckereigewerbe. Wesentliche Emissionsquellen sind Raffinerien und Kraftfahrzeuge. Im Innenraumbereich sind es zumeist frische Farbanstriche sowie Klebstoffe. In Gegenwart von NO_x und UV-Licht werden 80–90 % der von Kraftfahrzeugen emittierten Xylole sowie 30 % des Benzols und 68 % des Toluols innerhalb von 6 Stunden chemisch umgewandelt. Die Luft in Ballungsgebieten (Kfz-Verkehr) kann 15 mg/m^3 *ortho*- und 14–55 mg/m^3 *meta*- und *para*-Xylol (Jahresmittelwerte) enthalten. Im Innenraumbereich kann die Luft aufgrund von baulichen Maßnahmen (Hydrophobisierung der Außenwände) bis zu 300 mg/m^3 *meta*- und *para*-Xylol sowie bis zu 40 mg/m^3 *ortho*-Xylol enthalten. Die Geruchsschwelle liegt bei etwa 4 mg/m^3 Xylol.

29 Fasern und Nanomaterialien

Barbara Rothen-Rutishauser und Alke Fink

Die Erkenntnis, dass Feinstäube aus Verbrennungsprozessen über eine Exposition des Menschen zu Erkrankungen führen können, hat zur erhöhten Sensibilität gegenüber jeglicher Belastung der Lunge durch partikuläre luftgetragene Verschmutzungen bzw. Schadstoffe geführt. Eingeatmete Partikel und Fasern spielen daher bei der allgemeinen Diskussion um gesundheitliche Schäden eine große Rolle. Dabei steht zwar nach wie vor die Belastung am Arbeitsplatz im Vordergrund, aber die möglichen Folgen für Personen, die Produkte, welche Partikel oder Fasern enthalten, anwenden oder brauchen, sind von ähnlich großer Bedeutung. Seit der gezielten Synthese von Nanomaterialien in großem Maßstab wird vermehrt über deren besondere Rolle spekuliert, die in diesem Kapitel betrachtet werden sollen. Obwohl verschiedene Produkte mit Nanomaterialien bereits seit vielen Jahrzehnten auf dem Markt sind (■ Tab. 29.1), ist mit der Nanotechnologie als neuer Schlüsseltechnologie des 21. Jahrhunderts eine neue Anforderung in die toxikologische Beurteilung von Partikeln und Fasern gekommen.

Die WHO hat 1999 eine Definition luftgetragener Stäube publiziert. Dabei wird zwischen Partikeln und Fasern unterschieden und auf die besondere Bedeutung der Sedimentation hingewiesen. So werden Staubpartikel mit einer Größe > 100 µm allgemein als nicht-luftgetragen eingestuft, da diese in der Regel sehr schnell sedimentieren. Partikel kleiner als 1 µm nehmen ebenfalls eine Sonderstellung ein, da diese so gut wie gar nicht sedimentieren und daher relativ lange in der Luft verbleiben können. Als „möglicherweise luftgetragen" werden Stäube und Partikel definiert, die einen aerodynamischen Durchmesser von wenigen Nanometern bis 100 µm besitzen, aus unterschiedlichen Quellen stammen und sehr verschiedene physikalische Eigenschaften haben können.

Beispiele für verschiedene Arten von Stäuben:

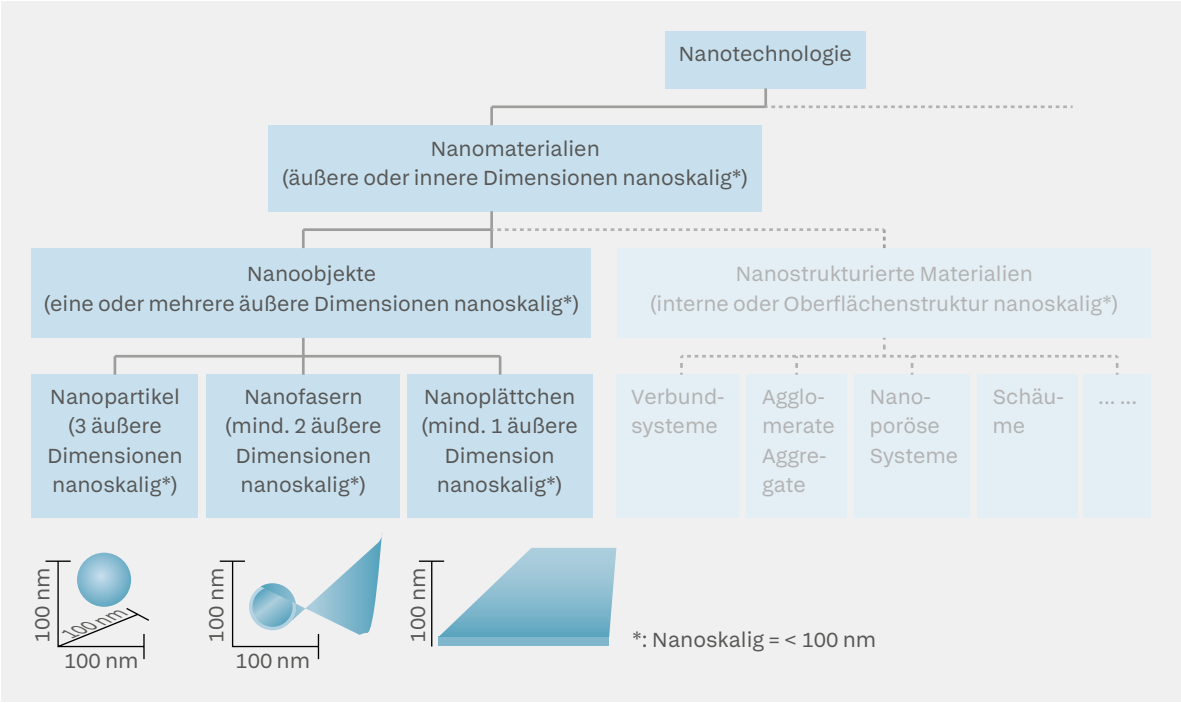
- **Mineralischer Staub:** kristallines Silikat (z. B. Quarz), Kohlestaub, Zementstaub.
- **Metallischer Staub:** Blei-, Kadmium-, Nickel- oder Beryllium-Stäube.
- **Andere chemische Stäube:** verschiedene große Chemikalienmoleküle oder Pestizide.
- **Organischer oder pflanzlicher Staub:** Mehl, Holzstaub, Baumwolle, Tee, Pollen.
- **Biologische Risikostäube:** Humuspartikel, Sporen, Pollen, Allergene, Bakterien, Viren.

Fasern sind dagegen von der WHO bereits 1997 gesondert definiert, um ihrer besonderen Rolle in der Wirkung auf die Atemwege gerecht zu werden. Faserstäube, wie zum Beispiel Asbestfasern, sind mit Bezug auf Auswirkungen auf die Gesundheit definiert als Partikel mit einem Durchmesser von < 3 µm, einer Länge von > 5 µm und einem Formverhältnis von mind. 3 : 1 (Länge : Breite)

Wiederum eine neue Materialklasse nehmen die Nanomaterialien ein, die aufgrund ihrer Kleinheit unter besonderer Beobachtung stehen. Nach ISO (2008) sind Nanomaterialien wie in ● Abb. 29.1 dargestellt definiert. Basierend auf der Empfehlung für die Definition von Na-

■ **Tab. 29.1** Verschiedene Produkte mit Nanomaterialien

Nanomaterial	Zeitraum der Einführung	Verwendungsbeispiele
Aerosil (SiO_2)	1940er-Jahre	Antiklumpmittel; Additiv zu einer Vielzahl von Anwendungen wie Farben, Lacke, Kosmetika, Kleber, Lebensmittel u. v. m.
Carbon Black (Industrieruß	1920er-Jahre	Schwarzer Farbstoff; Additiv zu einer Vielzahl von Anwendungen wie Autoreifen, Farben, Kosmetika, Leder und Textilien u. v. m.
Titandioxid (TiO_2)	1950er-Jahre	Weißer Farbstoff; Additiv zu einer Vielzahl von Anwendungen wie Sonnenschutzcreme, Lebensmittel, Solarzellen, Textilien, Farben, Photokatalyse u. v. m.
Nanosilber	≈ 1900 Mittelalter und früher	Algizid, Bakterizid Glasfarbe Grün, Textilien
Nanogold	Mittelalter und früher	Glasfarbe Rot Schnelldiagnostika, z. B. Schwangerschaftstest oder SARS-CoV-2-Schnelltest



● **Abb. 29.1** Definition von Nanomaterialien und Nanoobjekten nach ISO 2008. Aus Krug u. Wick 2011

nomaterialien aus dem Jahr 2011 (2011/696/EU), hat die Europäische Kommission im Jahr 2022 eine überarbeitete Empfehlung für die Definition von Nanomaterialien veröffentlicht (Rahmendefinition der Europäische Kommission (2022/C 229/01); ▶ Infobox).

Empfehlung der Europäischen Kommission zur Definition von Nanomaterialien vom 10. Juni 2022 (2022/C 229/01)

1. „Nanomaterial" ist ein natürliches, bei Prozessen anfallendes oder hergestelltes Material, das aus festen Partikeln besteht, die entweder eigenständig oder als erkennbare konstituierende Partikel in Aggregaten oder Agglomeraten auftreten, und bei dem mindestens 50 % dieser Partikel in der Anzahlgrößenverteilung mindestens eine der folgenden Bedingungen erfüllen:
   a) ein oder mehrere Außenmaße der Partikel liegen im Größenbereich von 1 nm bis 100 nm;
   b) die Partikel haben eine längliche Form wie z. B. Stab, Faser oder Röhre, wobei zwei Außenmaße kleiner als 1 nm sind und das andere Außenmaß größer als 100 nm ist;
   c) die Partikel haben eine plättchenartige Form, wobei ein Außenmaß kleiner als 1 nm ist und die anderen Außenmaße größer als 100 nm sind.
   d) Bei der Bestimmung der Anzahlgrößenverteilung der Partikel müssen Partikel mit mindestens zwei orthogonalen Außenmaßen von mehr als 100 µm nicht berücksichtigt zu werden.
   e) Ein Material mit einer auf das Volumen bezogenen spezifischen Oberfläche von weniger als 6 m^2/cm^3 gilt jedoch nicht als Nanomaterial.
2. Für die Anwendung von Nummer 1 gelten folgende Begriffsbestimmungen:
   a) „Partikel" ist ein sehr kleines Materialteilchen mit definierten physikalischen Grenzen; Einzelmoleküle werden nicht als „Partikel" betrachtet;
   b) „Aggregat" ist ein Partikel aus fest gebundenen oder verschmolzenen Partikeln;
   c) „Agglomerat" ist eine Ansammlung schwach gebundener Partikel oder Aggregate, in der die resultierende Oberfläche ähnlich der Summe der Oberflächen der einzelnen Komponenten ist.
3. Es wird empfohlen, dass von folgenden Akteuren die in der neuesten Empfehlung oder einem anderen von der Kommission oder dem Unionsgesetzgeber angenommenen Rechtsakt mit einer Definition von Nano-

materialien für horizontale politische und gesetzgeberischen Zwecke festgelegte Definition des Begriffs „Nanomaterial“ verwendet wird, wenn es um Materialien oder Fragen im Zusammenhang mit nanotechnischen Produkten geht:

a) von der Kommission bei der Ausarbeitung und Durchführung von Rechtsvorschriften, Politik- und Forschungsprogrammen, auch gemeinsam mit anderen Organen und Agenturen der Union;
b) von den Mitgliedstaaten bei der Ausarbeitung und Durchführung von Rechtsvorschriften, Politik- und Forschungsprogrammen;
c) von Wirtschaftsteilnehmern bei der Ausarbeitung und Umsetzung eigener Maßnahmen und Forschungsarbeiten.

4. Diese Empfehlung aktualisiert die Empfehlung 2011/696/EU.

Quelle: https://eur-lex.europa.eu/legal-content/DE/TXT/HTML/?uri=CELEX:32022H0614(01)

29.1 Mineralische Fasern

Eine Exposition gegenüber mineralischen Fasern kann spezifische Erkrankungen verursachen, sofern die Fasern bestimmte Eigenschaften wie eine lang gestreckte Form besitzen und im Körper nicht, oder nur sehr langsam, abgebaut werden.

Es gibt eine Vielzahl faseriger Stäube und anorganischer Fasern, die inhalierbare Faserstäube bilden können (■ Tab. 29.2). Darüber hinaus gibt es Fasertypen, die in Form faseriger Bruchstücke bei der Bearbeitung von Materialien entstehen können oder als Mineralien faserförmig vorkommen. Mineralische Fasern können nach ihrer Entstehung (natürlich oder künstlich) und ihrer physikalischen Struktur (kristallin oder amorph) unterschieden werden. Künstliche anorganische Fasern liegen in der Regel als glasiges Material vor und werden daher in der englischsprachigen Fachliteratur als „man-made vitreous fibers“ (MMVF) bezeichnet. Dieser Ausdruck ist präziser als der im Deutschen verwendete Begriff „künstliche Mineralfaser“ (KMF).

29.1.1 Asbest: Vorkommen und Exposition

Asbest ist die Sammelbezeichnung für eine Gruppe kommerziell verwertbarer, natürlicher silikatischer Minerale mit charakteristischer feinfaseriger Struktur. Der am häufigsten verwendete Typ ist der zu den Serpentinen gehörende Weißasbest (Chrysotil). Die chemische Formel kann näherungsweise mit $(Mg)_6(OH)_8Si_4O_{10}$ angegeben werden. Der Weißasbest nahm mit etwa 90 % des Asbestverbrauchs eine Spitzenstellung ein und wurde z. B. als Komponente in Asbestzement verwendet. Chrysotil ist im Körper weniger persistent als die zur Gruppe der Amphibolasbeste gehörenden Typen: Blauasbest (Krokydolith), Amosit, Anthophyllit, Aktinolith und Tremolit. Diese Gruppe der Asbeste ist sehr persistent und Fasern können noch Jahrzehnte nach der Exposition im Körper nachgewiesen werden. Tremolit tritt häufig als Nebenkomponente in Chrysotil-Lagerstätten auf. Für die bekannt gewordenen Gesundheitsschäden haben Chrysotil und Krokydolith die größte Bedeutung. Die chemische Formel von Krokydolith lautet näherungsweise $Na_2(Fe^{3+})_2(Fe^{2+})_3(OH)_2Si_8O_{22}$.

Typisch für Asbeste ist deren leichte Zerfaserbarkeit und Spaltbarkeit in der Längsachse zu feinsten Fasern, die eingeatmet werden können. Das Verstaubungsverhalten bei der Verarbeitung ist wesentlich ausgeprägter als bei den künstlichen Mineralfasern.

Einatembarer Asbestfaserstaub entsteht bei mechanischer und chemischer Beanspruchung asbesthaltiger Materialien. Hierzu gehören die Bearbeitung, der Ver-

■ **Tab. 29.2** Übersicht über die bekanntesten anorganischen Fasern mit inhalierbaren Anteilen

Natürliche Fasern	Künstliche Fasern

– **Asbeste**
  – Chrysotil
  – Krokydolith
  – Amosit
  – Anthophyllit
  – Aktinolith
  – Tremolit
– Erionit (Al-Silikat)
– **Tonminerale**
  – Attapulgit (Mg-Al-Silikat)
  – Sepiolith (Mg-Silikat)
– Wollastonit (Ca-Silikat)
	– **„Klassische“ künstliche Mineralfasern aus:**
	  – Glas
	  – Stein
	  – Schlacke
	  – Al-Silikat („Keramikfasern“)
	– **Andere anorganische Fasern aus:**
	  – Al-Oxid
	  – Quarz
	  – Gips
	  – Siliciumcarbid
	  – Siliciumnitrid
	  – Eisenoxidhydrat

schleiß und die Abwitterung. Als kritische Faserabmessungen werden eine Länge > 5 µm, ein Durchmesser < 3 µm und ein Verhältnis von Länge zu Durchmesser > 3 : 1 bezeichnet. Viele dieser kritischen Fasern sind so dünn, dass sie im Lichtmikroskop nicht sichtbar sind. Expositionsmessungen sind relativ aufwändig, da die Faseraerosole mit spezifischen Sammeleinrichtungen aus der Luft gefiltert werden müssen und mithilfe eines Elektronenmikroskops identifiziert, gezählt und die Größenverteilung bestimmt werden muss.

Die vor einigen Jahrzehnten an hoch belasteten Arbeitsplätzen aufgetretenen Asbestkonzentrationen lagen bei 10^7 kritischen Fasern pro m^3 und teilweise noch höher. Die Kenntnis über die Gefährdung des Menschen durch Asbestfasern beruht im Wesentlichen auf diesen hohen Expositionen. Messungen der Immissionskonzentrationen von Asbestfasern ergaben in städtischen Ballungszentren etwa 100 kritische Fasern pro m^3. Dieser Wert liegt an der Nachweisgrenze des elektronenmikroskopischen Abbildungsverfahrens.

In vielen Ländern wurde Asbest im Baubereich verwendet (ca. 70–90 % in westeuropäischen Ländern). Wegen seiner spezifischen technischen Eigenschaften wurde dieses Material in einem sehr breiten Bereich von Anwendungen eingesetzt. Mit der Erkenntnis über die kanzerogene Wirkung von Asbest wurde in den achtziger Jahren des letzten Jahrhunderts in Deutschland der Asbesteinsatz zunächst auf der Basis einer Selbstbeschränkung der Industrie verringert und zu Beginn der neunziger Jahre verboten. In einer Vielzahl von Gebäuden sind aber immer noch Asbestprodukte vorhanden.

Am weitaus häufigsten liegen Produkte aus Asbestzement vor, die vor allem als Dachabdeckung verwendet wurden. Das Verstaubungsverhalten von Asbest aus Asbestzement durch Verwitterung der Zementmatrix ist gering. Aus diesem Grunde wurde in der Bundesrepublik Deutschland von einer generellen Entfernung von Asbestzement Abstand genommen.

Im Innenraumbereich können höhere Faserkonzentrationen auftreten als im Außenbereich, wenn Baumaterialien verwendet wurden, die Fasern leicht freisetzen. Saniert werden muss in der Regel, wenn Spritzasbest z. B. auf Stahlträgern eingesetzt wurde. Bei Erschütterungen können aus diesen Bauteilen Asbestfasern freigesetzt werden. Diese Sanierungen fanden vor allem in den 1990er-Jahren statt, z. B. bei Turnhallen in Schulbereich.

Bei Abriss- und Sanierungsarbeiten sind in den meisten Ländern gesetzlich vorgegebene Vorkehrungen erforderlich, um eine Exposition bei der Bearbeitung zu verhindern.

29.1.2 Künstliche Mineralfasern: Vorkommen und Exposition

Der Begriff „künstliche Mineralfasern“ stellt eine Sammelbezeichnung für eine Vielzahl verschiedenartigster Fasern dar. Den am meisten verbreiteten Einsatz haben silikatische Fasern wie Glas-, Stein-, Schlacken- und Keramikwollen. Für das Jahr 2001 wurde die Weltproduktion von künstlichen Mineralfasern auf über 9 Millionen Tonnen geschätzt. Der Hauptanwendungsbereich liegt in der thermischen und akustischen Isolierung.

Auffällig ist das breite Spektrum der Zusammensetzungen von Fasern (■ Tab. 29.3), die z. B. unter dem Namen „Glaswolle“ firmieren. Daher können künstliche Mineralfasern im Hinblick auf ihre biologische Wirkung nicht pauschal beurteilt werden, sondern es ist eine Differenzierung mit genauer Angabe der chemischen Zusammensetzung notwendig. Damit der Verbraucher eine einfache Möglichkeit hat, die Eigenschaften der Mineralwollen als möglichen Gefahrstoff zu beurteilen, hat die Mineralfaserindustrie seit 1999 ein „Gütezeichen Mineralwolle“ entwickelt und kennzeichnet ihre Produkte damit. Danach spielt eine geringe Biobeständigkeit dieser Fasern eine wesentliche Rolle.

Die Konzentrationen von künstlichen Mineralfasern am Arbeitsplatz sind um mehrere Größenordnungen niedriger als bei Asbest. Bei der Herstellung und beim Umgang mit Glas-, Stein- oder Schlackenwollen (Baubereich) liegen die Konzentrationen im Bereich von 10^5 bis 10^6 kritischen Fasern pro m^3. In Einzelfällen wurden jedoch auch mehr als 10^7 Fasern pro m^3 gemessen, beispielsweise beim Abriss einer Ofenwandisolierung, die Keramikfasern enthielt. Durchschnittliche Werte für die Exposition bei einem 8-stündigen Arbeitstag liegen bei Glas- und Steinwollen bei weniger als $0{,}5 \times 10^6$ Fasern pro m^3.

In Innenräumen, deren Decken lose Glaswollen zur akustischen Dämmung enthalten, liegen die Faserkonzentrationen in der Regel unter der Nachweisgrenze von 100 Fasern pro m^3. Bei handwerklichen Arbeiten an diesen Decken, wie etwa das Verlegen von elektrischen Kabeln, können jedoch Faserkonzentrationen von etwa 1 000 pro m^3 auftreten.

Der Grund für das niedrigere Verstaubungsverhalten ist unter anderem dadurch bedingt, dass organische Harze oder Öle auf der Faseroberfläche eine Staubbildung verringern. Weiterhin spalten künstliche Mineralfasern nicht wie Asbest entlang ihrer Längsachse auf, sondern brechen quer zur Achse. Außerdem ist der Durchmesser der für thermische Isolierung verwendeten Mineralwollen wesentlich dicker, sodass nur ein geringer Anteil lungengängig ist.

Nichtsilikatische Fasern werden aus Kohlenstoff, Aluminiumoxid, Siliciumnitrid und Siliciumcarbid und anderen Werkstoffen hergestellt. Gemeinsames Merkmal all dieser Stoffe ist, dass sie faserförmig sind und in der Natur nicht vorkommen. Diese Fasern können im Körper sehr biopersistent sein. Bei Siliciumcarbid liegt eine epidemiologische Studie vor, die einen statistisch signifikanten Anstieg von Lungentumoren zeigt.

■ **Tab. 29.3** Typische chemische Zusammensetzung von Gruppen künstlicher Mineralfasern, ausgedrückt als Massenprozent an Oxiden. Nach IARC 2002

	Textile Glasfasern	Glaswolle für thermische Isolierung	Glasfasern für spezielle Zwecke	Steinwolle	Schlackenwolle	Keramikfasern	Glasige Wollen aus Erdalkali-Silicat	Wollen mit hohem Aluminium- und niedrigem Siliciumgehalt
SiO_2	52–75	55–70	54–69	43–50	38–52	47–54	50–82	33–43
Al_2O_3	0–30	0–7	3–15	6–15	5–15	35–51		18–24
CaO	0–25		0–21	10–25	20–43	< 1		
MgO	0–10		0–3	6–16	4–14	< 1		
MgO + CaO		5–18			24–57		18–43	23–33
BaO	0–1	0–3	0–5,5					
ZnO	2–5		0–4,5					
Na_2O			0–16	1–3,5	0–1	< 1		
K_2O			0–15	0,5–2	0,3–2	< 1		
Na_2O + K_2O	0–21	12–20,5			0,3–3			1–10
B_2O_3	0–24	0–12	4–11	< 1	< 1		< 1	
Fe_2O_3*	0–5	0–5	0–0,4		0–5	0–1	< 1	
TiO_2	0–12	< 1	0–8	0,5–3,5	0,3–1	0–2		0,5–3
ZrO_2	1–18		0–4			0–17		
Al_2O_3 + TiO_2 + ZnO_2							< 6	
P_2O_5				< 1	0–0,5			
F_2	0–5	0–1,5	0–2					
S					0–2			
SO_3		0–0,5						
Li_2O		0–0,5						
FeO				3–8				3–9

* Gesamter Eisengehalt berechnet als Fe_2O_3

29.1.3 Toxikokinetik von Fasern

Je nach Größe der Staubpartikel oder Fasern, die man einatmet, kann vorhergesagt werden, in welchem Kompartiment im Respirationstrakt diese abgelagert werden. Grober Freinstaub im Bereich von 10–30 µm wird vorwiegend in der Nase gefiltert, Partikel unter 10 µm gelangen in die oberen Luftwege, während Partikel unter 2,5 µm in die Bronchien, Bronchiolen und die Alveolen, also dort wo der Gasaustausch stattfinden kann, gelangen können. Der für das Depositionsverhalten im Respirationstrakt wichtige aerodynamische Durchmesser wird bei Fasern im Wesentlichen durch den Faserdurchmesser bestimmt. Dies ist dadurch begründet, dass sich Fasern im strömenden Medium vorzugsweise in Längsrichtung orientieren. Bei Turbulenzen drehen sich die Fasern jedoch um ihre Längsachse und können dann durch die sogenannte Interzeption – bedingt durch Rotation um die Längsachse – und andere Mechanismen im Respirationstrakt abgeschieden werden (vgl. ▶ Kap. 13.5.2).

Die Biopersistenz von Fasern, die im Respirationstrakt deponiert wurden, resultiert aus einer Kombination von physiologischen Clearance-Prozessen (mechanische Translokation durch den mukoziliären Transport in den oberen Luftwegen, Aufnahme von Zellen und Elimination) und physikalisch-chemischen Prozessen (Auflö-

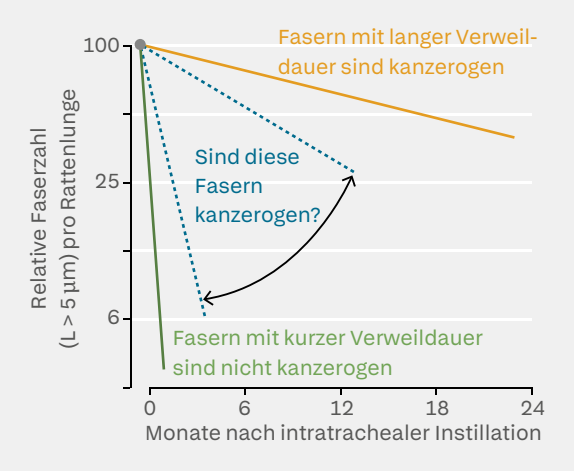
sung und mechanisches Brechen). Lange und kurze Fasern verhalten sich unterschiedlich bezüglich der Mechanismen, die für den Abtransport wichtig sind. Lange und dickere Fasern werden vor allem in den oberen Luftwegen deponiert und mit der mukoziliären Clearance aus dem Respirationstrakt transport. Kurze Fasern werden durch Makrophagen, sogenannte „Fresszellen", die im gesamten Respirationstrakt vorkommen, aufgenommen und können im sauren Milieu der Phagolysosomen aufgelöst werden. Im Gegensatz dazu werden lange Fasern nur unvollständig von den Makrophagen phagozytiert (frustrierte Phagozytose) und können nicht aus dem Respirationstrakt entfernt werden.

Lange Fasern sind im Hinblick auf eine mögliche Kanzerogenität von besonderer Bedeutung, daher wird in Untersuchungen der Biopersistenz auf lange Fasern ein besonderer Wert gelegt. Allerdings ist der Begriff „lange Faser" nicht eindeutig definiert. In einem Testprotokoll, das im Rahmen der Kennzeichnung von Chemikalien innerhalb der Europäischen Union anzuwenden ist, wird die Biopersistenz von Fasern mit einer Länge > 20 µm geprüft (Deutschland > 5 µm).

Eine Reihe von Studien legt eine Korrelation zwischen der Biopersistenz langer Fasern (> 20 µm) und der Pathogenität bezüglich Lungenfibrose und thorakaler Tumoren nahe.

Es wurde die Hypothese aufgestellt, dass sich bestimmte Mineralfasern möglicherweise viel schneller als Asbest auflösen können. Dieses Konzept ist plausibel, da bekanntlich die Dosis für eine toxische Wirkung verantwortlich ist. Die kumulative Dosis ist bei löslichen Fasern viel niedriger als bei sehr persistenten Amphibolasbesten: Lösliche Fasern haben in der Lunge z. B. eine Halbwertszeit von 20 Tagen, persistente Amphibolasbeste dagegen von 500 Tagen (● Abb. 29.2). Relativ beständige Mineralfasern haben in entsprechender Zahl und Größe regelmäßig im Tierexperiment nach intratrachealer Applikation zu Tumoren geführt, wenig beständige Fasern dagegen nicht. In Testprotokollen für die Kennzeichnung von Stoffen verwendet die Europäische Union zurzeit für Fasern > 20 µm eine Halbwertszeit von 40 Tagen. Für Arbeitsschutzmaßnahmen beziehen deutsche Behörden die Halbwertszeit auf Fasern > 5 µm, was ein strengeres Kriterium darstellt. Als Testmethode wird bei beiden Untersuchungsprotokollen die intratracheale Instillation in Tierversuchen verwendet.

Amphibolfasern (z. B. Krokydolith) sind im Lungengewebe wesentlicher beständiger als Chrysotilfasern. Die hohe Biopersistenz von Krokydolith ist durch seine geringe Löslichkeit bedingt. Der übliche Clearancemechanismus bei unlöslichen Partikeln, nämlich der mucoziliäre Transport aus den oberen Luftwegen und die Phagozytose durch alveoläre Makrophagen, nimmt mit einer Faserlänge > 10 µm stark ab. Die mucoziliäre Clearance



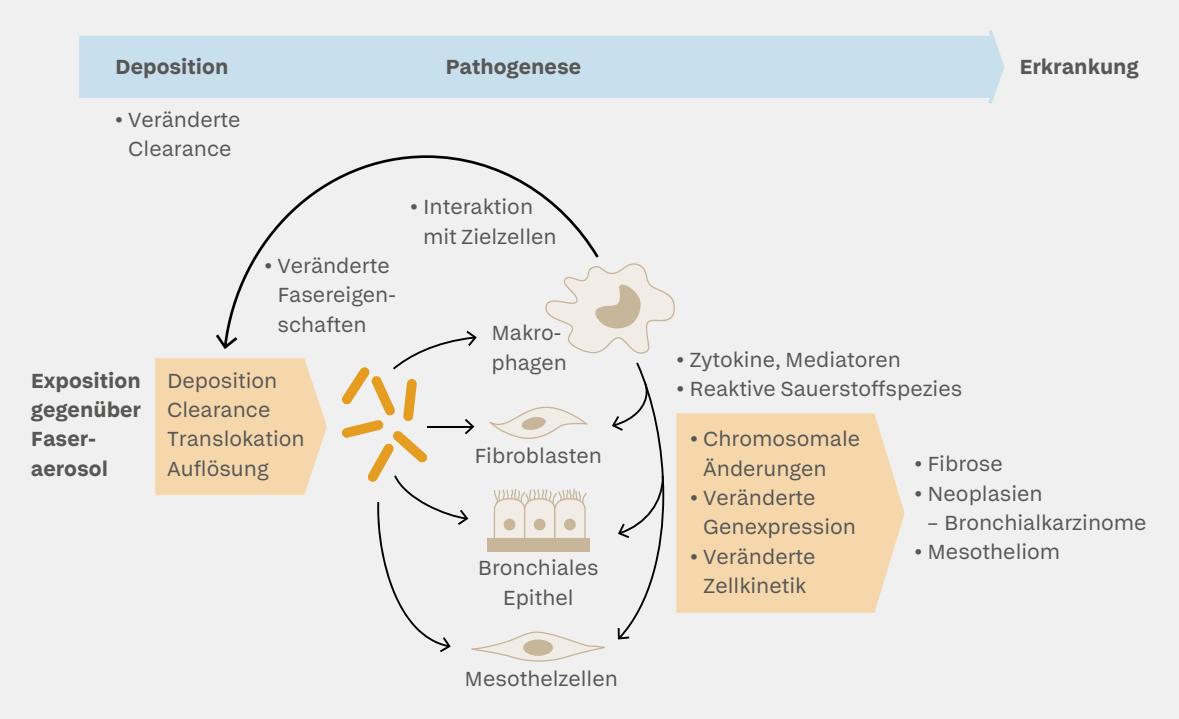
● **Abb. 29.2** Veranschaulichung des Verhältnisses von der Verweildauer der Fasern in der Lunge zu ihrer Kanzerogenität. Die Verweildauer ist abhängig von der Biobeständigkeit des Materials, Länge, Durchmesser, Zellkontakt und der retinierten Faserzahl.

wird auch durch Zigarettenrauchen vermindert. Dies könnte der Grund dafür sein, dass ein kombinierter Effekt einer Exposition mit Asbestfasern und Zigarettenrauch beschrieben wurde.

Aus dieser Betrachtung wird deutlich, warum Fasern mit einer geringen Löslichkeit in der Lunge akkumulieren: die Deposition im Respirationstrakt ist primär vom Durchmesser, der Abtransport jedoch von der Länge der Fasern abhängig. Diese gegensätzliche Abhängigkeit bezüglich Aufnahme und Abtransport, bedingt durch die Fasergeometrie, macht die Lunge zu einer „Faserfalle".

Durch Verwendung von neutronenaktivierten Krokydolithfasern konnte eine gezielte Wanderung zur Peripherie der Lunge festgestellt werden. Diese Wanderung von Fasern zur Pleura ist für die Mesotheliomentstehung von besonderer Bedeutung. Eine subpleurale Akkumulation von Partikeln wurde auch nach Exposition gegenüber isometrischen Partikeln beschrieben. Weiterhin werden Fasern durch lymphatische Clearance aus der Lunge transportiert. Da Mesotheliome nach inhalativer Faserexposition auch im Peritoneum beschrieben wurden, geht man von einer Penetration durch die Lymphkoten aus.

An den Lungen verstorbener Asbestarbeiter sind viele Untersuchungen über die Zahl, Lokalisation und Größenverteilung von Asbestfasern durchgeführt worden. In den letzten Jahren gab es außerdem viele Studien, die einen Zusammenhang zwischen der Biegesteifigkeit (Rigidität) und den toxischen Effekten von Faserstäuben zeigten. So können z. B. biegsame, flexible Fasern besser von Makrophagen phagoziert werden als steife Fasern. Bei Chrysotilasbest wurde eine erhebliche Abnahme festgestellt, wenn seit der letzten Exposition mehrere Jahre vergangen waren. Bei Amphibolasbesten wurde je-



● **Abb. 29.3** Schematische Darstellung der Mechanismen für faserinduzierte Erkrankungen. Nach McClellan u. Hesterberg 1994

doch noch viele Jahre nach Expositionsende eine hohe Faserretention beobachtet.

Gesundheitliche Wirkungen beim Menschen aufgrund einer Asbestexposition wurden bei Inhalation beobachtet. Aufgrund von epidemiologischen Untersuchungen wird davon ausgegangen, dass der orale Aufnahmepfad im Vergleich zur Inhalation keine wesentliche Rolle spielt.

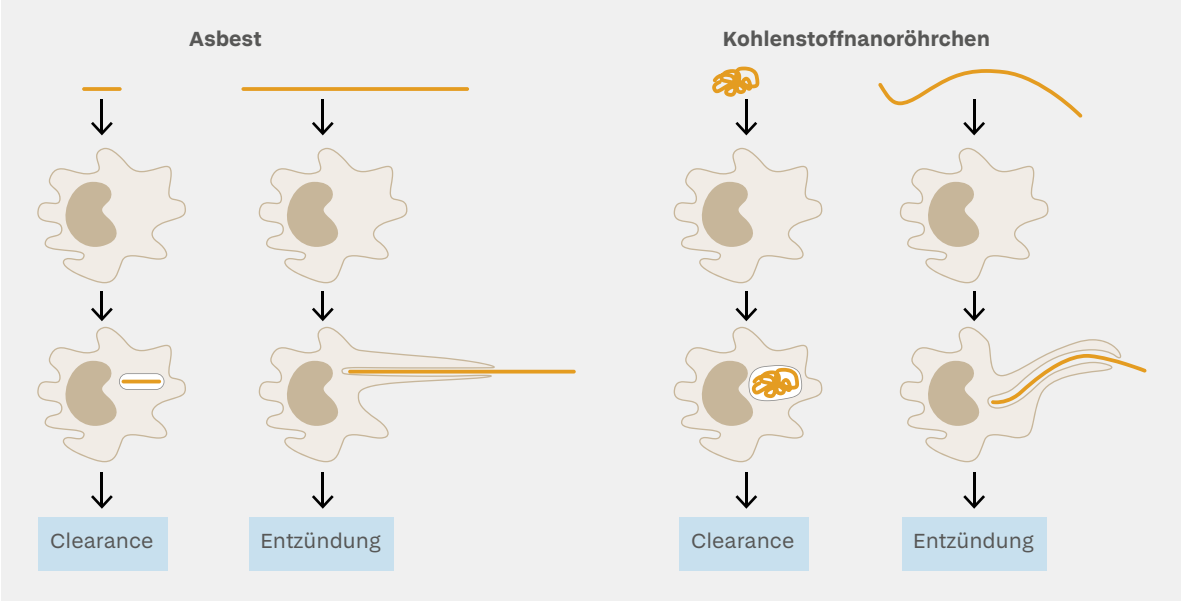
Es liegen nur wenige Studien zur Retention von künstlichen Mineralfasern in der Lunge von Menschen vor. Diese Studien deuten darauf hin, dass bei Arbeitern, die in der Produktion von Glas- und Steinwollen beschäftigt waren, nach einer etwa zehnjährigen Pause seit der letzten Exposition die Faserretentionswerte im Vergleich zu einem Kontrollkollektiv gleich sind.

29.1.4 Mechanismen der Fasertoxizität – das Faserparadigma

Eingeatmete Fasern können fibrogene und kanzerogene Wirkungen entfalten. Die ● Abb. 29.3 zeigt eine schematische Übersicht über die Mechanismen der faserinduzierten Lungenerkrankungen. Dazu gehören die Lungenfibrose, das Bronchialkarzinom (beachte: im Versuchstier Ratte findet man faser-induzierte Lungentumore eher peripher als in den bronchialen Atemwegen) und das pleurale Mesotheliom: Schlüsselfaktoren für die pathogene Potenz der Fasern sind die Dosis, die Dimensionen und die Dauerhaftigkeit der Fasern (Biopersistenz).

Die Dosis ist die Menge der inhalierten Fasern, die auch die Zielzellen erreichen. Sie wird durch die Depositionseffizienz in den verschiedenen Regionen im Respirationstrakt bestimmt (▶ Kap. 29.1.3), wobei der Durchmesser der luftgetragenen Faser das Hauptkriterium für das aerodynamische Verhalten darstellt. Die Pathogenität ist wesentlich von der Dimension (Länge) der Faser abhängig (siehe Definitionen am Beginn dieses Kapitels). Dieser Faktor bestimmt die Möglichkeit, dass die Fasern von Makrophagen – den hauptsächlichen Zielzellen der Eliminierung von deponiertem Material aus der Lunge – vollkommen aufgenommen werden können, da zu lange Fasern die Größe der Zelle überragen. Bei zu langen Fasern ist die Clearance beeinträchtigt und dies führt zur sogenannten „frustrierten Phagozytose“, die zur Aktivierung der Makrophagen und zur Ausschüttung von chemotaktischen und fibrogenen Mediatoren sowie Sauerstoff- und Stickstoffradikalen (ROS; RNS) führt, was letztlich eine Entzündung hervorruft (● Abb. 29.4).

Die Dauerhaftigkeit bezieht sich auf die Biopersistenz der Fasern im Atemtrakt. Der Zusammenhang zwischen einer hohen Biopersistenz und der Induktion von Tumoren konnte klar nachgewiesen werden. Zielzellen sind hierbei insbesondere Makrophagen, Fibroblasten, bronchiale und alveoläre Epithelzellen und das Mesothel, das in Form der Serosazellen die viszerale und die parietale Seite des Pleuralspaltes auskleidet. Die viszerale Pleura – das Lungenfell, das die Lunge bedeckt – und die parietale Pleura – das Brustfell, das den Brustraum auskleidet



● **Abb. 29.4** Schematische Darstellung der „frustrierten Phagozytose". Nach Donaldson et al. 2010

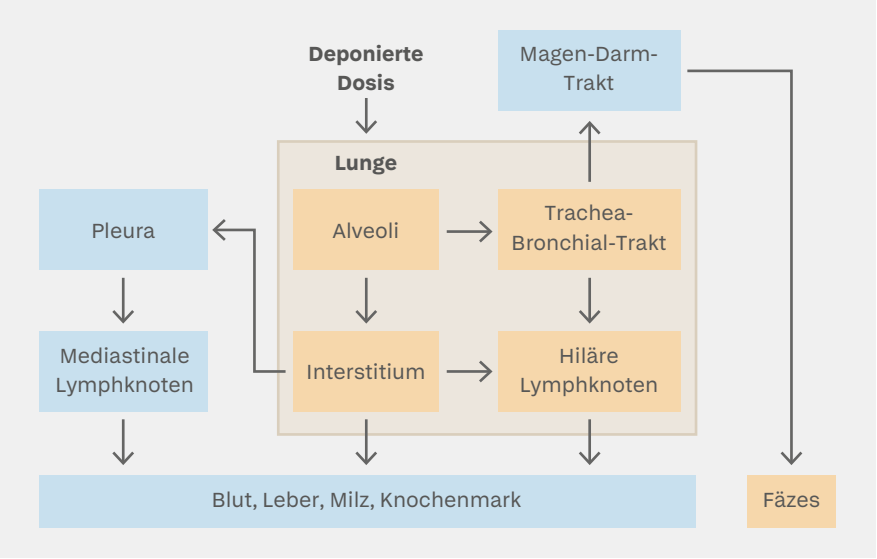
– sind sehr unterschiedlich in die mesotheliale Antwort auf Fasern eingebunden. Der Mechanismus der Induktion eines Mesothelioms ist dabei abhängig von der einzigartigen Lymphdrainage des pleuralen Spaltes zwischen Lungen- und Brustfell. Eine sehr kleine Fraktion der Fasern erreicht dabei nach ihrer Deposition in der Lunge diesen Pleuralspalt über das Interstitium. Der Mechanismus dieser Translokation ist nach wie vor nicht bekannt, jedoch ist die rhythmische Atembewegung bei diesem Vorgang sicher beteiligt, ebenso wie die subpleuralen Lymphgefäße und die Mikrogefäße des Blutgefäßsystems. Die Lymphe könnte diese Bewegung über Lymphkanäle passiv unterstützen, da der Lymphfluss im Falle einer Entzündung auch erhöht ist. Zusätzlich werden sehr feine Fasern ähnlich wie sehr kleine Partikel im peripheren Lungengewebe relativ benachbart zur Pleura deponiert, was eine Translokation in jedem Fall erleichtert. Ebenfalls spielt die Länge der Fasern eine Rolle, da die kürzeren Fasern leichter den Pleuralspalt erreichen als zu lange Fasern.

Sobald der Pleuralspalt erreicht wurde, werden kürzere Fasern schnell durch offene Lymphkanäle (Stomata) in Richtung der parietalen Pleura abtransportiert. Diese Öffnungen, die ca. 8–10 µm groß sind, wurden von N. S. Wang 1975 erstmals beschrieben. Ebenfalls recht früh wurde die Akkumulation von langen Asbestfasern an diesen Stomata beschrieben, die eine nachfolgende Entzündung mit Zellwachstum und Granulomabildung hervorriefen. In ● Abb. 29.5 wird schematisch die Translokation der Fasern aufgezeigt. Es wird deutlich, dass von der Pleura die Lymphe Richtung der mediastinalen Lymphknoten abfließt, während die in der Lunge deponierten Fasern lymphatisch über die hilären Lymphknoten abtransportiert werden. Auch neuere Studien belegen dies eindrücklich unter anderem auch für Kohlenstoffnanoröhrchen (CNT), wobei insbesondere die langen und nicht die kurzen mehrwandigen CNT, die länger sind als der Durchmesser der Stomata, nicht abtransportiert werden können. Nach intraperitonealer Injektion verblieben diese langen CNT im Pleuralspalt und induzierten dort eine Asbest-ähnliche Pathologie.

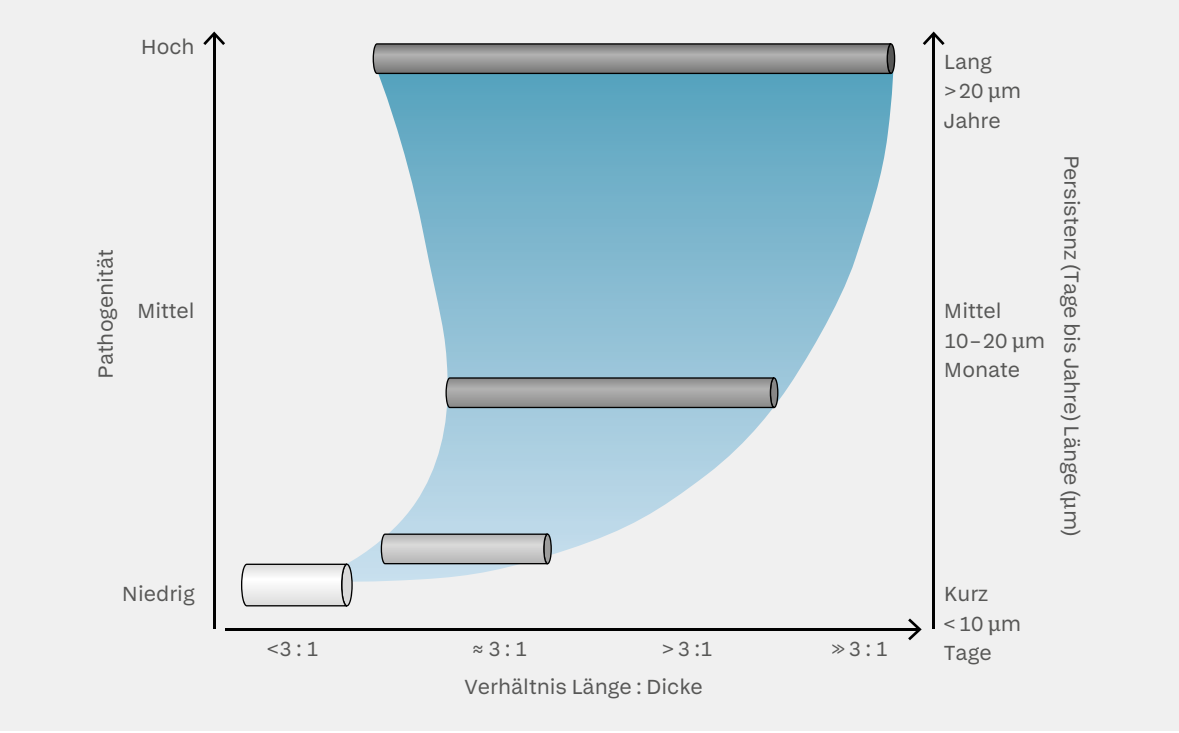
Auf der Basis dieser Ergebnisse hat ein Expertenkreis im Jahre 2003 die Bedeutung der Faserlänge für das kanzerogene Potenzial hervorgehoben. Damals wurde ebenfalls festgehalten, dass sowohl Asbestfasern als auch andere synthetische Mineralfasern, die kürzer als 5 µm sind, eine eher kleineres Krebsrisiko beinhalten (● Abb. 29.6). Die weitergehenden Diskussionen zu diesem Themenkreis ergaben zusätzlich das wichtige Resultat, dass es längenabhängig bei den biopersistenten Fasern mit Bezug zur mesothelialen Tumorinduktion zwei Längenkategorien für unterschiedliche Mechanismen gibt:

- Fasern mit einer Länge > 15–20 µm haben ein größeres Potenzial für pulmonäre Karzinogenität, da sie weniger gut von Makrophagen aufgenommen werden können, und
- Fasern mit einer Länge um 10 µm und länger haben eine höhere mesotheliale Karzinogenität, da sie zuerst mit der Lymphe abtransportiert werden können, dann aber an den parietalen pleuralen Stomata hängenbleiben und dort zu Entzündungsprozessen führen.

Die Induktion von Tumoren durch persistente Fasern wird auf einige wichtige molekulare Mechanismen zu-



● **Abb. 29.5** Biokinetik von Fasern in der Lunge. Nach Kümpel 2000, Mühlfeld et al. 2008



● **Abb. 29.6** Schematische Darstellung der aktuellen Erkenntnisse zum Zusammenhang zwischen Pathogenität der Fasern und ihren physiko-chemischen Eigenschaften

rückgeführt, die auf vielen In-vitro- und In-vivo-Studien basieren:

- Bildung von freien Radikalen, die eine DNA-Schädigung hervorrufen,
- Interaktion der Fasern mit der Zellteilung,
- induziertes Zellwachstum der Zielzellen,
- Induktion einer chronischen Entzündung mit längerer Freisetzung von ROS, RNS, Zytokinen, Chemokinen und Wachstumsfaktoren,
- Transport von kanzerogenen Substanzen (z. B. aus Zigarettenrauch) auf der Oberfläche der Fasern zu bestimmten Zielzellen oder die direkte Wirkung als Ko-Kanzerogen,
- Aktivierung von zellulären Signalwegen, insbesondere der extrazellulär regulierten Rezeptorkinasen,

– Aktivierung von mitochondrialen und p53-abhängigen Apoptosewegen,
– Sekretion von Komponenten der extrazellulären Matrix als auch Matrixmetalloproteinasen durch Lungenepithelzellen und Fibroblasten.

An dieser Stelle sollen einige Überlegungen zur möglichen Testung der Toxizität dieser Materialien angestellt werden. So ist es nicht immer möglich auf der Basis von mechanistischen In-vitro-Studien auch eine valide Abschätzung einer Wirkung im Menschen abschätzen zu können. Dazu sind auch Tierversuche unter gut kontrollierten Bedingungen unumgänglich. Hier seien insbesondere die folgenden wichtigen Probleme und Vorbehalte aufgeführt: für In-vitro-Studien werden häufig sehr hohe Konzentrationen benötigt, um einen Effekt zu erzielen, die aber unter realen Bedingungen in der Umwelt nie erreicht werden; Clearance-Phänomene sind schwierig abzubilden; fehlende Interaktion zwischen verschiedenen Zelltypen, die im Gewebe vorhanden sind; zusätzlich werden häufig Zelllinien oder transformierte Zellen für In-vitro-Versuche eingesetzt. Zwar werden die In-vitro-Modelle auch weiterentwickelt und inzwischen bestehen gute Untersuchungssysteme mit unterschiedlichen Zelltypen in einer Kultur, um die Interaktion gewebeähnlich abbilden zu können, aber dennoch wird es auch in der Zukunft extrem schwierig bleiben, einfachere In-vitro-Experimente mit den zeitaufwendigen In-vivo-Studien zu vergleichen. Daher ist es notwendig, Pro und Kontra der In-vitro- und der In-vivo-Studien abzuwägen und auf der Basis aller vorhandenen Resultate eine angemessene Interpretation durchzuführen.

Detaillierte Informationen zum gegenwärtigen Kenntnisstand der Mechanismen einer Wirkung von Asbest- und Mineralfasern betreffend der Toxizität, Mutagenität, Karzinogenität im Respirationstrakt und auch in sekundären, nicht-pulmonalen Organen sind im Jahr 2011 bei einem Workshop erarbeitet worden. So wurde deutlich, dass es bei der Annahme, dass Fasern unter 5 µm Länge unkritisch seien, keinen Konsens gibt. Außerdem wurde festgestellt, dass das mechanistische Verständnis der Vorgänge, wie die Faserzusammensetzung, die Dimensionen, die Oberflächenreaktivität und die Biopersistenz an der Pathologie der asbest-ähnlichen Erkrankungen beteiligt sind, unzureichend ist. Daher wurde dringend empfohlen, In-vitro- und In-vivo-Studien zu diesem Themenkomplex anzustoßen.

29.1.5 Erkrankungen nach Asbeststaubexposition

Es existiert eine umfangreiche epidemiologische Literatur, die eine Verknüpfung einer Asbeststaubexposition und die Entstehung einer Asbestose, von Lungenkrebs und von Mesotheliomen dokumentiert.

Eine Asbestose ist eine sich langsam entwickelnde Fibrose der Lunge oder der Pleura, bedingt durch lang andauernde, hohe Exposition gegenüber Asbeststaub. Eine Asbestose wurde in der Allgemeinbevölkerung ohne berufliche Exposition mit Asbest nicht beobachtet.

Die Induktion eines Bronchialkarzinoms sowie eines Mesothelioms des Brust- oder Bauchfells ist ein gesicherter Befund. Die Latenzzeit des durch Asbest induzierten Bronchialkarzinoms beträgt mindestens 10 Jahre. Das Rauchen von Zigaretten und eine Asbestexposition zeigen nach Beobachtungen am Arbeitsplatz einen ausgeprägten synergistischen Effekt. Eine quantitative Verknüpfung zwischen einer Asbeststaubexposition und der Lungentumorentstehung sind schwierig, da aus früheren Jahrzehnten nur spärliche Informationen über die Faserzahlen vorliegen. Daneben spielt die Faserlänge eine erhebliche Bedeutung. Hohe Lungentumorraten traten bei der textilen Verarbeitung von Chrysotil auf. In Schiffen wurden früher häufig Amphibolasbeste zur Wärmeisolierung von Rohrleitungen verwendet. Auch in diesem Bereich sind viele Exponierte an Tumoren der Lunge und des Rippenfells erkrankt und verstorben.

Das Mesotheliom ist eine in der Allgemeinbevölkerung seltene Tumorform (< 0,04 % aller Toten in der Allgemeinbevölkerung der USA). Als Ursache kommt zuerst eine berufliche Faserexposition infrage. Die Latenzzeit beträgt mindestens 10 Jahre, häufig jedoch mehr als 30 Jahre. Einige epidemiologische Studien zeigen, dass eine Mesotheliomentstehung primär mit der Exposition durch Amphibolasbeste verknüpft ist. Bei einer Chrysotilexposition ist die unmittelbare Kausalität zwischen Chrysotil und einem Mesotheliom nicht eindeutig. Einer der Gründe ist, dass eine Reihe von Chrysotil-Lagerstätten mit Tremolit, einem Amphibolasbest, kontaminiert sind. Die Zahl der durch Asbest bedingten und von Berufsgenossenschaften anerkannten Krebstodesfälle in Deutschland lag im Jahr 1999 bei etwa 1 400. Die Anzahl der Mesotheliome betrug etwa 600 und die Anzahl der asbestbedingten Lungentumoren etwa 800.

29.1.6 Erkrankungen nach Exposition gegenüber künstlichen Mineralfasern

Einige Studien zeigen, dass nach Kontakt mit künstlichen Mineralfasern mechanische Irritationen der Haut, der Augen und des oberen Respirationstrakts auftraten. Aus diesem Grunde schreibt das Gefahrstoffrecht der Europäischen Union vor, künstliche Mineralfasern generell als „reizend“ zu kennzeichnen.

Es existieren große Kohortenstudien und verschiedene Fall-Kontrollstudien über Beschäftigte in der Mineralfaserindustrie in Europa und den USA. In Glasfaserher-

stellungsbetrieben wurden etwa 16000 Beschäftigte untersucht, die länger als ein Jahr tätig waren. Bei Beschäftigten der Steinwolle- und Schlackenwolleindustrie wurden über 10000 Personen über mehrere Jahrzehnte erfasst. Eine Gesamtbewertung dieser Ergebnisse zeigte kein erhöhtes Risiko für eine Induktion von Bronchialkarzinomen oder Mesotheliomen.

Eine epidemiologische Nachweismöglichkeit bei Bronchialkarzinomen ist generell schwierig. Dies liegt unter anderem an der hohen Mortalitätsrate von etwa 5 bis 7 % durch diese Tumorart bei der männlichen Bevölkerung. Die morphologische Ausprägung eines Bronchialkarzinoms lässt in der Regel keinen Rückschluss auf das induzierende Agens zu. Eine signifikante Erhöhung eines Risikos um 1 %, an einem Lungenkrebs zu sterben, verursacht durch berufsbedingte Faserexposition, lässt sich statistisch nur bei sehr großen Kollektiven nachweisen. Ein Risiko dieser Größe wird arbeitsmedizinisch jedoch nicht als akzeptabel angesehen. Wegen der langen Latenzzeit und wegen der schwierigen statistischen Absicherung muss deshalb für eine toxikologische Bewertung auf tierexperimentelle Studien zurückgegriffen werden.

29.1.7 Tierexperimentelle Ergebnisse nach einer Faserexposition

Der Kanzerogenitätsnachweis in Inhalationsversuchen in Tieren hat sich aus verschiedenen Gründen als problematisch herausgestellt. Es gibt bei Ratten mehrere falsch negative oder nur schwach positive Ergebnisse bei Krokydolith-Asbest, was wegen der starken kanzerogenen Wirkung beim Menschen nicht zu erwarten war. Eine Schwierigkeit besteht darin, dass in der Zeit vor 1990 in Inhalationsstudien Fasern verwendet wurden, die zu kurz waren, d. h. der Anteil an Fasern mit einer Länge > 10 µm war relativ klein.

Bei Nagetieren, die in experimentellen Studien in der Regel verwendet werden, findet eine weitgehende Vorabscheidung in der Nase statt, wenn Fasern dicker als 1,5 µm und länger als 10 µm sind. Die in der Lunge deponierten Fasern bei Ratten haben deshalb größtenteils einen Durchmesser < 1 µm (■ Tab. 29.4).

Wegen der kritischen Bedeutung der Faserabmessungen für Inhalationsstudien sind in ■ Tab. 29.4 die Formfaktoren der Fasern angegeben. Der Faserdurchmesser, der wesentlich den aerodynamischen Durchmesser der Fasern bestimmt, ist als geometrischer Mittelwert mit Standardabweichung (GMD ± SD) ausgewiesen. Weiterhin ist die Zahl der Fasern im Aerosol aufgeführt, sowohl für Fasern mit einer Länge > 5 µm als auch für Fasern mit einer Länge > 20 µm. Die in der Lunge retinierte Faserzahl nach Expositionsende ist ebenfalls angegeben. Als pathologische Thoraxbefunde sind das Auftreten einer Lungenfibrose und der Prozentsatz der Lungentumoren und der Mesotheliome aufgelistet.

Bei Glasfasern hat man bei einer speziellen, sehr dünnen und biopersistenten Faser (sogenanntes E-Glas) im Inhalationsversuch bei Ratten eine erhöhte Inzidenz an Lungentumoren gefunden. Bei Glasfasern und Steinwollfasern einer Zusammensetzung, wie sie in ähnlicher Zusammensetzung auch früher in Deutschland verwendet wurde (Benennung der Prüfsubstanzen MMVF11 und MMVF21) wurden in Multidosisexperimenten keine erhöhte Lungentumorraten beobachtet.

Auffällig ist der Vergleich von Krokydolith- und RCF1-(Keramikfaser)-Exposition (■ Tab. 29.4). Die Zahl der Krokydolithfasern im Aerosol mit einer Länge > 20 µm war etwa doppelt so hoch wie die der Keramikfasern. Die Zahl der Lungentumoren war jedoch bei beiden Expositionsgruppen mit ca. 13 % etwa gleich. Möglicherweise ist für die unerwartet hohe Inzidenz an Lungentumoren nach Keramikfaserexposition eine relativ hohe Kontamination an Faserbruchstücken der Keramikfaser verantwortlich, die von sich aus schon zu starken chronisch-entzündlichen Reaktionen in der Rattenlunge geführt hat. Weiterhin ist aus ■ Tab. 29.4 zu ersehen, dass der Hamster wesentlich stärker bezüglich einer Mesotheliomentwicklung reagiert als die Ratte. Umgekehrt zeigt der Hamster nicht einmal nach Amositexposition (einem biopersistenten Amphibolasbest) eine erhöhte Inzidenz an Lungentumoren.

Es gibt zurzeit keine Inhalationsstudie an Versuchstieren, bei der verschiedene Expositionskonzentrationen dünner und gleichzeitig langer Asbestfasern untersucht wurden. Dieses Experiment wäre jedoch notwendig, um die chronischen Inhalationsstudien mit künstlichen Mineralfasern mit ausreichender Sicherheit bewerten zu können. Ein Multidosis-Inhalationsexperiment mit Asbest an Ratten ist deshalb sinnvoll, da bezüglich Asbest Daten über Lungentumoren bei Menschen vorliegen. Mit dieser Datenbasis ließen sich dann die Kanzerogenitätsexperimente bei Ratten nach Exposition gegenüber künstlichen Mineralfasern sicherer bewerten.

Da Fasern zur Pleura wandern und dort Mesotheliome induzieren können, lässt sich bei Versuchstieren eine direkte Applikation an den serösen Häuten durchführen.

Versuche dieser Art hatten zu der Erkenntnis geführt, dass die Fasergestalt eine wesentliche Voraussetzung für eine kanzerogene Wirkung ist. Bei zahlreichen künstlichen Mineralfasern sind nach intrapleuraler oder intraperitonealer Verabreichung Tumoren gefunden worden. Dieses Versuchsmodell ist wesentlich empfindlicher als der chronische Inhalationstest, es stellt sich aber die Frage nach der Relevanz. Dies wird allein dadurch offensichtlich, dass die intraperitoneale Verabreichung in den USA nicht als Kriterium anerkannt ist. Verschiedene Untersuchungen haben ergeben, dass nach intraperito-

Tab. 29.4 Zusammenfassung wichtiger chronischer Inhalationsstudien mit Mineralfasern. Nach Hesterberg u. Hart 2001

Faser		Aerosol			Fasern/Lunge × 10^6		Pathologische Thoraxbefunde		
Test-Faser	**Faser-Typ**	**Faser-durchmesser GMD ± SD, µm**	**Faserzahl/ml (Faser >5 µm)**	**Faserzahl/ml (Faser >20 µm)**	**Faser >5 µm**	**Faser >20 µm**	**Lungenfibrose[a]**	**% Lungentumoren[b]**	**% Mesotheliome**
Ratten-RCC[c]					**Nach 24 Mo. Exposition**				
Kontrolle	Gefilterte Luft	–	0	0	0	0	–	1–3,7	0
Krokydolith[d]	Asbest	0,28 (1,54)	1610 ± 989	236 ± 145	Nicht bestimmt	Nicht bestimmt	+ (3)	13,2*	0,9*
RCF1	Keramik-Faser	0,86 (1,96)	187 ± 53	101 ± 15	143 ± 23	25 ± 7	+ (3)	13,0*	1,6*
MMVF10	901 Glasfaser[e]	1,13 (1,77)	232 ± 56	73 ± 19	82 ± 11	5 ± 2	–	5,8	0
MMVF11	CT Glasfaser[e]	0,76 (1,92)	246 ± 76	92 ± 25	182 ± 65	6 ± 3	–	2,6	0
MMVF21	Steinwolle	0,98 (1,74)	243 ± 67	114 ± 32	88 ± 25	14 ± 5	+ (3)	4,4	0
MMVF22	Schlackenwolle	0,87 (1,75)	213 ± 62	99 ± 31	62 ± 9	4 ± 2	–	2,6	0
MMVF34a[g]	HT Steinwolle	0,87 (1,87)	288	86	60	3	–	–[g]	0
X607	Neuer Fasertyp	0,9 (0,3)	170 ± 74	47 ± 23	58 ± 14	1 ± 1	–	0	0
Ratten-IOM[h]					**Nach 12 Mo. Exposition**				
Kontrolle	Luft	–	0	0			–	5	0
Amosit (LF)	Asbest	< 1	981	91	Nicht bestimmt		+	38*	5
E Mikrofaser	E Glasfaser[f]	< 1	975	109			+	23*	4,7
475 Mikrofaser	475 Glasfaser[f]	0,32	1066	137			–	11[h]	0
Hamster-RCC[c]					**Nach 18 Mo. Exposition**				
Kontrolle	Gefilterte Luft	–	0	0	0	0	–	0	0
Amosit	Asbest	0,58 (0,24)	263 ± 90	69 ± 24	612 ± 15	144 ± 54	+ (3)	0	19,5*
MMVF10a	901 Glasfasere	0,95 (0,46)	323 ± 57	151 ± 22	77 ± 2	5 ± 2	–	0	0
MMVF33	475 Glasfaserf	0,91 (0,75)	283 ± 42	106 ± 20	234 ± 5	30 ± 6	+ (6)	0	1,2*
RCF1	Keramikfaser	0,78 (1,93)	215 ± 56	~ 100	37 ± 13	8 ± 3	+ (6)	0	41,0*

[a] In Klammern, Monat während der Inhalation, bei der die Fibrose zuerst beobachtet wurde.
[b] Inzidenz der Karzinome und Adenome.
[c] RCC (Research and Consulting Co., Geneva, Schweiz) Studien: inhalative Exposition (nose-only) für 24 Mo. (Ratten) oder 18 Mo. (Hamster) gefolgt von einer mehrwöchigen Beobachtungsperiode ohne Exposition.
[d] Exposition gegenüber Krokydolith (lange Fasern) wurde nach 44 Wochen wegen erhöhter Mortalität beendet.
[e] Glasfaser zur thermischen Isolierung im Hochbau.
[f] Glasfaser zu Spezialzwecken.
[g] Kamstrup et al. 1998 und 2001.
[h] IOM (Institute of Occupational Medicine, Edinburgh, Scotland) Studie: Ganzkörperexposition für ein Jahr, gefolgt von einem Jahr Nachbeobachtungsperiode. Die getesteten Fasern entsprechen denen der RCC Studie. Die Tumorinzidenz in der 475-Gruppe entsprach derjenigen der Kontrolle.
* MMVF33-Gruppe, 1 Mesotheliom bei 83 Hamstern in der Behandlungsgruppe. Für alle Fasern zeigt * eine erhöhte Tumorinzidenz mit einer statistischen Signifikanz von $P < 0,05$.

■ **Tab. 29.5** Übersicht über chronische Gesundheitseffekte verschiedener Faserarten im Tierversuch und beim Menschen

Faserart	Biobeständigkeit von Fasern in der Lunge ++: hoch +: mittel –: gering	Tumoren nach intraperitonealer Injektion bei Ratten	Inhalation bei Versuchstieren			Thorakale Tumoren beim Menschen (IARC)
			Lungenfibrose	Lungentumoren	Mesotheliome	
Amphibolasbest	++	+	+	+	+	+
Erionit	++	+	+	+	+	+
Keramikfasern	++	+	+	+	+	–*
Persistente Spezialglasfasern	++	+	+	+	+	?
Steinwolle (höhere Biobeständigkeit)	+	+	+	–	–	–*
Steinwolle (geringere Biobeständigkeit)	–	Teilweise	–	–	–	Nicht untersucht**
Glaswolle (höhere Biobeständigkeit)	+	+	–	–	–	–*
Glaswolle (geringere Biobeständigkeit)	–	Teilweise	–	–	–	Nicht untersucht**
Erdalkali-Silicatfasern (z. B. X607)	–/+	Nicht untersucht	–/?	–/?	–/?	Nicht untersucht**
Schlackenwolle	–	–	–	–	–	–*

* Es liegen keine Hinweise vor; der sichere Nachweis, dass kein Lungenkrebs induziert wird, ist schwer zu führen (siehe Text).
** Diese Mineralfasern sind erst seit wenigen Jahren auf dem Markt, deshalb sind noch keine epidemiologischen Untersuchungen über chronische Gesundheitseffekte möglich.
IARC: International Agency for Research on Cancer, Lyon

nealer Verabreichung die Resultate signifikant waren, während die Inhalation keine positiven Befunde ergab. So finden sich nach intraperitonealer Injektion von biopersistenten Glasfasern und Steinwollfasern Lungentumoren, wie beispielsweise bei den Fasertypen MMVFll und MMVF21 (■ Tab. 29.4). Ebenso haben die im Inhalationstest positiven Mineralfasern, E-Glas und Keramikfasern im Intraperitonealtest Tumoren induziert.

Da Tumoren nach intraperitonealer Injektion bei den mineralogisch unterschiedlichen Asbestspezies Chrysotil, Krokydolith und Amosit sowie bei Erionit und Keramikfasern gefunden wurden und außerdem alle diese Fasern auch in der Lunge Tumoren induzieren (■ Tab. 29.5), erscheint die Annahme plausibel, dass das Modell der intraperitonealen Injektion auch für die Lunge eine prädiktive Aussage erlaubt.

Allerdings sind Angaben über ein mögliches Risiko nicht möglich, da es sich bei der intraperitonealen Injektion nicht um einen für den Menschen relevanten Aufnahmeweg handelt und auch nur ein biologischer Effekt nachgewiesen werden kann. Die Exposition sowie die Zeit, die eine Wanderung einer Faser von der Lunge zur Pleura benötigt, um an die Zielzellen für ein Mesotheliom zu gelangen, sind hierbei völlig unberücksichtigt.

Auch bei relativ biolöslichen Glasfasern ließen sich bei einer Dosierung von $> 10^{10}$ Fasern mit einer Länge > 5 µm nach intraperitonealer Injektion bei Ratten Mesotheliome induzieren. Da die Faserzahl offensichtlich kritisch bei der Verwendung dieses Kanzerogenitätstests ist, wurde auf der Basis eines Vergleichs mit Asbestfasern und künstlichen Mineralfasern eine maximale Dosierung zwischen 10^9 und 5×10^9 Fasern (Faserlänge > 5 µm) vorgeschlagen. Tumoren, die bei höherer Dosierung in diesem Versuchsmodell auftreten, werden nicht als relevant für den Menschen angesehen. Dieses ist unter toxikologischen Gesichtspunkten vertretbar, da relativ biolösliche Fasern sich auf der Wanderung zum pleuralem Gewebe auflösen.

Die Annahme, dass persistente Glas- und Steinwollfasern nach Inhalation in der Lunge über einen analogen Wirkungsmechanismus zur Tumorbildung führen können wie nach Verabreichung an das Brust- oder Bauchfell, ist mittlerweile nicht mehr zu halten. Wegen der „unphysiologischen" Applikation bei intraperitonealer und intratrachealer Injektion und wegen fehlender Hinweise aus der Epidemiologie und tierexperimentellen Inhalationsstudien ist eine solche Extrapolation sehr umstritten, wegen der niedrigen Dosiswerte und der deutlich geringeren Induktionsrate im Tierversuch ist eher von

einem sehr niedrigen Risiko für diese Fasern auszugehen.

Die „International Agency for Research on Cancer“ (IARC) hat im Jahr 2001 dem chronischen Inhalationstest für die Charakterisierung des krebserzeugenden Potenzials von Fasern ein relativ hohes Gewicht beigemessen. Die früher verwendeten Glas- und Steinwollfasern vom Typ MMVF11 und MMVF21 dürfen für Isolationszwecke im Hochbau nicht eingesetzt werden. Inzwischen liegen erheblich sicherere „biolösliche“ Mineralwollen vor, die etwa seit 1998 in Deutschland verwendet werden.

29.1.8 Bewertung

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass Asbestfasern und Nicht-Asbestfasern wahrscheinlich über den gleichen Mechanismus zu Tumoren führen. Das bedeutet jedoch nicht, dass sie für den Menschen ein gleich hohes Krebsrisiko darstellen. Für ein im Allgemeinen niedrigeres oder möglicherweise nicht erhöhtes Risiko durch die Exposition durch künstliche Mineralfasern sprechen folgende Erkenntnisse:

- Inhalierbare künstliche Mineralfasern sind in Mineralwollen meist nur zu einem kleinen Anteil vorhanden. Die Konzentrationen in der Atemluft sind normalerweise sehr viel niedriger als bei einer gleichartigen Verwendung von Asbest. Textile Glasfasern werden in der Regel mit einem Durchmesser > 5 µm produziert. Insofern fallen sie von vornherein nicht unter den Verdacht einer krebserzeugenden Wirkung.
- Künstliche Mineralfasern können nicht wie Asbestfaserbündel in extrem feine Elementarfibrillen aufspalten.
- Die Beständigkeit der heute in Deutschland hergestellten Dämmstofffasern für Bauzwecke ist wesentlich kürzer als für Asbest. Die neuen „biolöslichen“ Mineralwollen sind nach deutschem Gefahrstoffrecht nicht als Krebs erzeugend eingestuft.

Die Angabe, ob eine signifikante Erhöhung von thorakalen Tumoren (Lungentumoren und Mesotheliome) beim Menschen nach Exposition gegenüber Mineralfasern aufgetreten sind, folgt der Bewertung der „International Agency for Research on Cancer, IARC“. Weiterhin sind in ■ Tab. 29.5 qualitative Angaben zur Biobeständigkeit von Mineralfasern aufgeführt. Für die biopersistenten Fasern Amphibolasbest, Erionit, Keramikfasern und persistente Spezialglasfasern ergibt sich ein konsistentes Bild. Bei letzteren beiden Fasertypen liegen jedoch keine aussagekräftigen epidemiologischen Untersuchungen vor. Ebenso liegt bei den neu entwickelten Glas- und Steinwollen mit geringer Biobeständigkeit keine Epidemiologie über chronische Effekte vor.

Bei künstlichen Mineralfasern variiert die chemische Zusammensetzung stark. Damit verknüpft sind unterschiedliche physikalisch-chemische Eigenschaften, sodass ein breites Spektrum bezüglich Biopersistenz im Körper vorliegen kann. In Abhängigkeit von der Zusammensetzung kann das Spektrum der toxischen Wirkung von Krebs erzeugend bis zu „nicht eingestuft im Hinblick auf eine krebserzeugende Wirkung“ reichen. Als kritische Halbwertszeit ist von den Behörden der EU zunächst vorläufig eine Halbwertszeit von 40 Tagen nach intratrachealer Applikation beziehungsweise 10 Tagen nach inhalativer Behandlung von Ratten angegeben worden. Diese Werte beziehen sich auf Fasern einer Länge > 20 µm. Die unterschiedlichen Halbwertszeiten je nach Applikationsart wurden wegen der unterschiedlichen Faserdosis eingeführt, denn die Halbwertszeit hängt von der retinierten Masse ab.

Dabei ist es ganz wichtig zu beachten, dass die intratracheale Applikation meist zu einem lokalen „Overload“ führt, was die Aussagekraft dieser Verabreichung im Tierexperiment stark mindert bzw. ganz in Frage stellt.

Nach vorliegenden Erkenntnissen weist einatembarer Staub von künstlichen Mineralfasern eine größere mittlere Faserlänge auf als arbeitsplatztypischer Asbeststaub. Kritisch sind biopersistente Mineralfasern wie bestimmte Keramikfasern für Hochtemperaturapplikationen anzusehen. Bei biopersistenten künstlichen Mineralfasern wurde in tierexperimentellen Studien eine stärkere kanzerogene Potenz pro Faser im Vergleich zu den kürzeren Asbestfasern beobachtet.

29.2 Organische Fasern

29.2.1 Zusammensetzung und Struktur

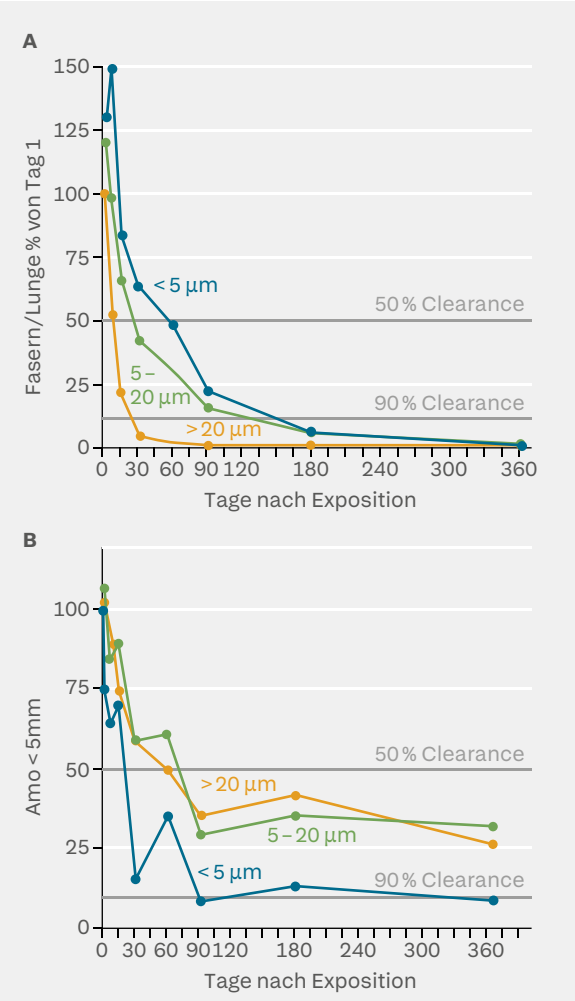
Zur Herstellung organischer Fasern werden eine Reihe synthetischer und halbsynthetischer Polymere verwendet (■ Tab. 29.6). Mit Oberbegriffen wie „Nylon“ oder „Acryl“ bezeichnet man Gruppen von Polymeren, die sich aus spezifischen Untereinheiten (Monomeren) zusammensetzen. Dabei ist es jedoch wichtig, dass verschiedene Subtypen einer Gruppe wie „Nylon“ sehr unterschiedliche physikalische und chemische Eigenschaften besitzen können. Halb synthetische Fasern auf Zellulosebasis unterscheiden sich hinsichtlich Struktur, Molekulargewicht des (wiederhergestellten) Zellulosepolymers und der an die Zellulosemoleküle gebundenen funktionalen Endgruppen.

Lungengängige faserförmige Partikel (LFP) von Polymeren aus synthetischen organischen Molekülen werden oft als Mikrofibrillen bezeichnet. Sie weisen einen Durchmesser von 0,1–1,0 µm und Längen von mehreren µm auf und bestehen im geordneten Zustand aus Domänen von Makromolekülen, wobei sich amorphe Schichten und kristalline Bereiche abwechseln. Die amorphen Schichten sind möglicherweise anfälliger für chemische Spaltung und enzymatischen Abbau als die kristallinen Bereiche und sind daher wichtig bei der Bestimmung der

■ **Tab. 29.6** Beispiele für organische Fasern

Natürliche pflanzliche Fasern	
– Zellulose	
Halb synthetische Fasern (erhalten von natürlicher Zellulose)	
– Regenerierte Zellulose – Viscose Reyon – Zelluloseacetat – Zellulosetriacetat	
Synthetische Fasern aus Polymeren	**Polymer Monomer**
Polyolefine:	
– Polyethylen	$-CH_2-CH_2-$
– Polypropylen	$-CH(CH_3)-CH_2-$
Polyvinyle:	
– Polyacrylonitril	$-CH(CN)-CH_2-$
– Polyvinylchlorid	$-CH(Cl)-CH_2-$
Polyamide:	
– Aliphatische (Nylon)	$-NH-CO-(CH_2)_4-CO-NH-(CH_2)_5-$
– Aromatische (para-Aramid)	–NH–R–NH–CO–R–CO–
Polyester	$-O-CO-R-CO-O(CH_2)_n-$
Andere: – Polyimid – Polyurethan – Elastomere	

R: Benzolring



● **Abb. 29.7** Toxizität und Biobeständigkeit lungengängiger faserförmiger Partikel (LFP) von p-Aramid

Biobeständigkeit in der Lunge. Bei den LFP aus para-Aramid und anderen Polymeren mit steiferen stabförmigen Makromolekülen ist unter dem Mikroskop eine radial angeordnete Struktur mit „gefalteten Schichten" zu erkennen. Diese Bereiche könnten ein Ziel für physikalischchemische Einwirkungen in der Lunge sein. Der Begriff LFP (lungengängige faserförmige Partikel) wird zur Unterscheidung zwischen lungengängigen Partikeln und nicht lungengängigen organischen Fasern verwendet.

29.2.2 Tierexperimentelle Studien mit p-Aramid

Para-Aramid (p-Aramid) ist eine der sehr wenigen synthetischen organischen Fasern, die intensiv in Inhalationsstudien untersucht wurden. In den unten dargestellten Experimenten wurden Toxizität und Biobeständigkeit der LFP einer typischen p-Aramid-Fibrille ausgewertet (● Abb. 29.7). Die Begriffe p-Aramid LFP und p-Aramid-Fibrille werden in letzter Zeit mit derselben Bedeutung verwendet. Die Ergebnisse vieler Untersuchungen mit p-Aramid LFP sind in einer IARC-Monografie zusammengefasst.

Chronische Inhalationsstudien von p-Aramid

In einer chronischen Inhalationsstudie wurden Ratten gegenüber sehr feinen p-Aramid LFP mit Konzentrationen von 0; 2,5; 25 und 100 LFP/ml (0; 0,8; 0,31 und 0,63 mg/m^3) 2 Jahre lang 5 Tage/Woche exponiert. Eine zweite Gruppe mit 100 Tieren wurde im selben Zeitraum gegenüber 400 LFP/ml exponiert, wobei diese weitere Exposition wegen aufgetretener toxischer Effekte nach 12 Monaten beendet und die Tiere dann noch ein weiteres Jahr beobachtet wurden. Die gegenüber 2,5 LFP/ml exponierten Lungen wiesen eine normale Alveolarstruktur und einige staubbeladene Makrophagen im Alveolarbereich auf; bei dieser Dosis war somit keine schädliche Wirkung festzustellen (NOAEL). Bei Ratten, die gegenüber 25 und 100 LFP/ml exponiert wurden, wurden folgende Effekte beobachtet: eine dosisabhängige Zunahme des Lungengewichts, Staubzellenreaktion, geringgradige Typ-II-Pneumozytenhyperplasie, alveolare Bronchiolarisation und eine minimale Fibro-

se mit Kollagenbildung im Bereich der Alveolargänge. Außerdem entwickelten 6 % der gegenüber 100 LFP/ml exponierten weiblichen Ratten Foci, die von einem Expertengremium von Pathologen zuerst als „zystisch keratinisierende Plattenepithelkarzinome“ (cystic keratinizing squamous cell carcinomes, CKSCC), und dann, nach einer erneuten Bewertung, als „proliferative Keratinzysten“ (proliferative keratin cysts, PKC) bezeichnet wurden. Bei den weiblichen Ratten wurden zudem ausgeprägtere schaumzellartige Alveolarmakrophagen, Cholesteringranulome und eine alveoläre Bronchiolisation beobachtet. In der bis zu einem Jahr lang gegenüber 400 LFP/ml exponierten Gruppe starben 29 männliche und 14 weibliche Tiere an einer obstruktiven Bronchiolitis (Bronchiolitis obliterans), was auf eine starke Ansammlung inhalierter p-Aramid LFP in den Kanten der Bifurkationen der Alveolargänge zurückzuführen war. Die Ratten in dieser Expositionsgruppe, die ein Jahr nach der Exposition noch am Leben waren, wiesen einen signifikant reduzierten Anteil an Staub in der Lunge, eine deutlich geringere mittlere Länge der LFP und deutlich weniger Lungenläsionen auf. Bei diesen Tieren wurden jedoch ein schwaches centroacinäres Emphysem und minimale Fibrosen im Bereich der Alveolargänge festgestellt. Eine Ratte entwickelte ein Karzinom und 6 weitere Ratten entwickelten proliferative Keratinzysten (PKC).

1997 bewertete die „International Agency for Research on Cancer“ p-Aramid LFP und stufte sie in die Gruppe 3 ein (nicht einstufbar bezüglich der Karzinogenität für den Menschen).

29.2.3 Tierexperimentelle Studien mit Polyolefinen

Rattengruppen wurden 90 Tage lang 6 Stunden täglich sowie 5 Tage pro Woche; nose-only gegenüber 12, 20 oder 46 Polypropylenfasern/ml (15, 30 oder 60 mg/m^3) exponiert, wobei die Größenverteilung der Fasern so bestimmt wurde, dass sie einen mittleren Durchmesser von 1,6 µm und eine mittlere Länge von 20 µm hatten. Die Ratten wurden während des Expositionszeitraums und zu einem Zeitpunkt nach der Exposition untersucht. Bei den Ratten waren Veränderungen in der Lunge in Form einer verstärkten Zellularität und einer Bronchiolitis im Frühstadium, jedoch keine Fibrosen, festzustellen, wobei diese Veränderungen von der Dosis und der Expositionsdauer abhängig waren. Diese zellulären Veränderungen werden als reversibel betrachtet.

29.2.4 Tierexperimentelle Studien mit Kohlenstofffasern

Ratten wurden nose-only gegenüber Aerosolen von respirablen Kohlenstofffasern auf Teerbasis oder nicht respirablen Kohlenstofffasern auf Polyacrylnitrilbasis (PAN-Basis) (7 µm Durchmesser) bei Sollkonzentrationen von 50 oder 100 mg/m^3 (47 oder 62 Fasern/ml) 1 bis 5 Tage lang (6 h/Tag) exponiert und zu verschiedenen Zeitpunkten nach der Exposition untersucht. Nach einer 5-tägigen Exposition verursachten die respirablen Kohlenstofffasern auf Teerbasis dosisabhängige Reaktionen in der Lunge in Form von vorübergehenden Entzündungen und Zellproliferationen. Mit Pigment beladene Alveolarmakrophagen sowie eine minimale epitheliale Typ-II-Zellhyperplasie wurden hauptsächlich an den Übergängen der terminalen Bronchiolen und Alveolargänge beobachtet. Nach einer 10-tägigen Erholungsphase nach der Exposition hatten die Lungen wieder ihr normales Erscheinungsbild. Die nicht respirablen Kohlenstofffasern auf PAN-Basis verursachten keine bedeutenden Veränderungen in der Lunge, und in den Lungen der exponierten Tiere wurden nur wenige Fasern gefunden, was darauf schließen lässt, dass die Fasern mit einem Durchmesser von 7 µm nicht in distalen Bereichen der Lungen der exponierten Ratten deponiert wurden.

29.2.5 Tierexperimentelle Studien mit anderen organischen Fasern

In einer Studie wurden Meerschweinchen gegenüber manuell pulverisiertem Nylon bzw. gegenüber Acrylnitrilstaub exponiert (Dauer fast 1 Jahr). 18 der gegenüber Nylon exponierten und 10 der gegenüber Acrylnitrilstaub exponierten Tiere wurden entweder bei der Sektion nach Ablauf der Untersuchung oder nach zwischenzeitlich eingetretenem Tod histologisch untersucht. In 14 von 18 gegenüber Nylon exponierten Tieren sowie in allen gegenüber Acrylnitrilstaub exponierten Tieren wurden intraseptale Granulome gefunden. In den Läsionen konnte mit dem Mikroskop doppelbrechendes Material beobachtet werden. Leider wurden in dieser Untersuchung keine Angaben hinsichtlich respirabler Staubkonzentrationen und Partikelgrößen gemacht.

29.3 Synthetische Nanomaterialien

Die Möglichkeit, auf der Nanometerskala Materialien herzustellen und zu verarbeiten, ist keineswegs neu und wird empirisch seit Jahrhunderten, gezielt seit mehr als 100 Jahren genutzt. So wurden bereits Silber- und Goldnanopartikel im 4. Jhdt. zur Glasfärbung genutzt (römischer Lycurgus Kelch). Mit der Kolloidchemie jedoch nahm die großräumige Herstellung und Nutzung der kleinsten herzustellenden Materialien ihren Anfang und steht nun mit der Nanotechnologie vor einer Renaissance. Die gezielte Herstellung nicht nur metallischer Nanopartikel, sondern auch von Metalloxiden, keramischen Materialien oder Kohlenstoff und organischen Substanzen in dieser Größenordnung in großen Mengen, ermöglicht die Nutzung völlig neuer Materialeigenschaf-

■ **Tab. 29.7** Übersicht über mögliche Anwendungen von Nanomaterialien (Beispiele)

Nanomaterial	Verwendungsbeispiele
Titandioxid (TiO_2)	Photokatalyse organischer Kontaminanten UV-Schutz von Mensch und Material
Amorphe Kieselsäure (SiO_2)	Zusatzstoff, Verstärkung, Rieselhilfe, Schleifmittel
Kohlenstoff-nanostrukturen Carbon Black (Industrieruß) Kohlenstoff-nanoröhrchen Graphen	Sorption von organischen Kontaminanten Filtration, Gummihärtung Verstärkung in Kompositen Elektronische Eigenschaften
Metalloxide	NO_x Kontrolle Katalytische Dekontamination UV-Schutz
Eisen Magnetit Ferromagnetische Partikel	Abbau von PAHs Grundwassersanierung Monitoring und Filtration; Kontrastmittel (med.)
Metallmischungen (z. B. Fe/Pd)	Katalytische Sanierung von anorganischen und organischen Kontaminanten
Zeolithe	Reduktion von NO_x Photokatalytische Oxidation organischen Kontaminanten Verstärkung Komposit
Biopolymere	Kontrolle von Schwermetallen Filtration Vlies
Dendrimere	Medikamentendarreichungsformen
Quantum Dots	Optische Verfahren

ten, die in vielen Bereichen Anwendung finden (■ Tab. 29.7). Damit kann aber auch die Expositionswahrscheinlichkeit sowohl für den Menschen als auch für die Umwelt gegenüber solchen Nanomaterialien steigen.

Vergleichbar zu den mineralischen Fasern kommen vermehrt auch sogenannte „Nanofasern" zum Einsatz. Diese sind grundsätzlich über ihren Durchmesser definiert, der meist unterhalb von 500 nm liegt. Wenn es sich dabei nicht um sehr lange Fasern handelt, sind sie generell in die Gruppe der leicht einatembaren Stäube einzuordnen, obwohl sie durch ihre enorm vergrößerte spezifische Oberfläche eine höhere Tendenz zur Agglomeration und Aggregation besitzen. Nanofasern spielen beim Elektrospinnen und der Herstellung von Vliesstoffen eine große Rolle und bestehen häufig aus den gängigen Polymeren. Es gibt allerdings auch biologische Polymere,

■ **Tab. 29.8** Chemische Elemente und ihre Varianten, die als Nanomaterial Anwendung finden

Element	Chemische Variante
Barium	Bariumsalze: Bariumsulfat
Cer und Zirkon	Keramische Oxidpartikel
Eisen	Fe sowie Fe_2O_3, Fe_3O_4
Gold	Au-Partikel und Stäbchen
Kohlenstoff	– Carbon Black – Fullerene – Kohlenstoffnanoröhrchen – Graphen – Diamantartiger Kohlenstoff (DLC = Diamond-like Carbon)
Platingruppen-elemente	Pt, Pd, Rh Partikel
Silber	Ag Partikel
Silicium	Amorphe Kieselsäure SiO_2 Partikel
Titan	TiO_2 und TiN Partikel
Wolfram	WC oder W_2C (Carbide)
Zink	ZnO Partikel und Stäbchen

die zu Nanofasern versponnen werden können, wie Nanozellulose oder Kollagen.

29.3.1 Zusammensetzung und Struktur von Nanomaterialien

So vielfältig die Kombinationen der Elemente, so vielfältig scheint die Variationsbreite der Nanomaterialien (● Abb. 29.8). Neben rein metallischen Formen, sind alle Arten von Mischungen denkbar. So können Metalle direkt als Legierung gemischt werden oder als mehrschichtige Partikel (Kern und Hülle, sog. Core-Shell-Partikel) aufgebaut sein. Sphärische keramische oder metalloxidische Nanopartikel sind ebenso in Gebrauch wie Varianten in Stäbchenform. Die Zahl der Anwendungsbereiche und Produkte steigt stetig und ist zu groß, um hier aufgeführt zu werden.

Die unterschiedlichen Elemente, Formen und Größen zugrunde gelegt, ist die Variationsbreite an verschiedenen Nanomaterialien schier unendlich (■ Tab. 29.8). Daher ist für eine toxikologische Prüfung der Einzelfall wichtig. Es werden solche Materialien getestet, die auch den Weg in die Anwendung finden oder in der Forschung eine besondere Rolle spielen.

32 Lebensmittelinhaltsstoffe

Matthias Baum und Elke Richling

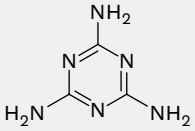
32.1 Einführung

Die Lebensmitteltoxikologie beschäftigt sich mit der Sicherheitsbewertung von Lebensmitteln, deren Inhaltsstoffen oder Bestandteilen. Der Begriff „Lebensmitteltoxikologie“ ist dabei eher historisch zu betrachten. Lebensmittel dürfen nach der Definition des Lebensmittel-, Bedarfsgegenstände- und Futtermittelgesetzbuches (LFGB) vom 01. September 2005 und der Verordnung (EG) 178/2002 vom 28. Januar 2002, die unter anderem Grundsätze und Anforderungen des Lebensmittelrechts und der Lebensmittelsicherheit definieren, gar nicht toxisch sein. Der Begriff bezieht sich insbesondere auf die klassische Sicherheitsbewertung von Lebensmittelzusatzstoffen, die im Rahmen eines Zulassungsverfahrens umfassend geprüft werden, sodass sie wohl zu den am besten toxikologisch charakterisierten Stoffen überhaupt zählen, sowie auf andere Begleitstoffe, die häufig unerwünscht und unvermeidbar sind, aber auch wertbestimmend für ein Lebensmittel sein können, sodass sie letztlich einer Risiko/Nutzen-Analyse unterzogen werden müssen. Für alle Inhaltsstoffe mit einer Schwellenwert-Toxizität wird das Konzept des Acceptable bzw. Tolerable Daily Intake (ADI bzw. TDI) angewendet. Für Stoffe ohne Schwellenwert-Toxizität wie genotoxische Kanzerogene wird das Minimierungs- bzw. Margin-of-Exposure-(MOE-)Konzept angewendet. Neben solchen Stoffbewertungen kommt der „ganzheitlichen“ Betrachtung und Bewertung von Lebensmitteln, beispielsweise bei den sogenannten „Neuartigen Lebensmitteln“ bzw. „Novel Foods“ oder „funktionellen Lebensmitteln“ und damit verbundenen möglichen Ernährungsrisiken, besondere Bedeutung zu. Insgesamt war die Qualität der industriell hergestellten als auch der häuslich zubereiteten Lebensmittel in Ländern mit einem gesättigten Angebot an Nahrungsmitteln nie besser als heute und die größten mit Ernährung verbundenen Risiken gehen von Über- oder Fehlernährung aus. Dennoch müssen sich Sicherheitsbewerter zunehmend häufiger neuen Herausforderungen stellen, die sich aus immer breiter werdenden Lebensmittelangeboten und einer Vielzahl neu eingesetzter technologischer Verfahren ergeben. Ein aktuelleres Beispiel sind Lebensmittel auf der Basis von Insekten, die allgemein als Novel Food gelten.

Unerwünschte Stoffe entstehen in Lebensmitteln bei der Verarbeitung- oder Zubereitung, können aber auch bei unsachgemäßer Lagerung in der Nahrung gebildet werden. Verpackungsmaterial für Lebensmittel muss so beschaffen sein, dass kein nennenswerter Übergang (carry-over) unerwünschter Stoffe wie Restmonomere, Kunststoff- oder Papier-Additive erfolgt. Den regulatorischen Rahmen für Lebensmittelkontaktmaterialien bietet die Verordnung EU(EC) No 1935/2004. Zentrales Regelwerk für Kunststoffe, die mit Lebensmitteln in Berührung kommen (Stoffregelungen, Migration von Stoffen ins Lebensmittel, Testverfahren) ist die EU Food Contact Regulation for Plastics 10/2011 (Leitfaden der Union zur Verordnung (EU) Nr. 10/2011 über Materialien und Gegenstände aus Kunststoff, die dazu bestimmt sind, mit Lebensmitteln in Berührung zu kommen).

Der Einsatz von nicht zugelassenen Stoffen in der Wertschöpfungskette ist in jedem Fall eine regulatorische Nonkonformität, bietet dadurch aber nicht generell Anlass zu gesundheitlicher Besorgnis. Ernährungsbedingte manifeste Vergiftungen sind selten. Über Massenvergiftungen, die durch kontaminierte Lebensmittel ausgelöst wurden, wird vor allem aus der Historie berichtet. So war beispielsweise die Symptomatik ernährungsbedingter Bleivergiftungen im Altertum (Saturnismus) ein durchaus geläufiges Krankheitsbild. Im Jahr 1696 hat Herzog Eberhard Ludwig das Süßen von Wein mit Bleiacteat („Bleizucker“) in Württemberg unter Todesstrafe gestellt. Heute haben ernährungsbedingte Massenvergiftungen eher geringe Bedeutung, jedoch kam es immer wieder zu endemisch auftretenden Vergiftungen mit kriminellem Hintergrund wie durch Cadmium (Itai-Itai-Disease), Quecksilber (Minamata-Disease) in Japan oder Arsen (Black-Foot-Disease) in China. Ein weiteres Beispiel ist das „toxic-oil syndrome“ (TOS), das durch Anilin denaturiertes Rüböl in Spanien im Jahr 1981 ausgelöst wurde, sowie Methanolvergiftungen durch bewusst verfälschte oder unsachgemäß gebrannte Spirituosen. Im Jahr 2008 führte in China der Zusatz von Melamin (2,4,6-Triamino-s-triazin, ● Abb. 32.1) zu Milchpulver zu Nierenerkrankungen von fast 300 000 Kindern und zum Tod von mehreren Säuglingen.

Stoffe, die in der Kette der Lebensmittelproduktion, insbesondere in der Landwirtschaft eingesetzt werden („from farm to fork“) und die in vielen Fällen biologische Wirkstoffe wie Pestizide und Tierarzneimittel darstellen, sind im Hinblick auf Rückstände in den Lebensmitteln



● **Abb. 32.1** Melamin (2,4,6-Triamino-s-triazin)

so geregelt, dass von ihnen selbst unter Worst-case-Bedingungen kein signifikantes gesundheitliches Risiko ausgehen kann. Dennoch führt die Risikowahrnehmung der Verbraucher dazu, dass hier die vermeintlich größten Risiken vermutet werden, während mit natürlichen Quellen assoziierte Risiken häufig unterschätzt werden. Der Glaube „natürlich gleich sicher" trifft jedoch eher nicht zu. So gehören bakterielle Lebensmittelintoxikationen zu jenen ernährungsbedingten Risiken, die quasi von jedem Einzelnen, beispielsweise als Magen-Darm-Infektion im Laufe des Lebens erfahren werden und damit als Risiko im echten Sinne fassbar sind.

32.2 Lebensmittelzusatzstoffe, technische Hilfsstoffe und Aromen

Laut EG-Richtlinie (89/107/EWG) ist der Begriff Zusatzstoff definiert als „Stoff mit oder ohne Nährwert, der weder selbst als Lebensmittel verzehrt noch als charakteristische Lebensmittelzutat verwendet wird und einem Lebensmittel aus technologischen Gründen bei der Herstellung, Verarbeitung, Zubereitung, Behandlung, Beförderung und Lagerung zugesetzt wird, wodurch er selbst oder seine Nebenprodukte, mittelbar oder unmittelbar, zu einem Bestandteil des Lebensmittel wird oder werden kann". Das in Deutschland gültige Lebensmittel-, Bedarfsgegenstände- und Futtermittelgesetzbuch (LFGB) stellt noch andere Stoffe wie Mineralstoffe und Vitamine etc. den Zusatzstoffen gleich. Allgemein gilt das sogenannte „Verbotsprinzip mit Erlaubnisvorbehalt", d. h., nur solche Stoffe dürfen verwendet werden, die zugelassen sind. Bei Zulassungsverfahren steht der Gesundheitsschutz des Verbrauchers an erster Stelle, gefolgt vom Verbot der Vortäuschung einer höheren Qualität durch die Verwendung von Zusätzen und schließlich dem Nachweis der technologischen Notwendigkeit. Die Rechtsvorschriften der Gemeinschaft über Lebensmittelzusatzstoffe basieren auf dem Grundsatz, dass nur jene Zusatzstoffe, die ausdrücklich zugelassen sind, verwendet werden dürfen.

Lebensmittelzusatzstoffe dürfen nur zugelassen werden,

- wenn sie für Verbraucher gesundheitlich unbedenklich sind,
- wenn eine hinreichende technologische Notwendigkeit nachgewiesen werden kann,
- wenn Verbraucher durch ihre Verwendung nicht irregeführt werden.

Zusatzstoffe werden über die Verordnung (EG) Nr. 1333/2008 des Europäischen Parlaments und des Rates vom 16. Dezember 2008 über Lebensmittelzusatzstoffe geregelt. Die Liste der Zusatzstoffe ist unter https://ec.europa.eu/food/food-feed-portal/screen/food-additives/search zugänglich. Sofern keine Höchstmengen vorgeschrieben sind, gelten bei der Lebensmittelherstellung die Regeln der „Guten Herstellungspraxis" (Good Manufacturing Practice, GMP), d. h. „so viel wie nötig, so wenig wie möglich" (quantum satis, qs). Es besteht eine weitgehende Kennzeichnungspflicht („labeling"): Eine Sonderstellung nehmen die über 3 000 Aromastoffe ein, die nicht als Zusatzstoffe gelten und aufgrund der geringen Aufnahme von täglich meist weniger als 0,01 µg/Person weniger toxikologisch relevant sind. Aromen werden in der Aromenverordnung (EG) Nr. 1334/2008 in sechs verschiedene Kategorien eingeteilt: Aromastoffe, Aromaextrakte, thermisch gewonnene Reaktionsaromen, Raucharomen, Aromavorstufen und sonstige Aromen.

Ende 2010 waren in Deutschland 305 Zusatzstoffe mit E-Nummern zugelassen, hinzu kommen etwa 100 Stoffe ohne E-Nummern wie Stoffe, die der Kaumasse von Kaugummi zugesetzt werden dürfen (u. a. Gutta, Kautschuk, Kolophonium) oder Aminosäuren wie L-Alanin, L-Cystein, L-Cystin.

Es sei nochmals betont, dass Zusatzstoffe einem Zulassungsverfahren unterliegen, bei dem die Stoffe einer umfassenden Sicherheitsbewertung unterzogen werden und auch deren grundsätzliche Notwendigkeiten geprüft werden. Alle zugelassenen Zusatzstoffe sind daher im Rahmen ihrer zugelassenen Verwendung als sicher anzusehen, wenngleich im Folgenden für einzelne Stoffe toxische Wirkungen beschrieben werden, die aber in den häufigsten Fällen nur bei hohen Dosen im Tierversuch beobachtet werden und bei den zu erwartenden Aufnahmemengen kein signifikantes Risiko für den Menschen mit sich bringen.

32.2.1 Farbstoffe

Die 40 zugelassenen Farbstoffe (E 100–E 180) lassen sich aufgrund ihres Ursprungs in „synthetische" und „natürliche" Farbstoffe unterteilen, wobei auch Letztere heute größtenteils synthetisch oder biotechnologisch hergestellt werden können.

Synthetische Farbstoffe

Von den synthetischen Farbstoffen standen vor allem jene im Fokus der Sicherheitsbewertungen, die durch die Azogruppierung –N=N– charakterisiert sind und deswegen als Azofarbstoffe bezeichnet werden. Durch reduktive Spaltung dieser Gruppierung durch Darmbakte-

rien oder Azoreduktasen der Leber u. a. Gewebe können Spaltprodukte entstehen, die dann möglicherweise kanzerogenes Potenzial zeigen, wenn sie eine Arylaminkomponente enthalten (z. B. Benzidin und daraus abgeleitete Komponenten). Die zugelassenen Lebensmittelfarbstoffe enthalten aber in allen entsprechenden Spaltprodukten SO_3-Gruppen, die eine gute Wasserlöslichkeit und rasche Ausscheidung sicherstellen. Manche Farbstoffe scheinen jedoch Unverträglichkeiten hervorzurufen bzw. besitzen sensibilisierendes Potenzial. Die Verwendung ist jedoch so geregelt, dass die Aufnahmemengen vernachlässigbar sind.

Bei **Tartrazin** (E 102) sind Fälle von Idiosynkrasie („Pseudoallergie") in der Literatur beschrieben, gepaart mit einer Überempfindlichkeit gegen Salicylat (z. B. Acetylsalicylsäure). In einer Stellungnahme der EFSA (2010) wird von einer Intoleranz für Tartrazin von < 1 % der Personen ausgegangen. Schon 2009 kam ein AFC-Gremium (Gremium für Lebensmittelzusatzstoffe, Aromastoffe, Verarbeitungshilfsstoffe und Materialien, die mit Lebensmitteln in Berührung kommen) zu dem Schluss, dass nach aktuellen Studien Tartrazin und Natriumbenzoat zusammen unerwünschte Wirkungen bei Kindern hervorrufen können, wie geringfügige Veränderungen der Aufmerksamkeit und Aktivität. Lebensmittel müssen seit 2010 dann den Hinweis „Kann Aktivität und Aufmerksamkeit bei Kindern beeinträchtigen" auf dem Etikett tragen. Tartrazin kann zum Färben von Produkten auf Weinbasis (sog. „Bitter"), verarbeitetem Fisch oder Käse verwendet werden (ADI: 10 mg/kg KG).

Erythrosin (E 127, Tetraiodfluorescein), ein Xanthen-Derivat mit vier Iodatomen im Molekül, ist aufgrund seiner Eigenschaft, in Lösungen von pH 3–4 die schwer lösliche Erythrosinsäure zu bilden, der einzige Farbstoff zum Färben von Kirschen in Fruchtsalat ohne gleichzeitiges Anfärben anderer Früchte. Erythrosin ist zum Färben von Cocktailkirschen und kandierten Kirschen zugelassen und in Färbetabletten zum Anfärben von Plaques auf Zahnflächen. Das im Erythrosin enthaltene Iod ist teilweise bioverfügbar. Bei hohen Expositionen gefundene Schilddrüsentumoren bei Ratten wurden als nicht humanrelevant beurteilt. Toxische Effekte auf die Spermatogenese bei der Maus bedürfen einer weiteren Klärung. Eine Beeinflussung der Schilddrüsenfunktion durch Erythrosin wird diskutiert. Der ADI liegt bei 0,1 mg/kg KG.

Zuckerkulör wird zum Färben von Getränken wie Whiskey, Cola, Fertigsoßen oder Essig (quantum satis, qs) verwendet. Er wird aus Rüben-, Trauben- oder Invertzucker mit Temperaturen von 120 bis 150 °C und Reaktionsbeschleunigern hergestellt. Bei Zuckerkulör („Karamel", E 150) unterscheidet man vier Klassen (E 150 a–d). Die Klasse 3 „Ammoniak-Zuckerkulör" (E 150 c) ist das am weitesten verbreitete Färbungsmittel, das aus Saccharose unter Zusatz von Ammoniumverbindungen hergestellt wird. Es enthält zwei technologisch unvermeidbare, toxische Komponenten für die Höchstmengen abgeleitet wurden: 4-Methylimidazol (4-MEI) löst hoch dosiert bei Hunden, Ratten, Kaninchen und Mäusen Krämpfe aus; 2-Acetyl-4(5)-tetrahydroxybutylimidazol verursachte bei Ratten eine Lymphozytopenie, wenn gleichzeitig ein Pyridoxin-(Vitamin-B_6-)Mangel bestand. Dieser immunsuppressive Effekt fand sich auch bei Mäusen, nicht aber bei freiwilligen jüngeren und älteren Probanden. Die Europäische Behörde für Lebensmittelsicherheit (EFSA) hat Zuckerkulöre neu bewertet (2011). Sie gelangte zu der Auffassung, dass Lebensmitteln, die mit den genannten Zuckerkulören gefärbt sind, unter Beachtung der Höchstmengen für 4-MEI in diesen Farbstoffen gesundheitlich unbedenklich sind. Die ADI-Werte liegen bei 300 mg/kg KG.

Canthaxanthin (E 161 g), das in Krabben oder Pfifferlingen vorkommt, wurde hoch dosiert angewendet und hat bei Patienten kristalline Ablagerungen in der Retina hervorgerufen. Eine 2011 veröffentlichte Langzeitstudie konnte diesen Befund nicht bestätigen. Die Verwendung ist nur noch in einer französischen Wurstspezialität (Saucisses de Strasbourg max. 15 mg/kg) gestattet und wird als Mastzusatz für Lachsforellen verwendet.

Betont werden muss, dass den früher als „Grundnahrungsmittel" bezeichneten Lebensmitteln wie Mehl, Teigwaren, Obst, Gemüse, Honig keine Farbstoffe zugesetzt werden dürfen. Eine Farbgebung kann dennoch erfolgen, z. B. bei Kalbfleisch durch Erzeugung einer Eisenmangelanämie oder durch Verfütterung von Carotinoiden an Nutztiere und Hühner, deren Eigelb wiederum Teigwaren anfärbt.

32.2.2 Süßungsmittel

„Süßungsmittel" ist die Sammelbezeichnung für „Zuckeraustauschstoffe" und „Süßstoffe". Sofern ein Lebensmittel Süßungsmittel enthält, muss der Hinweis „mit Süßungsmittel" oder bei mehreren Stoffen „mit Süßungsmitteln" in Verbindung mit der Verkehrsbezeichnung erfolgen.

Die zugelassenen Zuckeraustauschstoffe werden durch Reduktion der entsprechenden Hexosen bzw. Pentosen gewonnen: Sorbit (E 420) aus Glucose, Mannit (E 421) aus Fructose, Isomalt (E 953) aus Palatinose, Maltit (E 965) aus Maltose, Laktit (E 966) aus Lactose, Xylit (E 967) aus Xylose und Erythrit (E 968) aus Erythrose. Isomalt (E 953) ist ein Süßungsmittel, das aus Saccharose hergestellt wird. Saccharose wird enzymatisch in 6-O-α-Isomaltulose (Palatinose) umgewandelt und anschließend hydriert. Dabei entstehen die Diastereomere 6-O-α-D-Glucopyranosyl-D-glucit (GPS, Isomaltit) und 1-O-α-D-Glucopyranosyl-D-mannitol (GPM). Der Brennwert liegt bei 2 kcal/g. Isomalt wird jedoch ohne Insulin und lang-

samer verstoffwechselt, was zur Folge hat, dass der Blutzuckerspiegel moderater ansteigt. Es wurde kein ADI festgelegt.

Die Polyole sind zahnfreundlich und für Diabetiker geeignet, sie sind jedoch nicht süßer als Saccharose, nicht kalorienfrei und besitzen eine laxierende Wirkung bei Tagesdosen > 20 g/d.

Mit Stand 2023 sind elf Süßstoffe zugelassen, die kaum (Aspartam, Thaumatin) oder keinen kalorischen Nährwert besitzen. Im Vergleich zu Saccharose weisen diese Stoffe eine erhebliche Süßkraft auf (Faktoren von 30 bis 37 000). Sie werden deshalb in „kalorienarmen Lebensmitteln" (< 50 kcal/100 g Lebensmittel) oder „kalorienreduzierten Produkten" (30 % weniger Kalorien als das entsprechende herkömmliche Lebensmittel) eingesetzt. Die Bezeichnung „light" ist nicht gesetzlich definiert. Die Frage, ob Süßstoffe den sogenannten „cephalischen Insulinreflex" auslösen, d. h. ob durch den süßen Geschmack reflektorisch Insulin ausgeschüttet wird, das über eine Blutzuckersenkung Hungergefühle hervorruft, wird verneint. Dennoch stimuliert Saccharin die Futteraufnahme bei Ferkeln und ist als Zusatz im Futter gestattet.

Acesulfam-K (E 950) ist gut untersucht. Es wird unmetabolisiert über den Urin ausgeschieden. Der ADI-Wert beträgt 9 mg/kg KG (SCF).

Advantam (E 956) – ein Aspartam-Derivat – besitzt eine relative Süßkraft von 20 000 bis 37 000 im Vergleich zu Saccharose. Er wurde im Juni 2014 europaweit zugelassen (Verordnung (EU) Nr. 497/2014). Der ADI wurde auf 5 mg/kg KG festgelegt.

Aspartam (E 951) ist ein Dipeptidester aus Phenylalanin und Asparaginsäure, verestert mit Methanol, der 4 kcal/g an Energie liefert. Der ADI-Wert beträgt 40 mg/kg KG. Höchstgehalte an Diketopiperazin, einem bei der Herstellung anfallenden Umwandlungsprodukt, sind geregelt. Für Patienten mit Phenylketonurie muss ein Hinweis auf Phenylalanin gegeben werden („enthält Phenylalanin"), da dies bei der Aspartamhydrolyse gebildet wird. Da die freie Carboxylgruppe des Phenylalanins mit Methanol verestert ist, wird im Organismus ebenfalls Methanol freigesetzt. Die Mengen sind jedoch auch vor dem Hintergrund anderer Methanolquellen, wie eine endogene Bildung oder durch Freisetzung aus verestertem Pektin bei Kernobstprodukten, zu vernachlässigen. Neurotoxische Effekte der exzitatorischen Aminosäuren Asparaginsäure und Glutaminsäure (Geschmacksverstärker, E 620), die an Babymäusen nach exzessiver Zufuhr beschrieben worden sind, sind bei oraler Gabe üblicher Mengen auszuschließen. Eine Neubewertung von Aspartam durch die EFSA 2013 ergab, dass der gültige ADI-Wert von 40 mg/kg KG (SCF) unbedenklich ist.

Aspartam-Acesulfamsalz (E 962) ist, wie der Name erkennen lässt, ein Salz aus den beiden zugelassenen Süßungsmitteln Aspartam und Acesulfam-K. Es wird aus den beiden Stoffen hergestellt, indem das Kalium-Ion des Acesulfam-K durch Aspartam ersetzt wird. Das Produkt bietet technologische Vorteile. Die gesundheitliche Beurteilung entspricht einer entsprechenden Mischung aus Aspartam und Acesulfam-K. Der ADI liegt derzeit bei 20 mg/kg KG.

Cyclamat (E 952) erzeugt ebenso wie Saccharin in hohen Dosen gegeben im Versuchstier Tumoren, was in den USA zum Verbot führte, später aber als nicht prädiktiv für die Situation beim Menschen angesehen wurde. Cyclohexylamin, das durch Hydrolyse und durch die intestinale Mikroflora aus Cyclamat gebildet werden kann, ist ein indirektes Sympathomimetikum, das bei Ratten und Affen eine testikuläre Atrophie hervorruft. Ausgehend von einem NOAEL von 100 mg Cyclohexylamin/kg KG einer maximalen Umwandlungsrate für Cyclamat von 85 % und einem Sicherheitsfaktor legte der wissenschaftliche Lebensmittelausschuss der EU im Jahr 2000 einen ADI-Wert von 7 mg Cyclamat/kg KG fest.

Neohesperidin Dihydrochalkon (NHDC, E 959) ist ein kalorienfreier Süßstoff, der ursprünglich aus dem bitter schmeckenden Flavonoid Neohesperidin aus Zitrusschalen hergestellt wurde. Er besitzt ein 400- bis 600-fach stärkere Süßkraft als Saccharose. Ein ADI-Wert von 5 mg/kg KG wurde abgeleitet.

Steviosid (E 960) ist seit Dezember 2011 als ein Pulver, das aus der südamerikanischen Pflanze *Stevia rebaudiana* (Süßkraut) gewonnen wird, zugelassen. Dieses enthält Stevioside, das Diterpenglykosid Steviosid, Rebaudiosid-A und 7 bis 10 weitere Stevioglykoside. Stevia hat eine bis zu 300-fach stärkere Süßkraft als Zucker und ist hitzebeständig. 2010 hat die EFSA Steviolglykoside evaluiert und einen ADI von 4 mg/kg KG festgelegt.

Neotam (E 961) wird aus Aspartam und 3,3-Dimethylbutyraldehyd synthetisiert. Seine Süßkraft ist 7 000 bis 13 000 mal stärker als die von Saccharose. Nach einem Gutachten der EFSA ist Neotam als unbedenklich eingestuft und seit 2010 in der EU zugelassen. Der ADI liegt bei 2 mg/kg KG.

Saccharin (E 954) wird seit seiner erstmaligen Herstellung durch Fahlberg (1879) kontrovers diskutiert. Saccharin erzeugte Blasentumoren in Ratten (ab 5–7,5 % im Futter). Saccharin ist nicht genotoxisch, die kanzerogene Wirkung wird auf einen reinen Promotoreffekt zurückgeführt, der auf Störung der Osmolarität, der Produktion von alpha-2-Microglobulin und damit assoziierte Schäden im Urogenitaltrakt der Tiere zurückgeführt wird. Der kanzerogene Effekt stellt daher ein Paradebeispiel für einen kanzerogenen Mechanismus dar, der nicht prädiktiv ist für den Menschen und der erst bei extrem hohen Dosen im Tierversuch auftritt und auf den daher das ADI-Konzept angewendet werden kann. Der ADI-Wert beträgt 5 mg/kg KG.

Sucralose (Trichlorgalactosesaccharose, INS-No. 955) wurde erstmals 1976 synthetisiert, indem drei Hydroxylgruppen der Sucrose durch Chloratome ersetzt wurden. Für den Menschen besitzt Sucralose ungefähr die 500- bis 600-fache Süßkraft von Zucker ohne Neben- und Nachgeschmack. Der Süßgeschmack ist sehr nachhaltig. Sucralose ist sehr stabil bei der Verarbeitung bei hohen Temperaturen (Backen, Pasteurisieren) und bei Langzeitlagerung. Nach oraler Zufuhr werden 8–22 % resorbiert und ohne Energiegewinn metabolisiert oder im Urin ausgeschieden. Der Süßstoff besitzt keinen physiologischen Brennwert. Überraschenderweise wirkt Sucralose bei Ratten appetithemmend; aufgrund verminderter Futteraufnahme fand sich eine verzögerte Gewichtsentwicklung, wodurch die toxikologische Bewertung erschwert wurde. Umfangreiche Studien an gesunden Probanden und an Diabetikern ergaben jedoch keine bedenklichen Befunde. Daher hat der wissenschaftliche Lebensmittelausschuss der EU im Jahr 2002 einen ADI-Wert von 15 mg/kg KG festgelegt.

Thaumatin (E 957) ist ein kalorienarmer Proteinsüßstoff, der vollständig metabolisiert wird und für den kein ADI festgelegt wurde.

32.2.3 Konservierungsmittel

Konservierungsstoffe schützen Lebensmittel vor mikrobiellem Verderb.

Sorbinsäure (E 200) und Kaliumsorbat (E 202) wirken in saurem Milieu gegen Hefen, Bakterien und Schimmelpilze. Natriumsorbat (E 201) und Calciumsorbat (E 203) sind in der EU nicht mehr zugelassen. Nach oraler Gabe werden die Sorbate metabolisiert und sind toxikologisch unbedenklich. Der Summen-ADI-Wert beträgt 25 mg Sorbat/kg KG.

Die Benzoesäure und ihre Salze (Na-, K- und Ca-Benzoate, E 210–213) wirken ebenfalls nur in sauren pH-Bereichen (pH < 4,5). Benzoesäure ist ein Intermediärprodukt im Phenylalanin-Tyrosin-Stoffwechsel. Der Hauptentgiftungsweg ist die Bildung eines Glycinkonjugates (Hippursäure), d. h., Glycin ist der begrenzende Faktor für die Ausscheidung und damit für die akute Toxizität. Da die Versorgung mit Glycin in der Wachstumsphase des Organismus als kritische Größe gilt, wurden Teratogenitätsstudien durchgeführt, die keine bedenklichen Befunde ergaben. Der Summen-ADI ist 5 mg Benzoat/kg KG.

Die Ethyl- und Methylester der *p*-Hydroxybenzoesäure und ihrer Salze (E 214, 215 und 281, 219), abgekürzt PHB-Ester, wirken weitgehend pH-unabhängig und werden deshalb auch zur Konservierung von Fertigarzneien und Kosmetika eingesetzt. Die PHB-Ester werden enteral resorbiert und in Leber und Niere hydroxyliert. Die gebildete *p*-Hydroxybenzoesäure wird als solche, als *p*-Hydroxyhippursäure, Glucuronid oder Sulfat im Urin ausgeschieden. Bei Applikation auf die Haut sind die PHB-Ester potente Allergene; wobei nicht bewiesen ist, ob allergische Reaktionen durch orale Provokation ausgelöst werden können. E 216 und E 217 (-propylester) sind seit 2006 in der EU nicht mehr zugelassen. Der Summen-ADI für PHB-methyl und -ethylester beträgt 10 mg/kg KG.

Die schweflige Säure (E 220–228) ist ein multifunktioneller Zusatzstoff mit antimikrobieller und antioxidativer Wirkung. Die in Fütterungsversuchen beobachteten Schäden an Nervensystem, Knochengewebe und Fortpflanzungsorganen sind auf einen alimentären Thiaminmangel zurückzuführen: Dieses Vitamin wird durch SO_2 inaktiviert. Nach oraler Gabe von schwefliger Säure sind in subakuten Studien Magenläsionen bei verschiedenen Tierspezies beobachtet worden; der NOAEL beträgt bei Schwein und Ratte 70 mg SO_2/kg KG; hieraus leitet sich ein ADI-Wert von 0,7 mg SO_2/kg KG ab. Überempfindlichkeitsreaktionen sollen bei 5–10 % aller Asthmatiker auftreten („Sulfit-Asthma"); lebensbedrohliche Reaktionen sind selten. Trotzdem sollte der Einsatz eingeschränkt und zugesetzte Sulfite deklariert werden. Die Kennzeichnung „enthält Sulfite" bzw. „enthält Schwefeldioxid" ist nach Art. 3 Abs. 3 der Wein-Marktorganisations-Durchführungsverordnung – VO (EG) 753/2002 – bei Konzentrationen von mehr als 10 mg/l verbindlich vorgeschrieben.

Dimethyldicarbonat (E 242, DMDC) ist ein Konservierungsstoff, der in Kaltgetränken eingesetzt wird. Es handelt sich um ein Kaltentkeimungsmittel, das die Gärhefen inaktiviert und somit eine Gärung der Getränke verhindert. Nach einiger Zeit bildet sich aus DMDC Methanol und Kohlendioxid. Einen ADI existiert nicht.

Propionsäure/Propansäure (E 280) und ihre Salze (Na-, Ca- und K-Benzoate, E 281–283) werden als Konservierungsstoffe verwendet. Häufig werden die Salze der Propionsäure z. B. für Schnittbrote verwendet, da sie angenehmere sensorische Eigenschaften als Propionsäure aufweisen. Ein ADI existiert nicht. Die Re-Evaluierung der EFSA im Jahr 2014 ergab keine Bedenken bei den derzeitigen Aufnahmemengen.

32.2.4 Antioxidanzien

Antioxidanzien dienen dem Schutz vor oxidativem Verderb. Ihre Wirkung beruht auf ihrer Fähigkeit, Radikale abzufangen, wobei sie selbst inaktiviert werden. Synergisten wie Ascorbinsäure können durch Wasserstoffübertragung eine Reaktivierung bewirken oder wirken als Komplexbildner (Citronensäure, EDTA, Weinsäure, Phosphorsäure) und fangen katalytisch aktive Radikalstarter (z. B. Metallionen) ab. Zu den natürlichen Antioxidanzien zählen Ascorbinsäure, Carotinoide und Tocopherole. Die synthetischen Antioxidanzien wie Gallate, BHT und BHA kommen in der Natur nicht vor und werden industriell hergestellt.