

**Wissenschaftliche Begründung  
zur Berufskrankheit Nummer 1318**

**„Erkrankungen des Blutes, des blutbildenden und des lymphatischen Systems durch  
Benzol“**

Bek. des BMAS vom 1. September 2007 – IVa 4-45222 –  
GMBI 49-51/2007, S. 974 ff.

Der Ärztliche Sachverständigenbeirat "Berufskrankheiten" beim Bundesministerium für Arbeit und Soziales hat empfohlen, in die Anlage 1 zur Berufskrankheiten-Verordnung eine neue Berufskrankheit mit der vorgenannten Legaldefinition aufzunehmen.

Diese Empfehlung wird wie folgt begründet:

Angesichts der Heterogenität der bisher unter der Nummer 1303 der Anlage zur Berufskrankheiten-Verordnung „Erkrankungen durch Benzol, seine Homologe oder Styrol“ zusammengefassten Krankheitsbilder und der sie verursachenden Chemikalien ist es erforderlich, die durch Benzol verursachten Erkrankungen des Blutes, des blutbildenden und des lymphatischen Systems aus dieser Nummer auszugliedern und als eigene Berufskrankheit zu umreißen.

Die Berufskrankheit umfasst sowohl toxische Schädigungen (aplastische Anämie, Leukopenien, Thrombozytopenien und ihre Kombinationen) als auch maligne Erkrankungen (Leukämien, Non-Hodgkin-Lymphome, myelodysplastische Syndrome und myeloproliferative Erkrankungen).

Der Morbus Hodgkin ist nicht Gegenstand dieser wissenschaftlichen Begründung.

In der Begutachtungspraxis und bei den Rechtsanwendern herrschte und herrscht Konsens, dass „infolge seines patho-physiologischen Schädigungsmusters mit einer Alteration des hämatopoetischen Stammzellpooles Benzol **alle** malignen hämolympathischen Systemerkrankungen, deren Zellreihen sich von der omnipotenten Stammzelle ableiten, verursachen kann: Expositionsbedingungen mit langjähriger, chronischer beruflicher Benzolbelastung müssen vorliegen“ (Schönberger et al. 1998, 2003). In 2001 erschienen in der deutschsprachigen arbeitsmedizinischen Literatur Artikel (Hoffmann et al. 2001, Tannapfel et al. 2001), die demgegenüber in Frage stellten, ob Benzol in reifen Lymphozyten eine ausreichende kanzerogene Wirkung entfalten kann, um periphere Non-Hodgkin-Lymphome zu verursachen; diesen folgte eine Entgegnung durch Weitowitz et al. (2003). Der Ärztliche Sachverständigenbeirat, Sektion Berufskrankheiten, hat diese Wissenschaftliche Begründung zum Anlass einer Überprüfung und Klarstellung genommen. Die Non-Hodgkin-Lymphome wurden daher im vorliegenden Text mit besonderer Ausführlichkeit behandelt.

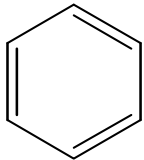
Die Empfehlung des Ärztlichen Sachverständigenbeirats wird wie folgt begründet:

1. Aktueller Erkenntnisstand	3
1.1. Chemisch-physikalische Charakteristik der ursächlich schädigenden Einwirkung	3
1.2. Vorkommen und Gefahrenquellen	3
1.3. Kenntnisse zur Wirkung am Menschen	4
1.3.1. Pathomechanismen	4
1.3.1.1. Aufnahme und Stoffwechsel	4
1.3.1.2. Molekularbiologisch-onkologische Aspekte	11
1.3.1.3. Zytogenetische Untersuchungen an Lymphozyten benzolexponierter Menschen	14
1.3.1.4. Übertragbarkeit tierexperimenteller Befunde auf den Menschen	16
1.3.1.5. Zusammenfassung der experimentell-toxikologischen und hämatologisch-onkologischen Erkenntnisse	18
1.3.2. Krankheitsbilder und Diagnosen	21
1.3.2.1. Unter dieser Berufskrankheit erfasste Krankheitsbilder	21
1.3.2.2. Hämatologische Aspekte	22
1.3.2.3. Toxikologische Aspekte der Benzolwirkung	27
1.3.3. Epidemiologische Befunde	29
2. Validität und Reliabilität der vorliegenden epidemiologischen Erkenntnisse	38
2.1. Methodische Aspekte	38
2.2. Zusammenfassende Bewertung der epidemiologischen Befunde	44
3. Abgrenzung der „bestimmten Personengruppe“ gemäß § 9 (1) SGB VII	58
3.1. Grundsätzliches	58
3.2. Spezielle Hinweise zur Intensität der Benzolbelastung	60
3.2.1. Definition der bestimmten Personengruppe für die Krankheitsbilder	60
3.2.2. Beschreibung und Klassifizierung relevanter Expositionsverhältnisse	61
3.2.2.1. Extreme Belastungsintensität (Expositionsintensität)	62
3.2.2.2. Hohe Belastungsintensität	62
3.2.2.3. Mittlere Belastungsintensität	63
3.2.2.4. Geringe Belastungsintensität	63
3.3. Definition der bestimmten Personengruppe für die Krankheitsbilder	64
3.4. Sonstige Hinweise	64
4. Literaturverzeichnis	65

## 1. Aktueller Erkenntnisstand

### 1.1. Chemisch-physikalische Charakteristik der ursächlich schädigenden Einwirkung

Benzol (C<sub>6</sub>H<sub>6</sub>)



Molekulargewicht 78,11

Dampfdruck bei 20 °C 76 Torr

Strukturformel von Benzol

Benzol ist der einfachste aromatische Kohlenwasserstoff. Es ist in praktisch allen fossilen Brennstoffen enthalten und fällt u. a. bei der Destillation von Kohle und Erdöl sowie bei der Pyrolyse von organischem Material an.

### 1.2. Vorkommen und Gefahrenquellen

Benzol wurde in großem Umfang als Löse- und Reinigungsmittel in u. a. Druckereien, Waffenfabriken, metallverarbeitenden und anderen Betrieben sowie als Verdünner von flüssigen Klebern - insbesondere für die Herstellung von Schuhen - verwendet. Wegen seiner krebserregenden Wirkungen ist der Gebrauch inzwischen stark eingeschränkt. Allerdings gehen noch viele organische Synthesen von Benzol aus. Als erdölbedingter Begleitstoff ist Benzol praktisch immer in Autokraftstoffen als Antiklopfmittel enthalten. Wegen seiner geringeren Flüchtigkeit reichert es sich in „Reinigungsbenzin“ an (Henschler 1992). Mit Benzolexposition ist daher u. a. in der erdölverarbeitenden Industrie, bei der Herstellung und dem Vertrieb von Kraftstoffen sowie beim Betrieb, der Wartung und der Reparatur von Verbrennungsmotoren zu rechnen.

Benzol als Handelsprodukt ist fast immer ein **Gemisch**. Häufig enthalten die im technischen Bereich verwendeten Homologe des Benzols zudem reines Benzol. Obwohl heute am Arbeitsplatz nur noch Zubereitungen verwendet werden dürfen, die weniger als 0,1 % Massengehalt Benzol enthalten und auch der Benzolgehalt in Kraftstoffen auf unter 1 % beschränkt ist, muss man im Hinblick auf Berufskrankheiten-Fragestellungen bedenken, dass in früheren Jahrzehnten der Benzolgehalt von technischen Benzingemischen auch ohne entsprechende Kennzeichnung bis zu 30 % oder höher betragen konnte.

Im Rahmen von retrospektiven Expositionsabschätzungen ist daher der Benzolgehalt der verwendeten Benzin- und Lösemittelgemische von großer Bedeutung.

Einen Überblick zu den wichtigsten benzolhaltigen Produkten, Beschichtungsstoffen, Oberflächenbehandlungsmitteln und zur Verwendung von Benzol in zahlreichen Industrie- und

Gewerbebereichen bieten die „Anwendungshinweise zur retrospektiven Beurteilung der Benzolexposition“ in der jeweils aktuellen Fassung des BGIA-Ringbuchs unter der Nr. 9105 (BGIA 2006), wobei in der derzeitigen Fassung für die retrospektive Schätzung bei besonders intensivem Hautkontakt mit Benzol kein ausreichender Hinweis gegeben werden kann.

### **1.3. Kenntnisse zur Wirkung am Menschen**

Seit dem Ende des 19. Jahrhunderts ist bekannt, dass sich Benzol bei wiederholter, langdauernder, aber unter Umständen auch bei einmaliger massiver Einwirkung als Blutgift erweist. In Deutschland wurden daher bereits im Jahre 1925 Erkrankungen durch Benzol in die Liste der Berufskrankheiten aufgenommen. Die zugrunde liegende toxische Wirkung des Benzols auf das blutbildende Knochenmark äußert sich in der Regel in einer Reduktion der Zahl der Blutkörperchen im peripheren Blut. Diese Verminderung kann die weißen Blutzellen (Leukozyten), die roten Blutzellen (Erythrozyten) und die Blutplättchen (Thrombozyten) einzeln oder in Kombination betreffen (Lan et al. 2004). Während die knochenmarksdepressive Wirkung des Benzols in den meisten Fällen reversibel ist und sich das Blutbild nach Abbruch der Exposition (u. U. erst nach Jahren) normalisiert, können vereinzelt schwere irreversible Erkrankungen auftreten, die als **aplastische Anämie** bezeichnet werden, und in den Geltungsbereich dieser neuen Berufskrankheit fallen.

Seit mehreren Jahrzehnten ist erwiesen, dass es sich bei Benzol auch um einen humankanzerogenen Arbeitsstoff handelt. Benzol wurde 1971 von der Senatskommission zur Prüfung gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe der Deutschen Forschungsgemeinschaft als K1 Stoff und 1982 von der International Agency for Research on Cancer (IARC) der Weltgesundheitsorganisation (WHO) als gesichert krebserzeugend für den Menschen eingestuft.

Die krebserzeugende Wirkung wird von Stoffwechselprodukten verursacht, die im Organismus beim Benzolabbau gebildet werden. Als systemisches Kanzerogen verursacht Benzol im Tierversuch Tumoren unterschiedlicher Lokalisation (NTP 1986, Maltoni et al. 1989, Huff et al. 1989). Entsprechend gibt es auch beim Menschen Hinweise auf benzolbedingte Risikoerhöhungen für Krebserkrankungen der Niere, des Magens, des Dickdarms und der Lunge (Mehlman 2004). Da die Datenlage bezüglich solcher Tumorlokalisationen jedoch bislang unzureichend und uneinheitlich ist, sind diese ausdrücklich nicht Gegenstand der vorliegenden Empfehlung.

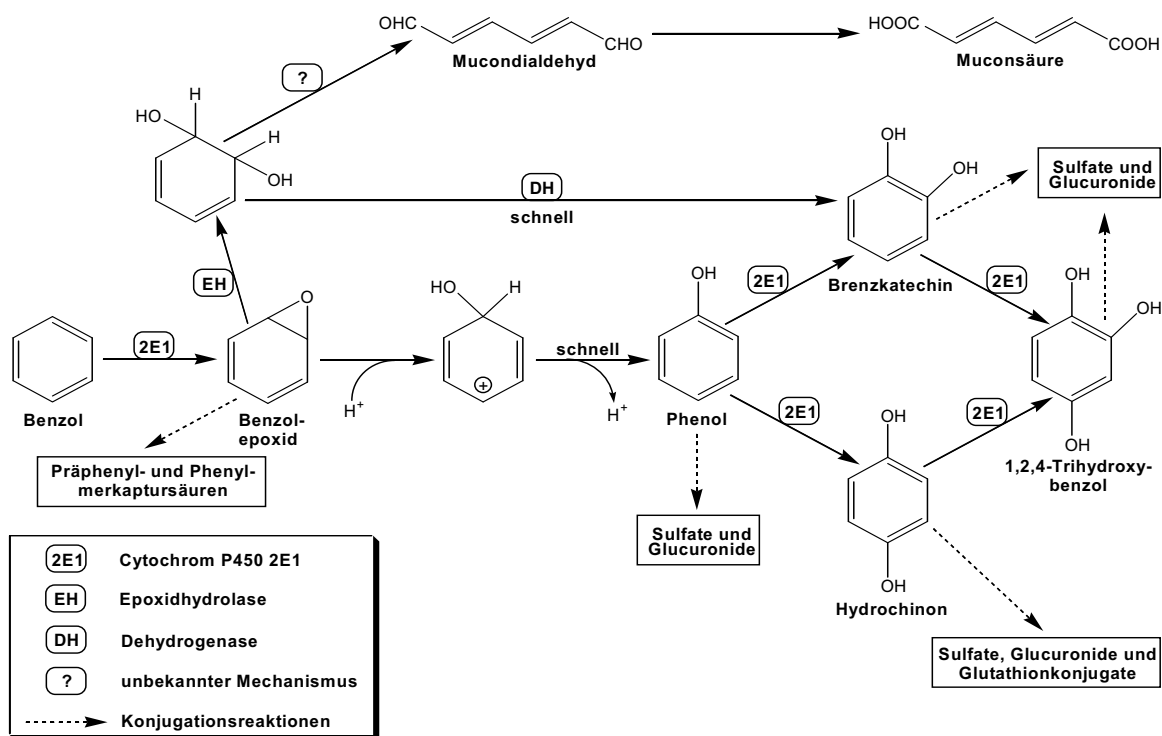
#### **1.3.1. Pathomechanismen**

##### **1.3.1.1. Aufnahme und Stoffwechsel**

Die Aufnahme von Benzol am Arbeitsplatz erfolgt überwiegend inhalativ. Benzol wird gut resorbiert und verteilt sich schnell im gesamten Organismus. Da es sich bei Benzol um einen hautresorptiven Gefahrstoff handelt (Kennzeichnung mit „H“ in der aktuellen Liste der MAK- und BAT-Werte der DFG) ist darüber hinaus die Aufnahme durch die Haut zu berücksichtigen. Eine zusammenfassende Auswertung der zur dermalen Exposition vorliegenden Literatur ergab, dass für offenen Hautkontakt eine dermale Penetrationsrate von bis zu 1 mg/cm<sup>2</sup>/h, für semiokklusive oder okklusive Verhältnisse

(durchtränkte Arbeitskleidung oder Benzol auf der Innenseite von Schutzhandschuhen) allerdings die doppelte Penetrationsrate mit 2 mg/cm<sup>2</sup>/h angesetzt werden kann (Korinth et al. 2005). Dies stellt eine worst-case-Abschätzung dar. Es ist zu berücksichtigen, dass die Studienpopulationen in den vorliegenden epidemiologischen Studien über Benzol alle auch dermal exponiert waren, obwohl in der Regel nur die inhalative Expositionskonzentration angegeben ist. Daher sollte die dermale Exposition vornehmlich dann besondere Berücksichtigung finden, wenn der Hautkontakt das übliche Maß überschritten hat.

Die Oxidation von Benzol zu reaktiven Zwischenprodukten ist eine Voraussetzung für dessen Toxizität. Primäres Organ dieses Stoffwechsels ist die Leber. Eine Übersicht über den hepatischen Benzolstoffwechsel zeigt **Abb. 1**.



**Abb. 1:** Benzol-Metabolismus in der Leber nach Lovern et al. (2001). Die Bildung kanzerogener Metabolite erfolgt ausgehend von den hier gebildeten oxidativen Metaboliten Hydrochinon, Brenzkatechin und 1,2,4-Trihydroxybenzol, katalysiert durch Peroxidasen. Die sehr kurzlebigen Intermediate sind nicht benannt.

Als erstes Zwischenprodukt wird das Benzolepoxid gebildet, woraus spontan Phenol entsteht. In einem zweiten Stoffwechselweg entsteht aus Benzolepoxid das Brenzkatechin (Catechol). Es kann dabei intermediär eine Ringöffnung erfolgen; als Produkt entsteht die *trans,trans*-Muconsäure (Inoue et al. 1989). Ein reaktives Zwischenprodukt ist hierbei das *trans,trans*-Mucondialdehyd, welches bislang lediglich *in vitro*, aber nicht *in vivo* nachgewiesen worden ist (Latriano et al. 1986). Die ringoffenen

Metabolite machen allerdings nur einen geringen, jedoch in Abhängigkeit von der Expositionshöhe unterschiedlichen, Anteil der Stoffwechselprodukte von Benzol aus (Rothman et al. 1998).

Phenol hydroxyliert weiter zu Hydrochinon, Brenzkatechin (Catechol), 1,4-Benzochinon und Trihydroxybenzol (Lovern et al. 2001). Benzochinon und Hydrochinon können über epigenetische Mechanismen klastogen wirken: 1,4-Benzochinon hemmt die Bildung von Tubulin (Irons et al. 1981) und Hydrochinon die Topoisomerase II (Eastmond et al. 2005). Phenolische Metaboliten des Benzols führen zur Bildung reaktiver Sauerstoffspezies (ROS) und verursachen oxidative DNA-Schäden. Die Oxidation und nachfolgende Hydroxylierung wird durch Cytochrom P450-abhängige Monooxygenasen katalysiert, insbesondere Cytochrom P450 2E1 (CYP2E1). Die Bedeutung dieses Isoenzym für die gesundheitsschädlichen Wirkungen von Benzol wird dadurch unterstrichen, dass eine fehlende CYP2E1-Aktivität in transgenen Mäusen zu einer Reduktion der Benzoltoxizität führte (Valentine et al. 1996). Ethanol verstärkt (induziert) zudem den Benzolmetabolismus, insbesondere durch Steigerung der CYP2E1-Aktivität (Nakajima et al. 1985, Sato und Nakajima 1985, Johansson und Ingelman-Sundberg 1988). Somit ist der CYP2E1 vermittelte Metabolismus ein wesentlicher Schritt für die Benzoltoxizität und Kanzerogenität.

Bei steigender Benzolbelastung wird ein zunehmend geringerer Anteil in Form von Metaboliten mit dem Harn ausgeschieden, während der als unverändertes Benzol abgeatmete Teil zunimmt. Die lineare Extrapolation von hohen auf niedrige Benzolkonzentrationen führt daher zu einer **Unterschätzung** der krebserzeugenden Wirkung niedriger Expositionen (Lovern et al. 2001).

Die oxidativen Stoffwechselprodukte unterliegen in der Phase II des Fremdstoffwechsels verschiedenen entgiftenden Konjugationsschritten, die von Sulfatasen, Glukuronidasen oder Glutathion-S-transferasen (GST) katalysiert werden. Hierdurch entstehen Phenylsulfat, verschiedene Glukuronkonjugate und Phenylmerkaptursäuren.

Die Frage, warum Benzol, jedoch nicht Phenol, hämatotoxisch ist, dürfte eine Folge der lokalen Verteilung der Stoffwechselaktivität im Lebergewebe sein. Exogen zugeführtes Phenol wird bereits im Gastrointestinaltrakt (bei oraler Aufnahme) oder im periportalen Bereich konjugiert und damit entgiftet. Im Körper aus Benzol gebildetes Phenol wird jedoch in der Leber erst in einem nachgeschalteten Areal, nämlich zentrilobulär, gebildet, so dass es der Konjugation weitgehend entgeht (Medinsky et al. 1996).

Die Gewebeverteilung der Stoffwechselaktivität ist heterogener als bislang angenommen. In der Leber wird nur 2% des Benzols, allerdings bei größerer metabolischer Kapazität, zu Hydrochinon umgewandelt, im Lungengewebe dagegen 39% (Chaney und Carlson 1995). Offenbar muss daher dem Stoffwechsel in der Lunge größere Beachtung geschenkt werden. Systematische Untersuchungen zur Organverteilung möglicher alkylierender Wirkungen von Benzol, die zur Klärung dieser Fragen beitragen können, sind selten. Die Analyse von Benzol-Addukten in B6C3F<sub>1</sub> Mäusen nach Injektion von 25-880 mg / kg KG mit <sup>32</sup>P-Postlabelling führte zur Identifizierung von N<sup>2</sup>-(4-Hydroxyphenyl)-2'-deoxyguanosin-3'-phosphat. Das Addukt war in Knochenmarkszellen **und** in peripheren mononukleären Blutzellen nachweisbar (Bodell et al. 1996).

Auffälligstes Zielorgan für die toxischen und krebserzeugenden Wirkungen von Benzol ist das blutbildende Knochenmark. Bei dem blutbildenden Knochenmark handelt es sich toxikokinetisch um ein „tiefes Kompartiment“, welches für Schadstoffe schwer zugänglich ist. Zur Illustration sei darauf hingewiesen, dass in der Chemikalien- und Arzneistoffprüfung für tierexperimentelle Studien, die Zielzellen im Knochenmark nutzen (z.B. Mikrokerntest aus dem Mäusefemur), der Nachweis verlangt wird, dass die Testsubstanz in das Knochenmark gelangen kann. **Im Umkehrschluss ist daher davon auszugehen, dass Metabolite, die im Knochenmark toxische Wirkungen entfalten, jedes hydrophile Kompartiment des Körpers erreichen.** Das aus Benzol gebildete Benzolepoxid war bei (allerdings) 400 mg/kg hoher inhalativer Exposition von Ratten stabil genug, um das Knochenmark zu erreichen (Lindstrom et al. 1997). Nach Benzolexposition von Mäusen und Ratten wurden Hämoglobinaddukte und Albuminaddukte des Benzolepoxids im Blut, Knochenmark und Harn der Tiere nachgewiesen (Krewet et al. 1993, McDonald et al. 1994). Creek et al. (1997) wiesen mit <sup>14</sup>C-markiertem Benzol in Mäusen nach, dass eine Bindung an die DNA und an Proteine bereits bei so niedrigen Benzolkonzentrationen in der Atemluft erfolgt, wie sie der umweltbedingten Belastung des Menschen entspricht. Bei niedrigen Benzolkonzentrationen war die DNA-Bindung linear zur applizierten Konzentration, die Proteinbindung annähernd linear. Albuminaddukte des Epoxids konnten im Harn benzolexponierter Menschen nachgewiesen werden (Bechtold et al. 1992). Eine Identifizierung dieser Bindungsprodukte war allerdings nicht möglich.

Die in der Leber gebildeten Benzolmetaboliten verteilen sich somit im **gesamten** Körper. Nachdem sie unter anderem das Knochenmark erreicht haben, werden Hydrochinon, Brenzkatechin (Catechol) und 1,2,4-Trihydroxybenzol durch Peroxidasen zu reaktiven Intermediaten umgewandelt, die an die DNA und an andere Makromoleküle binden können. 1,4-Benzochinon wird als die wichtigste Ausgangsverbindung für die Hämatotoxizität und Leukämogenität angesehen. Aus Benzochinon oder Hydrochinon entstehen durch Peroxidase-katalysierte Elektronenübertragung freie Radikale, die über vielfältige Mechanismen DNA schädigen können. Wegen der Kurzlebigkeit dieser Intermediate und dem resultierenden Fehlen nennenswerter Mengen an DNA-Addukten gelang es bislang nicht, einen dieser Metabolite zu identifizieren. **Abb. 2** gibt eine Übersicht über den hepatischen und den extrahepatischen (insbesondere knochenmarksständigen) Metabolismus von Benzol wieder.

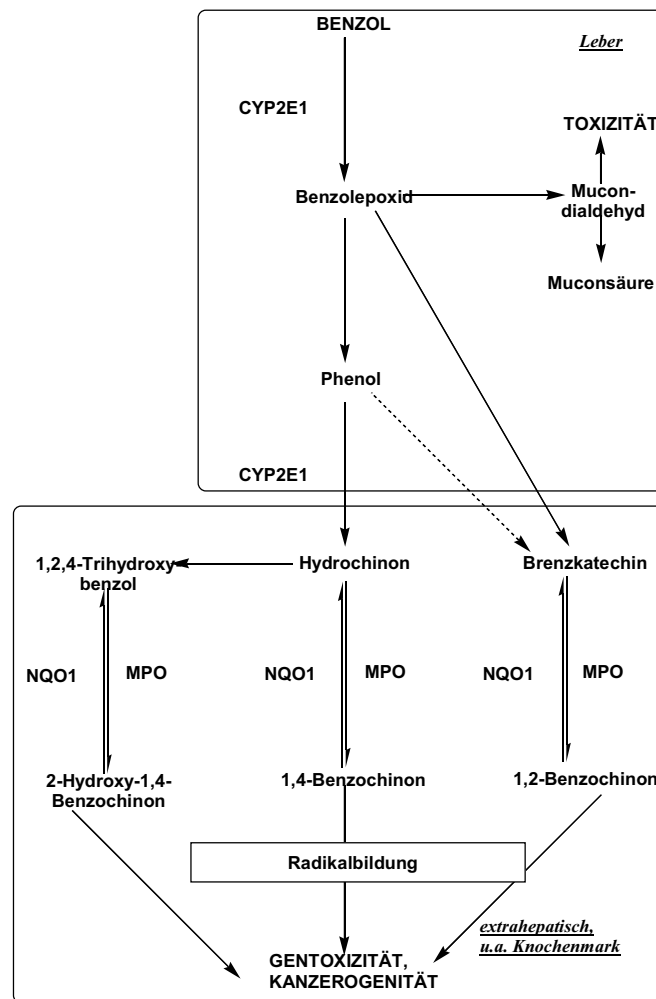


Abb. 2: Benzol-Metabolismus nach Rothman et al. (1997). CYP2E1 = Cytochrom P450 2E1, NQO1 = Chinonoxidoreduktase 1, MPO = Myeloperoxidase

Wegen der großen exprimierten Mengen in verschiedenen weißen Blutzellen wird der Myeloperoxidase (MPO) eine wesentliche Rolle bei dieser Aktivierung zugeschrieben. Die Myeloperoxidase ist ein neutrophiles Protein und wird zu den Hämproteinen gerechnet. Sie ist in neutrophilen Granulozyten und in Monozyten lokalisiert, von wo sie u.a. bei der Phagozytose freigesetzt wird. Physiologisch katalysiert MPO im Rahmen körpereigener Abwehrreaktionen die Reaktion von Wasserstoffperoxid und Chlorid zu dem hoch toxischen Hypochlorid, das u. a. bakterizid und nematozid wirkt. In Anwesenheit von Wasserstoffperoxid kann MPO jedoch auch phenolische Verbindungen zu radikalischen Intermediaten umsetzen.

Myeloperoxidase liegt sowohl in CD34<sup>+</sup> Vorläuferzellen, wie auch in peripheren Neutrophilen und Monozyten inaktiv und streng kompartimentiert in Granula vor und wird beispielsweise während entzündlicher Reaktionen aktiviert. Durch Myeloperoxidase katalysierte Reaktionen benötigen H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

als Co-Substrat (Winterbourn und Kettle 2004).  $H_2O_2$  und Myeloperoxidase werden parallel an Orten der Immunabwehr durch Zellen des natürlichen (angeborenen) Immunsystems induziert; insbesondere auch in peripheren Zellen, u.a. in Monozyten und Neutrophilen. Auch im Knochenmark bedarf es erst der Induktion der Myeloperoxidase. Ob und wie Myeloperoxidase durch Benzol oder seine Metabolite aktiviert wird, ist bislang nicht bekannt. Weiterhin kann nicht ausgeschlossen werden, dass auch andere Peroxidasen Benzolmetabolite aktivieren können.

Myeloperoxidase katalysiert eine Vielzahl von Oxidationsreaktionen, die für die antimikrobielle Abwehr wesentlich sind. Vornehmlich werden halogenierte (chlorierte) Verbindungen oxidiert, wobei Hypochlorsäure als Hauptprodukt der Myeloperoxidase entsteht. Allerdings ist dies auch mit einer entzündungsfördernden Wirkung verbunden; daher wird die Myeloperoxidase mit der Pathogenese einer Reihe von entzündlichen Erkrankungen, u.a. dem Reperfusionsschaden nach Ischämie, dem Atemnotsyndrom RDS (respiratory distress syndrome), der Glomerulonephritis, der Arthritis, dem peptischen Ulcus und dem Magenkarzinom in Verbindung gebracht. Verschiedene seltene genetische Varianten der MPO ohne oder mit verminderter Aktivität werden beschrieben. Auswirkungen auf die Empfindlichkeit gegenüber Benzol sind nicht bekannt (Winterbourn et al. 2000).

Das Enzym NAD(P)H-Chinonoxidoreduktase 1 (NQO1) reduziert 1,4-Benzochinon zurück zum Hydrochinon. Entsprechendes gilt auch für die Benzochinon-Analoga von Brenzkatechin und Trihydroxybenzol. Dies stellt einen wesentlichen Entgiftungsmechanismus für die gentoxischen Chinone dar. Normalerweise ist im Knochenmark des Menschen keine Aktivität der NQO1 nachweisbar. Benzolmetabolite induzieren jedoch die NQO1-Aktivität drastisch (Moran et al. 1999).

Die Toxizität im Vorläuferzell-(Stammzell-) Kompartiment des Blutsystems ist für die Entwicklung der mit der Benzolexposition assoziierten hämato-lymphatischen Störungen von wesentlicher, wenn auch nicht ausschließlicher, Bedeutung (Bonnet und Dick 1997). Die Empfindlichkeit der Stammzellen für die durch Benzolmetabolite induzierte Toxizität wird einerseits auf die hohe Expression von Myeloperoxidase (Strobl et al. 1993, Schattenberg et al. 1994) zurückgeführt. Andererseits wird diese Wirkung durch eine schwache Entgiftung bei mangelnder Expression von NQO1 (Ross et al. 1996, Trush et al. 1996, Ganousis et al. 1992) verstärkt. Möglicherweise spielt beim Menschen auch Glutathion für die Entgiftung eine Rolle (Li et al. 1994).

Zur Veranschaulichung der entscheidenden Stoffwechselforgänge und der Rolle der Enzyme CYP2E1, Myeloperoxidase (MPO) und Chinonoxidoreduktase (NQO1) ist in **Abb. 3** eine stark vereinfachte Zusammenfassung der Stoffwechselwege wiedergegeben.

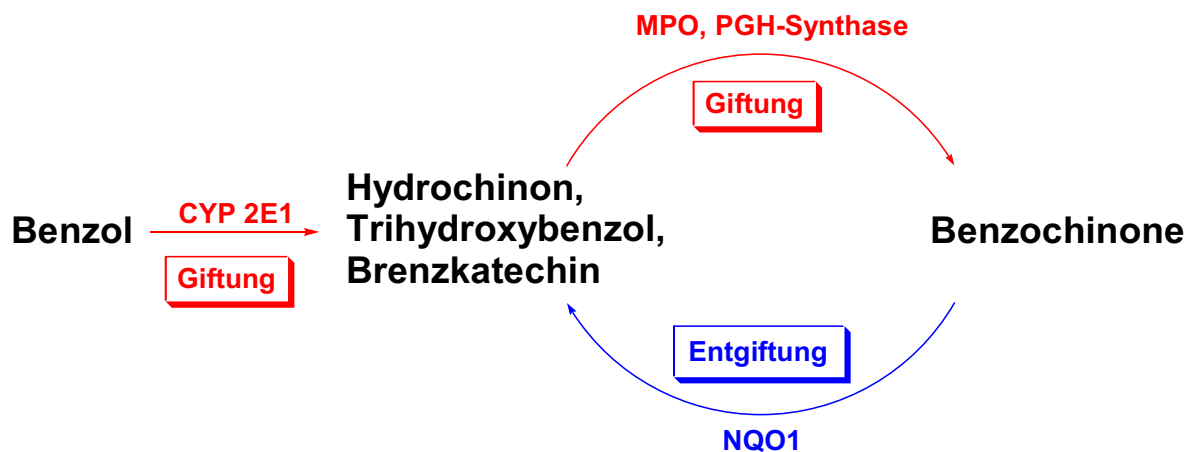


Abb. 3: Stark vereinfachtes Stoffwechselschema von Benzol mit einer Fokussierung auf die für die tumorerzeugende Wirkung wesentliche Bildung von Benzochinonverbindungen. Aus den Benzochinonen entstehen im Knochenmark oder im lymphatischen Gewebe gentoxische Radikale. Näheres siehe Abschnitt 1.3.1.2: Molekularbiologisch-onkologische Aspekte

Weitere Peroxidasen, die zur Oxidation der phenolischen Metabolite beitragen, sind die Prostaglandin-H-Synthase (Gaido und Wierda 1987) und die eosinophile Peroxidase. Die Prostaglandinsynthase, die als Teilaktivitäten die Cyclooxygenase und die Hydroperoxidase einschließt, kommt in praktisch allen Zellen vor, insbesondere auch in Makrophagen und Lymphozyten. Phenol und Hydrochinon sind Cofaktoren und Aktivatoren der Prostaglandin-H-Synthase. Phenole werden von dem Enzym als Reduktionsmittel bei der Oxidation von Arachidonsäure benutzt. Dabei entstehen Semichinon und Benzochinon (Eling et al. 1990, Marnett 1990). Neben der Bildung dieser gentoxischen Produkte ist von Bedeutung, dass Produkte von Prostaglandinsynthase-katalysierten Reaktionen, insbesondere Prostaglandin E<sub>2</sub>, eine in epithelialen Tumorsystemen nachgewiesene promovierende Wirkung entfalten (Levy 1997, Williams et al. 1999).

Ein Beleg für die Bedeutung der Prostaglandin-H-Synthase für die toxische und kanzerogene Wirkung von Benzol ist die wiederholte Beobachtung, dass Inhibitoren der Prostaglandin-H-Synthase, insbesondere Indometazin, in vivo die toxische Wirkung von Benzol auf das blutbildende System hemmen (Gaido und Wierda 1987, Kalf et al. 1989).

Sowohl die Myeloperoxidase als auch die Prostaglandin-H-Synthase sind im Organismus des Menschen und anderer Spezies Schlüsselenzyme im **alltäglichen Entzündungsgeschehen**. Entzündungsreaktionen lassen sich experimentell durch Phorbolacetat (PMA) oder bakterielles Lipopolysaccharid (LPS) stimulieren. Die Interaktion zwischen Entzündungsreaktionen und der gentoxischen Wirkung von Benzol konnte so in Knochenmarkszellen wie auch in peripheren Lymphozyten in vitro und in vivo nachgewiesen werden. Durch Gabe von PMA bei den in vitro-Versuchen wurde ein „oxidative burst“ in den Knochenmarkszellen und Lymphozyten induziert.

Gentoxische Effekte wurden durch Bestimmung von 8-Oxo-desoxyguanosin und dem Nachweis von DNA-Strangbrüchen mittels Comet-Assay quantifiziert. Die kombinierte Verabreichung von PMA bzw. LPS und Benzol verursachte signifikant höhere gentoxische Effekte in vitro und in vivo als in der Summe der durch PMA/LPS oder Benzol allein induzierten Wirkung (Tuo et al. 1999).

Genetische Polymorphismen der beteiligten Enzyme spielen eine wesentliche Rolle für das individuelle Risiko der Benzoltoxizität. Das Enzym NAD(P)H-Chinonoxidoreduktase 1 (NQO1) reduziert das Chinon (siehe oben). Ein Polymorphismus (C gegen T an der Position 609) führt bei homozygoten Merkmalsträgern zu einem vollständigen Verlust der Enzymaktivität (Moran et al. 1999). Eine erhöhte Hämatotoxizität bei benzolexponierten Arbeitern mit diesem Polymorphismus wurde beschrieben: Eine Fallkontroll-Studie an 11.117 benzolexponierten Beschäftigten in China zeigte ein erhöhtes Risiko für Hämatotoxizität für Personen mit dem T/T-Genotyp (homozygot, beide Allele mutiert) für die NQO1. Der Polymorphismus des CYP2E1 alleine zeigte keinen Effekt; Personen mit der Kombination einer hohen CYP2E1 Expression und homozygoter Defizienz von NQO1 hatten jedoch das 7,6-fache Risiko eines Malignoms des blutbildenden Systems (Rothman et al. 1997).

In einer Fallkontroll-Studie wurden erwachsene Patienten mit **akuter Leukämie** mit gematchten Kontrollen verglichen. Eine niedrige NAD(P)H-Chinonoxidoreduktase 1 – Aktivität war signifikant assoziiert mit einem erhöhten Risiko für akute Leukämie, und zwar sowohl für die myeloische als auch für die lymphatische Form. Die Autoren konnten diesen Befund an einem zweiten Kollektiv verifizieren (Smith et al. 2001). Ein modulierender Einfluss auf den Benzolmetabolismus mit postulierten Folgen für benzolinduzierte Gesundheitsrisiken wurde auch für die Polymorphismen von CYP2D6, GSTT1 und NQO1 festgestellt (Rossi et al. 1999).

#### 1.3.1.2. Molekularbiologisch-onkologische Aspekte

Krebs hat eine komplexe Entstehung, die häufig multikausal erfolgt. Eine genetische Veränderung im Erbgut (DNA), die Initiation, ist der erste Schritt der Krebsentstehung. Die initiierte Zelle unterliegt einer klonalen Selektion, d.h. ihre Vermehrung wird in einer Abfolge von Schritten gegenüber der Vermehrung anderer (gesunder) Zellen bevorteilt. Jede Stufe der Kanzerogenese beinhaltet erneute genetische Veränderungen (z. B. die Einschaltung von „Krebsgenen“).

Nach Hanahan und Weinberg (2000) muss ein Gewebe mindestens sechs essentielle Eigenschaften aufweisen, um als Krebs angesehen zu werden. Es sind dies die Unabhängigkeit von externen Wachstumssignalen, die Unempfindlichkeit gegenüber wachstumshemmenden Signalen, die weitgehende Ausschaltung der Apoptose, eine uneingeschränkte Fähigkeit der Genomreplikation, die eigenständige Induktion der Blutgefäßbildung sowie die Fähigkeit, in gesunde Gewebe einzudringen und Metastasen zu bilden. Die vielfältigen miteinander interagierenden Signalwege einer gesunden Zelle ergeben eine große Zahl von Angriffspunkten für ein Kanzerogen. Diesen stehen umfangreiche Schutzfunktionen und Systemredundanzen gegenüber, so dass in der Regel mehrere „hits“ notwendig sind, um lediglich eine bestimmte kanzerogene Eigenschaft herbeizuführen.

Gleichzeitig oder sukzessive einwirkende krebserzeugende Noxen können am gleichen oder an verschiedenen dieser Angriffspunkte wirken. So kann ein krebserzeugender Stoff initiiierend (einen

genetischen Schaden verursachend) oder promovierend sein (eine bestehende Läsion zu einem Tumor fortentwickeln). Benzol – wie die Mehrzahl der krebserzeugenden Stoffe – ist in seinen Stoffwechselprodukten ein „komplettes“ Kanzerogen, das sowohl initiiierend als auch promovierend auf verschiedenen Stufen der Krebsentstehung wirksam ist. Wegen der irreversiblen, chromosomen-schädigenden (klastogenen) Effekte, die Benzol verursacht, wirken in zeitlicher Abfolge aufgenommene Dosen kumulativ und mindestens additiv.

*In vitro* Untersuchungen zu chromosomen-schädigenden Wirkungen von Benzol mit Mikroorganismen waren negativ (DFG 1992) bis auf einen vereinzelt Befund mit dem Ames Test und gasdichter Vorinkubation (Glatt et al. 1989). Hinsichtlich dieser Untersuchung bleibt unklar, welche mutagenen Benzol-Metabolite evaporieren können.

Die Validität der *in vitro* Untersuchungen zu Benzol und seiner Metaboliten leidet durchweg unter den sehr hohen eingesetzten Konzentrationen, die im Bereich zytotoxischer Konzentrationen lagen. 1,4-Benzochinon und Hydrochinon induzierten Mikrokerne in humanen Lymphozyten *in vitro* (Yager et al. 1990). Hydrochinon und Trihydroxybenzol (THB) führten in HL-60 Zellen neben THB-DNA-Addukten zu oxidativem Stress (Kolachana et al. 1993, Hedli et al. 1996). Phenol, Hydrochinon und Benzochinon bildeten DNA-Addukte *in vitro* (Reddy et al. 1990, Lévy et al. 1993, Bodell et al. 1993, Pathak et al. 1995, Lévy et al. 1996). Bis zu 5 mM Benzol induzierten weder mit noch ohne metabolischem Aktivierungssystem Mikrokerne in menschlichen Lymphozyten (Zarani et al. 1999).

„Falsch negative“ Ergebnisse mit Benzol *in vitro* können auf komplexe Interaktionen in verschiedenen Kompartimenten hinweisen (Leber und Knochenmark), die *in vitro* nicht nachgestellt werden können. Wegen der hohen Komplexität des Benzolmetabolismus wurde gefolgert, dass *in vitro* Untersuchungen hier generell von limitierter Aussagefähigkeit seien (Eastmond 2000).

Tatsächlich bewirkt Benzol in zahlreichen tierexperimentellen Untersuchungen die Induktion von Chromosomenaberrationen, Mikrokernen und Schwesterchromatidaustausch (SCE) (zusammengefasst in DFG 1992, Snyder et al. 1993). Dagegen ist die Bildung von DNA-Addukten nicht eindeutig nachweisbar (Snyder et al. 1993). Die inhalative Exposition von Mäusen gegen 40 bis 1000 ppb Benzol über sechs Wochen führte zu einer dosisabhängigen Vermehrung von Mutationen im *hprt*-Locus in Lymphozyten (Ward et al. 1992). Vermehrte Mutationen im *lacI*-Transgen wurden nach zwölfwöchiger Exposition von Mäusen gegen 300 ppm Benzol in Lunge und Milz, aber nicht in der Leber festgestellt (Mullin et al. 1995). Bei oraler Benzolexposition wurde in Mäusen eine dosisabhängige Bildung von Mikrokernen im Knochenmark beobachtet. Die Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung (FISH) zeigte vornehmlich Chromosomenbrüche im Euchromatin, dagegen nur in geringem Ausmaß im Heterochromatin. Ein Test auf Induktion von Aneuploidie zeigte nur einen marginalen Effekt (Eastmond et al. 2001). Neuere Untersuchungen belegen, dass die Benzolmetaboliten *trans,trans*-Muconaldehyd und Hydrochinon die interzelluläre Kommunikation von Zellen (gap junctions) wirksam inhibieren (Rivedal und Witz 2005).

**Promovierende Wirkungen** von Benzol manifestieren sich durch Einflüsse auf die Regulation des Zellzyklus. Ein zentraler Faktor in der Zellzyklusregulation von hämatopoetischen Vorläuferzellen ist GM-CSF (granulocyte/macrophage colony-stimulating factor). In der Peripherie aktiviert GM-CSF TH1-Zellen. Veränderungen in der Empfindlichkeit bestimmter Zellpopulationen gegen GM-CSF finden sich häufig bei myeloproliferativen Störungen (Review: Irons 2000). Mit Hydrochinon behandelte CD34<sup>+</sup> Vorläuferzellen wurden empfindlich gegenüber GM-CSF (Irons et al. 1992, Gross et al. 1997). 0,5 – 4 µM Hydrochinon induzierten - ähnlich wie LTD4 - die Granulozyten-Differenzierung zu 32D-Myelozyten (Hazel und Kalf 1996). LTD vermittelte die intrazelluläre Signaltransduktion von GM-CSF.

Die Tumorentstehung ist somit ein mehrstufiger Prozess, der von einer ersten Genmutation ausgeht und dann über weitere Schritte zu erhöhter Wachstumsautonomie führt (Aktivierung von Protoonkogenen oder Inaktivierung von Tumorsuppressor-Genen, Apoptoseresistenz, Verlust der Zellzykluskontrolle, klonale Expansion). Eine Zelle, die einen initialen Schaden im Knochenmark erlitten hat, kann unter Umständen weitere Teilungs- bzw. Reifungsschritte durchlaufen und erst später zusätzliche Schädigungen erleiden, die letztlich das Tumorgeschehen unumkehrbar machen. Selbst wenn ein Tumor sich von Zellen eines bestimmten Reifungsgrades ableitet, lässt sich nicht mit Sicherheit nachweisen, in welchen Reifungsstadien die jeweiligen Schritte der Kanzerisierung erfolgt sind. Zudem zirkulieren einige periphere Lymphozyten wieder in das Knochenmark (Homing-Phänomen).

Prädisponierend für die klonale Expansion maligne transformierter Zellen ist ihr „Microenvironment“; mithin der umgebende Zellverband und die Signale, die von ihm ausgehen. Dies können u. a. wachstumshemmende aber auch proliferationsfördernde Signale sein. Pharmakokinetisch gesehen ist das Knochenmark kein geeignetes Ziel kanzerogener Benzolmetabolite, da es als „tiefes Kompartiment“ von diesen Verbindungen nur verzögert und in geringer Konzentration erreicht wird. Da die hämatopoetischen Stammzellen jedoch eine besonders hohe Teilungsaktivität aufweisen, ist das blutbildende Knochenmark dennoch als Zielorgan von der krebserzeugenden Wirkung der Benzolmetabolite betroffen. Im allgemeinen sind Zellen mit hoher Teilungsaktivität besonders vulnerabel, da sich hier gentoxische Schäden besonders leicht manifestieren und von vornherein eine hohe Wachstumsautonomie besteht.

Das „Microenvironment“ für lymphatische, insbesondere TH1- und TH2-Zellen wird entscheidend nicht nur von Entzündungsprozessen, sondern insbesondere auch von den immunologischen humoralen Typ I- und zellulären Typ IV- Immunreaktionen nach Coombs und Gell determiniert. Nach Kontakt mit antigenpräsentierenden Zellen werden bei der Typ IV-Reaktion TH1-Zellklone zu massiver Expansion angeregt. Im Falle einer Typ I-Reaktion auf Antigene werden ebenso die prä-B-Zellen zur Proliferation angeregt. Beim zweiten Kontakt mit dem Antigen werden ausgereifte B- oder T-Zellen aktiviert. Die determinierenden Faktoren des „Microenvironment“ der prä-B, prä-T, B- und T-Zellen sind demnach maßgeblich „Antigen präsentierende Zellen“ bzw. Antigene.

Charakteristika von Zellen, die zur malignen Entartung neigen, sind Proliferationsneigung und die intrinsische Instabilität. In der frühen Entwicklungsphase von T- und B-Zellen werden „Antigen-Rezeptor-Variable“ Domänen durch somatische Rekombination (VDJ Rekombinationen) generiert. Die somatische Rekombination ist örtlich und zeitlich hoch reguliert. Insgesamt ist die Bedeutung dieser

Mechanismen in der Pathogenese maligner Erkrankungen des hämatopoetischen Systems noch nicht bis in alle Einzelheiten geklärt. Es ist jedoch davon auszugehen, dass genotoxische und epigenetische Phänomene sowie Wechselwirkungen mit **Entzündungs- und Immunreaktionen** bei der kanzerogenen Wirkung des Benzols auf das lymphatische System, d. h. bei der Entstehung von NHL, eine entscheidende Rolle spielen (EPA 1998).

Tierexperimentell lassen sich Zusammenhänge zwischen entzündlichen Reaktionen und Benzol-Toxizität zeigen. Oxidative Benzolschäden können mit PMA (Phorbol-12-Acetat-13-Myristat) oder LPS (bakterielle Lipopolysaccharide) induziert werden. Sie sind besonders ausgeprägt im Knochenmark von Mäusen, können aber auch in peripheren Blutzellen nachgewiesen werden (Tuo et al. 1999).

#### 1.3.1.3. Zytogenetische Untersuchungen an Lymphozyten benzol-exponierter Menschen

In zahlreichen Studien wurden vermehrte chromosomale Veränderungen in den Lymphozyten von benzol-exponierten Beschäftigten erfasst. In peripheren Lymphozyten von 20 englischen Fabrikarbeitern, die 1 bis 20 Jahre gegen Benzol exponiert waren, wurden instabile strukturelle Chromosomenanomalien, Ringchromosomen und dizentrische Chromosomen nachgewiesen, die signifikant häufiger waren als in Vergleichspopulationen (Tough et al. 1970). Bei 25 Personen, die vor Jahren eine schwere Knochenmarkschädigung durch Benzol erlitten hatten, wurden in den Lymphozyten Chromosomenanomalien (Brüche sowie stabile und instabile Aberrationen) in einer signifikant höheren Häufigkeit nachgewiesen als bei gleichaltrigen Kontrollpersonen. Diese Veränderungen persistierten über Jahrzehnte; bei den einzelnen Personen waren im Verlauf sowohl Zunahmen, gleichbleibende Häufigkeiten oder Abnahmen der Anomalien zu verzeichnen. Die Autoren bemerkten, dass bei Patienten nach Röntgen- oder  $\gamma$ -Bestrahlung ähnliche Lymphozytenschäden zu beobachten seien (Forni 1971).

In den peripheren Lymphozyten von 52 Arbeitern, die über Zeiträume zwischen einem Monat und 26 Jahren niedrigen Benzolkonzentrationen (Schichtmittelwert 2,1 ppm) ausgesetzt waren, wurden eine Verdopplung von Chromosomenbrüchen, eine Verdreifachung von Translokationen und weitere anomale Chromosomenveränderungen im Vergleich zum Kontrollkollektiv registriert (Picciano 1979).

Bei 20 gegenüber Benzol und Toluol exponierten Arbeiterinnen einer Schuhfabrik zeigten die Lymphozyten vermehrte DNA-Strangbrüche und Schwesterchromatidaustausch (SCE) (Popp et al. 1992). In einer weiteren Studie wurden 49 Arbeiter in drei Gruppen eingeteilt, die über 0-2, 2-10 und mehr als 10 Jahre, gegen 3 bis 69 mg/m<sup>3</sup> Benzol exponiert waren. In den exponierten Gruppen waren Chromosomenaberrationen und Schwesterchromatidaustausch in peripheren Lymphozyten signifikant häufiger als bei Kontrollen. Mit einer Absenkung der Benzolkonzentration am Arbeitsplatz sank die Häufigkeit der Chromosomenaberrationen auf die Hälfte bzw. ein Drittel des ursprünglichen Wertes, lag aber noch immer über dem Kontrollwert (Tompá et al. 1994).

Rothman et al. (1995, 1996) wiesen bei 24 benzol-exponierten chinesischen Arbeitern in der Gummiindustrie Mutationen in Erythrozyten-Vorläuferzellen in signifikant erhöhter Häufigkeit nach als bei den 23 Kontrollpersonen. Die Analyse der Mutationsmuster zeigte eine Induktion von Genverlust-Genverdopplungsmutationen, aber keine Gen-Inaktivierungsmutationen. Die Autoren verweisen auf

die wichtige Rolle derartiger mitotischer Rekombination bei der Entwicklung von Leukämien und Lymphomen.

In einer Studie an benzolexponierten chinesischen Arbeitern wurde eine Häufung von Deletionen oder Verlusten von Chromosom 5 und 7 beschrieben (Zhang et al. 1998a). Vergleichbares wird für periphere Lymphozyten berichtet, die in Kultur gegen Hydrochinon und 1,2,4-Trihydroxybenzol exponiert wurden (Zhang et al. 1998b). Hydrochinon induzierte selektiv Verluste von Chromosom 7 und Deletionen in 5q31 in humanen CD34<sup>+</sup>CD19<sup>-</sup> Knochenmarkszellen (Stillman et al. 2000). Numerische und strukturelle Aberrationen von Chromosom 8 und 21 waren ebenfalls mit Benzol-Exposition assoziiert, wobei eine Zunahme der klastogenen Effekte bei höherer Benzolkonzentration aufgezeigt wurde (Smith et al. 1998).

Verschiedene Ansätze wurden unternommen, benzolinduzierte Chromosomenschäden zu charakterisieren, um im Vergleich zu spontanen und therapieinduzierten Leukämien typische Muster zu identifizieren. Die Benzolmetabolite Hydrochinon und Trihydroxybenzol verursachten eine Aneuploidie an den Chromosomen 1, 5, 6, 7, 8, 9, 11, 12 und 21 (Zhang et al. 2005). Besonders interessant ist in dieser Hinsicht der Vergleich mit therapieinduzierten hämatopoetischen Erkrankungen, da für Benzol ein ähnlicher Wirkmechanismus postuliert wird wie für **Topoisomerasehemmer**. Etwa 12% der Patienten, die mit Topoisomerase II-Hemmstoffen behandelt werden, erkranken an therapieinduzierten myeloischen und lymphatischen Leukämien (Merlat et al. 1999, Pegram et al. 2000, Rowley und Olney 2002). Topoisomerase II ist ein zentrales Enzym bei der DNA-Replikation und ist u. a. beteiligt an der Chromosomenkondensation, der Bewegung der Replikationsgabel und der Segregation replizierter Chromosomen. Topoisomerase II-Hemmstoffe wie Etoposid verhindern die Dissoziation der Topoisomerase II von der DNS. Solche Stoffe führen zu einem „DNA-Topoisomerase-Komplex“ und so nachfolgend zu Doppelstrangbrüchen und/oder Translokationen. Dies wird als wesentlicher Wirkmechanismus der Induktion therapieinduzierter Leukämien durch Etoposid-Toxine angesehen.

Die Hemmung von Topoisomerasen wurde auch für phenolische Benzolmetabolite gezeigt und im Zusammenhang mit klastogenen Benzoleffekten diskutiert (Chen und Eastmond 1995, Hutt und Kalf 1996, Baker et al. 2001, Lindsey et al. 2004). Allerdings ist der Nachweis der Hemmung von Topoisomerase II durch Benzolmetabolite stark abhängig von den Inkubationsbedingungen. Nach Aktivierung mit Myeloperoxidase und Wasserstoffperoxid - ohne die sonst übliche Zugabe von DTT als Oxidationsschutz - war eine Hemmung der Topoisomerase II schon ab 50 nM Hydrochinon nachweisbar (Eastmond et al. 2005). Dies unterstreicht eine Beteiligung dieses Mechanismus an der kanzerogenen Wirkung von Benzol. Allerdings ist die für Topoisomerasehemmer typische Translokation 12q23/21q22 in benzolexponierten Kollektiven nicht auffällig häufig.

Chromosomale Translokationen spielen bei der Induktion sowohl spontaner als auch therapieinduzierter Leukämien eine wesentliche Rolle. Translokationen sind mit herkömmlichen Färbemethoden oft schwer zu identifizieren und können zur Bildung chimärer Proteine führen. Sind solche chimären Proteine in zellulären Signalwegen involviert, insbesondere in solchen, die den Zellzyklus regulieren, kann dies zu klonaler Expansion geschädigter, responsiver Zellen führen. Die für die chronisch myeloische Leukämie (CML) charakteristische Verkürzung von q22 (Philadelphia

Chromosom, Nowell und Hungerford 1960 ergänzt) beruht darauf, dass ein kleinerer Teil von Chromosom 9 auf Chromosom 22 übertragen und vice versa ein größeres Fragment von Chromosom 22 auf Chromosom [t(9;22)] (Klein 1981). Dies führt zu dem *BCR-ABL* Fusions-Gen und Expression einer chimären Tyrosin-Protein-Kinase mit einem hyperaktiven *N*-terminalen Ende. Tyrosinkinasen sind Bestandteile intrazellulärer Signalwege, die die Wirkung von Wachstumsfaktoren vermitteln. Diese chimäre Tyrosin-Protein-Kinase kann so die klonale Expansion von Tumorzellen bewirken.

Eine Metaanalyse möglicherweise durch Benzol verursachter Leukämien zeigte, dass t(8;21) regelmäßig bei AML-M2 (akute myeloische Leukämie) beobachtet wurde und t(9;22) bei CML (chronische myeloische Leukämie). Zudem traten aneuploide Effekte relativ häufig auf; insbesondere Verlust von Chromosom 7 und überzählige Chromosomen 8 und 9. Bei den meisten benzolinduzierten Chromosomenaberrationen handelt es sich allerdings offenbar um Chromosomenbrüche und „Gaps“ (Zhang et al. 2002). Dies wird auch in einer Studie an zwei Kollektiven bestätigt, in der Chromosomenschäden in benzolexponierten Arbeitern mit FISH untersucht wurden (Eastmond et al. 2001).

**Insgesamt lässt sich nach Benzol-Exposition kein spezifisches chromosomales Schädigungsmuster nachweisen.**

#### 1.3.1.4. Übertragbarkeit tierexperimenteller Befunde auf den Menschen

Es ist im Tierversuch ausreichend, wenn der Fundamentalprozess der Kanzerisierung nachgewiesen wird. Eine 1:1-Deckungsgleichheit zwischen Tier und Mensch gibt es nicht. Es muss keine Organgleichheit der Wirkung bestehen. Sie ist aus toxikokinetischen Gründen auch nicht wahrscheinlich, da sich die Organismen hinsichtlich ihrer Größe, der unterschiedlichen Durchblutung einzelner Organe etc. unterscheiden. Der identische kanzerogene Mechanismus kann in verschiedenen Spezies also unterschiedliche Zellarten und Gewebe betreffen.

Dennoch lassen sich Gemeinsamkeiten in der Verursachung von Tumoren im Tierexperiment und beim Menschen finden. Einige Organe, die in der Ratte und Maus bei Benzolexposition besonders häufig von der Tumorverursachung betroffen sind, insbesondere die Zymbaldrüse, haben eine hohe Peroxidase-Aktivität (Maltoni et al. 1982, Maltoni und Scarnato 1979). Auch Versuche mit Mäusen, die heterozygot defizient für *p53* sind, weisen auf Parallelen in der Benzol-Toxizität zwischen Mensch und Tier hin: Der Verlust der Heterozygotie (Loss of heterozygosity: LOH) wird als zentrales Ereignis in der Krebsentstehung bei Mensch und Tier angesehen; insbesondere wenn Tumorsuppressor-Gene betroffen sind. In Mäusen, die heterozygot defizient für *p53* sind, können Tumoren besonders leicht ausgelöst werden. Das *p53*-Gen supprimiert Tumoren gleichermaßen in Mäusen und Menschen. In 13 von 16 Tumoren, die durch Benzol verursacht wurden, war der Verlust des verbliebenen *p53* Allels nachweisbar. Insgesamt war der Verlust des *p53* Wildtypallels in Thymus-Lymphomen und Sarkomen häufig und in Blasenkarzinomen (3 von 25) weniger häufig. Wegen der Parallelen in der Rolle von *p53* bei Menschen und Mäusen werden *p53* heterozygot defiziente Mäuse als ein geeignetes Tiermodell zur Verursachung von mesenchymalen- und benzolinduzierten Tumoren angesehen (French et al. 2001, Boley et al. 2001).

Zwischen dem Stoffwechsel von Benzol im Menschen und im Nagetier bestehen keine grundlegenden Unterschiede. Das quantitative Verhältnis toxischer Produkte (Hydrochinon und Mucondialdehyd) zu weniger toxischen Produkten (Phenylglukuroniden) ist bei F344/N-Ratten, B6C3F1-Mäusen und benzol-exponierten Menschen vergleichbar (Yu und Weisel 1996). Es werden bei den verschiedenen Spezies nicht nur dieselben Metabolite gebildet, sondern sogar in vergleichbaren Proportionen. Auch die molekularen Wirkungen von Benzol an der Erbinformation unterscheiden sich nicht zwischen den Nagetieren und dem Menschen. Hierbei ist zu bedenken, dass Zellkulturexperimente mit Benzolmetaboliten auch mit menschlichen Zellen durchgeführt wurden.

In japanischen Studien (Inoue et al. 1986, 1988) wurde die Ausscheidung von Benzolmetaboliten im Harn bei Personen gemessen, die beruflich über acht Stunden gegen 100 ppm Benzol exponiert waren. Das Ausscheidungsmuster war demjenigen in zahlreichen Studien an Nagern vergleichbar. Daher wird das Nagermodell (Ratten, Mäuse) als geeignet erachtet, um den Metabolismus von Benzol im Menschen zu modellieren.

Die Vergleichbarkeit von Nagetier und Mensch in Bezug auf sowohl die Genotoxizität als auch den Stoffwechsel (Biotransformation) ergibt sich aus der Zusammenfassung der Übersichtsarbeit von Whysner et al. (2004):

*„Rodent and human data were compared, and benzene genotoxicity results in both were similar for the available tests. Also, the biotransformation of benzene was qualitatively similar in rodents, humans and non-human primates, further indicating that rodent and human genotoxicity data were compatible.“*

Übereinstimmend mit den Befunden beim Menschen führt eine Benzol-Exposition im Tierexperiment mit Mäusen zu einer deutlichen Verminderung hämatopoetischer und lymphoider Zellen. Auch in transgenen Tg.AC Mäusen suppressierte Benzol (0,02% im Trinkwasser über 28 Tage) bereits hämatopoetische Vorläuferzellen. Parallele Untersuchungen zur Genexpression mit „cDNA Microarrays“ zeigten zudem eine signifikant erhöhte Genexpression von *bax*, *c-fos*, *E124*, *hsfl*, *IkBa* und *p57*. Hierbei war *c-fos* 22-fach (*c-fos* codiert für einen Transkriptionsfaktor, der als Reaktion auf Verletzungen gebildet wird) und *ei24* 18-fach überexprimiert (*ei24* codiert für einen *p53* responsiven Faktor der mit DNS-Schädigungen assoziiert ist) (Nwosu et al. 2004). Tg.AC Mäuse weisen nach Benzol-Exposition Parallelen zur Benzol-Toxizität beim Menschen auf und sind daher beim gegenwärtigen Erkenntnisstand ein geeignetes Tiermodell.

### 1.3.1.5. Zusammenfassung der experimentell-toxikologischen und hämatologisch-onkologischen Erkenntnisse

Eine arbeitsbedingte Benzolexposition ist in der Lage, sowohl nichtmaligne als auch maligne Erkrankungen des Blut- und Lymphsystems zu verursachen. Die primäre Wirkung der Benzolexposition ist eine Unterdrückung der Blutbildung infolge toxischer Knochenmarksdepression. Diese äußert sich klinisch in einer Verringerung der Zahl der Zellen im peripheren Blutbild, wobei das rote Blutbild, das weiße Blutbild und die Blutplättchen sowohl einzeln (Anämie, Leukopenie, Thrombopenie), als auch gemeinsam (Panzytopenie) betroffen sein können. Die aplastische Anämie, das myelodysplastische Syndrom (MDS) und die myeloproliferativen Erkrankungen stellen Übergangsformen zur malignen Erkrankung dar, wobei die beiden letzteren heute bereits als bösartige Erkrankung aufgefasst werden.

Benzol selbst zeigt in toxikologischen Untersuchungen keine eindeutig erbgutschädigende (mutagene) oder kanzerogene (krebserzeugende) Wirkung. Vielmehr sind Stoffwechselprodukte für die durch Benzolexposition verursachten Krebserkrankungen und toxischen Wirkungen verantwortlich. Phenolische Benzol-Metabolite entstehen in der Leber, aber auch in anderen Organen und verteilen sich im gesamten Körper. Benzol verursacht entsprechend im Tierversuch systemisch sowohl solide Tumoren als auch Tumoren des Blutsystems. Da nicht primär Lebertumoren entstehen, werden nachfolgende Reaktionen für die Bildung der letztlich kanzerogenen Intermediate verantwortlich gemacht. Dies sind Reaktionen, die von Peroxidasen, insbesondere Myeloperoxidase (MPO) und Prostaglandin-H-Synthasen, vermittelt werden. Sie führen zu labilen radikalischen Verbindungen, die über verschiedene Mechanismen klastogen und kanzerogen wirken, wie z. B. über die Hemmung der Topoisomerase II, über radikalische Reaktionen oder über die Induktion von oxidativem Stress. Die Organotropie der Krebserkrankungen nach Benzolexposition des Menschen wird u. a. dadurch erklärt, dass Benzol in Geweben mit hoher Peroxidaseaktivität – insbesondere durch MPO – zum ultimal wirksamen Kanzerogen aktiviert wird.

Zelluläre Vorgänge sind durch das „Microenvironment“ der Zellen determiniert; beispielsweise durch teilungshemmende oder -fördernde Signale. Da oxidativen Enzymen wie der MPO eine zentrale Rolle bei der Benzol-Aktivierung zugeschrieben wird, ist dieses „Microenvironment“ charakterisiert durch die Bedingungen, die Voraussetzung sind für die Aktivität des Enzyms. MPO-katalysierte Reaktionen benötigen  $H_2O_2$  als Co-Substrat. MPO ist beim gesunden Menschen inaktiv. Das Enzym ist in peripheren Neutrophilen und Monozyten enthalten und wird parallel zu seinem Co-Substrat  $H_2O_2$  an Orten der Immunabwehr induziert und freigesetzt. Dies gilt ebenso für das Knochenmark wie für periphere Gewebe. Weiterhin ist oft ein Proliferationsreiz notwendig, um die maligne transformierten Zellen zur Teilung anzuregen. Dies gilt nicht für die Stammzellen, die stärker wachstumsautonom sind. Ein Proliferationsreiz für aktivierbare stammzellennahe periphere Blutzellen ist gegeben durch Kontakt mit spezifischen Antigenen und „Antigen präsentierenden Zellen“ (APC) während der allergischen Typ I oder Typ IV Reaktion. Dies führt bei prä-B-, prä-T-, B- und T-Lymphozyten zur Reifung und **massiven** klonalen Expansion. Teilungsfähige Zellen befinden sich daher auch im peripheren Blut und Lymphgewebe. Wesentliche Unterschiede im Benzolmetabolismus zwischen Mensch und Tier können nicht nachgewiesen werden. Obwohl das Knochenmark toxikokinetisch ein

im Vergleich zum peripheren Blut für chemische Verbindungen schwerer erreichbares „tiefes Kompartiment“ darstellt und lymphatische Tumoren (insbesondere Non-Hodgkin-Lymphome) generell häufiger sind als myeloische, wird dies im Knochenmark durch eine im Vergleich zum peripheren Gewebe wesentlich höhere Zahl teilungsaktiver Zellen, insbesondere wachstumsautonomer Stammzellen, kompensiert.

Die akute myeloische Leukämie unterscheidet sich zwar aus pathologischer Sicht klar von der chronischen lymphatischen Leukämie. Dies rechtfertigt jedoch keine pathogenetischen Schlussfolgerungen. Beim Menschen wird die Generierung und Entgiftung genotoxischer Metabolite des Benzol durch Enzym polymorphismen individuell moduliert. Hämatotoxische und immunsuppressive Wirkungen werden bereits bei Benzolexposition zwischen  $< 1$  ppm und  $\geq 10$  ppm beschrieben (Lan et al. 2004, 2005). Dies ist deswegen bemerkenswert, weil bei der Pathogenese der NHL immunsuppressive Effekte bekannt sind und offenkundig eine zentrale Rolle spielen. Aktuelle epidemiologische Auswertungen bestätigen die Bedeutung sowohl der gleichen Mechanismen wie bei Leukämien (Chromosomenschäden durch DNA-Doppelstrangbrüche) als auch der Immuntoxizität für die Entstehung von Non-Hodgkin-Lymphomen (Smith et al. 2007).

Die Vulnerabilität nicht nur der Stammzellen des Knochenmarks sondern insbesondere auch der reiferen immunkompetenten lymphatischen Zellformen geht aus folgendem Zitat aus einer aktuellen Publikation der IARC (Smith et al. 2004) hervor:

*„Lymphocytes are unique in being the only cell types in which a specific mechanism has evolved that can rearrange and mutate genomic DNA. Both T and B lymphocytes undergo genetic recombination and mutation as part of their normal life cycle. ... DNA instability is generated during the development of lymphocytes and different components are active at different stages of lymphoid development; and the lymphoid system has developed specifically to deal with environmentally encountered infectious agents and is directly shaped by the infections it has encountered. ... Thus, double-strand breaks generated by derangement of physiological processes or by environmentally encountered DNA-damaging agents may be central features in the causation of lymphoma-specific translocations.“*

Hieraus erklärt sich möglicherweise auch eine besondere Empfindlichkeit des juvenilen Organismus, in welchem der Aufbau des Immunsystems besonders aktiv erfolgt, für die leukämieinduzierende Wirkung von Benzol (Steffen et al. 2004, Crosignani et al. 2004).

## Fazit

Benzol ist ein komplettes systemisches Kanzerogen mit tumorigen, -promovierenden und epigenetischen Wirkungen. Benzol besitzt die Fähigkeit, das breite Spektrum prämaligener und maligner Erkrankungen des Blut- und Lymphsystems (Aplastische Anämie, Myelodysplastische Syndrome, Leukämien, Non-Hodgkin-Lymphome, Myeloproliferative Erkrankungen) zu verursachen. Für die krebserzeugende Wirkung sind verschiedene Stoffwechselprodukte (Metabolite) des Benzols verantwortlich. Nach heutiger Kenntnis und internationalem wissenschaftlichen Konsens werden die Hemmung der Topoisomerase durch Benzochinon-Radikale und die genotoxische Wirkung reaktiver Sauerstoffspezies (Radikale) als die beiden wichtigsten Mechanismen angesehen. Hinzu kommen insbesondere immuntoxische Wirkungen.

Oxidative Stoffwechsellzyme, die die Generierung genotoxischer Produkte aus den phenolischen Metaboliten des Benzol katalysieren, liegen im Organismus ubiquitär vor. Dies gilt insbesondere für die Myeloperoxidase (MPO) und Prostaglandin-H-Synthasen. Entsprechend treten im Tierexperiment neben lymphatischen und myeloischen auch solide Tumoren auf. Physiologisch werden die oxidativen Enzyme während entzündlicher Vorgänge aktiviert (Enzyminduktion).

Im Tierexperiment treten Tumoren insbesondere in peroxidasereichen Geweben auf. Die beim Menschen beobachtete Organotropie des Benzols für das blutbildende Knochenmark wird mit der dort vorliegenden hohen Peroxidase-Aktivität, insbesondere der Myeloperoxidase (MPO), begründet. Ein weiterer Grund ist die hohe Teilungsaktivität der hämatopoetischen Stammzellen. Im lymphatischen Gewebe besteht während peripherer entzündlicher Reaktionen, insbesondere im Verlauf von Typ I- und Typ IV-Immunreaktionen nach Coombs und Gell, infolge biochemischer Signale („Microenvironment“) ebenfalls eine hohe Teilungsaktivität (Reifung und klonale Expansion von T-Zellen und B-Zellen nach Kontakt mit Antigenen).

Das Ausmaß der individuellen Gefährdung durch eine arbeitsbedingte Benzolexposition wird nachweislich durch Enzym polymorphismen (vor allem NQO1, aber auch MPO, CYP2E1) und durch weitere Faktoren wie z.B. erhöhte Aufnahme durch körperliche Aktivität, junges Expositionsalter, beeinflusst. Im Erkrankungsfall sind konkurrierende arbeitsbedingte und nicht arbeitsbedingte Ursachen einer malignen Erkrankung des myeloischen oder lymphatischen Systems in Betracht zu ziehen, insbesondere ionisierende Strahlung und Viruserkrankungen.

### 1.3.2. Krankheitsbilder und Diagnosen

#### 1.3.2.1. Unter dieser Berufskrankheit erfasste Krankheitsbilder

Gegenstand dieser wissenschaftlichen Begründung sind

- toxische Schädigungen (Knochenmarksdepression)
  - Leukopenie (auch isolierte Verminderung einzelner Leukozytensubpopulationen z.B. Lymphopenie, Granulozytopenie),
  - Thrombozytopenie,
  - Panzytopenie (auch als Panmyelophthise bezeichnet)
- aplastische Anämie
- Krebsvorstufen (Präkanzerosen): myelodysplastische Syndrome
- bösartige Erkrankungen des blutbildenden und des lymphatischen Systems: Leukämien, Non-Hodgkin-Lymphome (NHL) und myeloproliferative Erkrankungen.

Während die Leukopenie, Thrombozytopenie und Panzytopenie nach Ende der Benzolexposition meist reversibel sind, handelt es sich bei der aplastischen Anämie um eine irreversible Erkrankung.

Die Krebsvorstufen (Präkanzerosen) wurden früher zum Teil als Präleukämie bezeichnet. Heute zählen die myelodysplastischen Syndrome und myeloproliferativen Erkrankungen aufgrund molekularbiologischer Erkenntnisse zu den malignen Erkrankungen, da es sich um monoklonale Erkrankungen handelt.

In der Vergangenheit existierten mehrere konkurrierende Einteilungen (Klassifikationen) der hämatologischen Erkrankungen. Unterschiede der in Deutschland, in anderen europäischen Ländern und in den USA gebräuchlichen Systemen erschwerten die Vergleichbarkeit hämatologischer und epidemiologischer Untersuchungen. Im Jahre 1997 wurden unter der Federführung der Weltgesundheitsorganisation die unterschiedlichen Einteilungen der malignen hämatologischen Krankheitsbilder zu einem gemeinsamen internationalen System, der **WHO-Klassifikation**, zusammengeführt (Stein und Hiddemann 1999, Vardiman et al. 2002).

Die in der vorliegenden wissenschaftlichen Begründung verwendeten Krankheitsbezeichnungen basieren auf der WHO-Klassifikation, die künftig auch in Berufskrankheiten-Verfahren ausschließlich verwendet werden sollte. Schwierigkeiten ergeben sich bei der Bewertung epidemiologischer Studien aus der Vergangenheit; hierauf wird im Abschnitt 2. *Validität und Reliabilität der vorliegenden epidemiologischen Erkenntnisse* ausführlich eingegangen.

Auch nach der auf molekularbiologischen Erkenntnissen fußenden WHO-Klassifikation gibt es Überschneidungen der klassischen, im klinischen Alltag gebräuchlichen Bezeichnungen „Leukämie“ und „Lymphom“ mit neueren Einteilungskategorien. So handelt es sich bei der chronisch myeloischen Leukämie (CML) sowohl um eine Leukämie als auch um eine myeloproliferative Erkrankung; die chronisch lymphatische Leukämie (CLL) ist sowohl eine Leukämie als auch ein Non-Hodgkin-Lymphom.

Abb. 4 verdeutlicht diese Überlappungen:

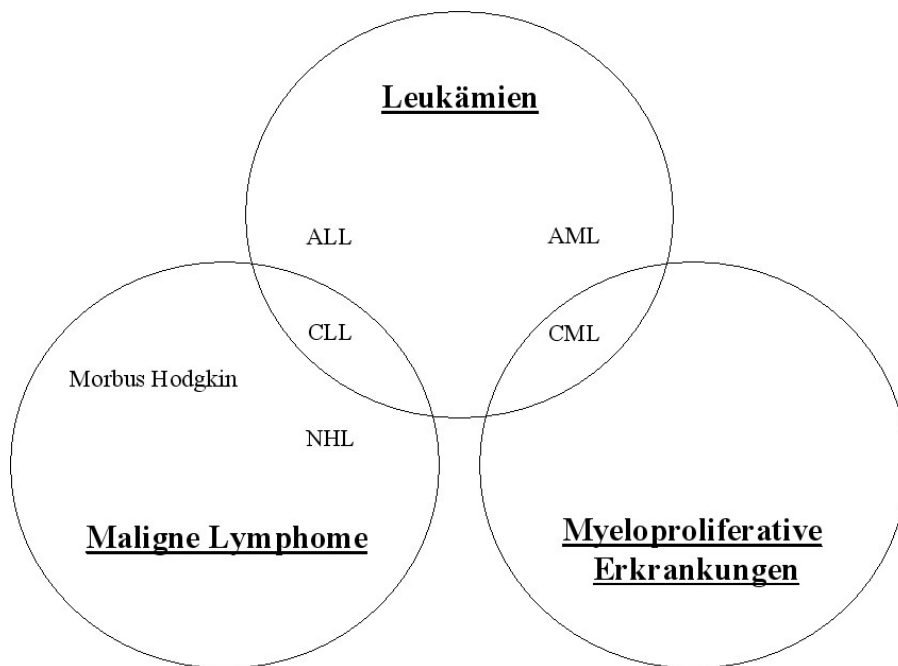


Abb. 4: Überlappungen der klinischen Diagnosen Leukämie, maligne Lymphome und myeloproliferative Erkrankungen

ALL = akute lymphatische Leukämie; CLL = chronische lymphatische Leukämie; AML = akute myeloische Leukämie; CML = chronische myeloische Leukämie; NHL = Non-Hodgkin-Lymphom

#### 1.3.2.2. Hämatologische Aspekte

Die Blutzellen des Menschen werden in drei Gruppen eingeteilt, nämlich in rote Blutzellen (Erythrozyten), weiße Blutzellen (Leukozyten) und Blutplättchen (Thrombozyten). Die Bildung aller drei Zellformen (Hämatopoese) erfolgt während der embryonalen Entwicklung vorwiegend in der Milz und Leber, dann während des ganzen Lebens fast ausschließlich im Knochenmark. Eine Ausnahme stellt die Entwicklung des lymphatischen Systems dar, die in ihren späteren Phasen außerhalb des Knochenmarks (extramedullär) erfolgt, zunächst im Thymus und dann auch im lymphatischen Gewebe einschließlich der Lymphknoten.

Vorläuferzellen der drei Zellformen sind undeterminierte (pluripotente) und determinierte hämatopoetische Stammzellen. Bei der Teilung von Stammzellen werden aus einem Teil der Tochterzellen wieder Stammzellen, wodurch deren Konstanz gewährleistet bleibt. Ob die Stammzellen ruhen oder sich über den Zellteilungszyklus vermehren, hängt vom Bedarf an bestimmten Funktionszellen in der Peripherie ab und wird durch stimulierende und hemmende humorale Faktoren reguliert. Das Knochenmark ist eine komplexe Matrix mit Stammzellen, Progenitorzellen der Blutzellen und Stromazellen. Die Stromazellen liefern die Wachstumsfaktoren, die für die Proliferation und Differenzierung der Stamm- und Progenitorzellen wesentlich sind.

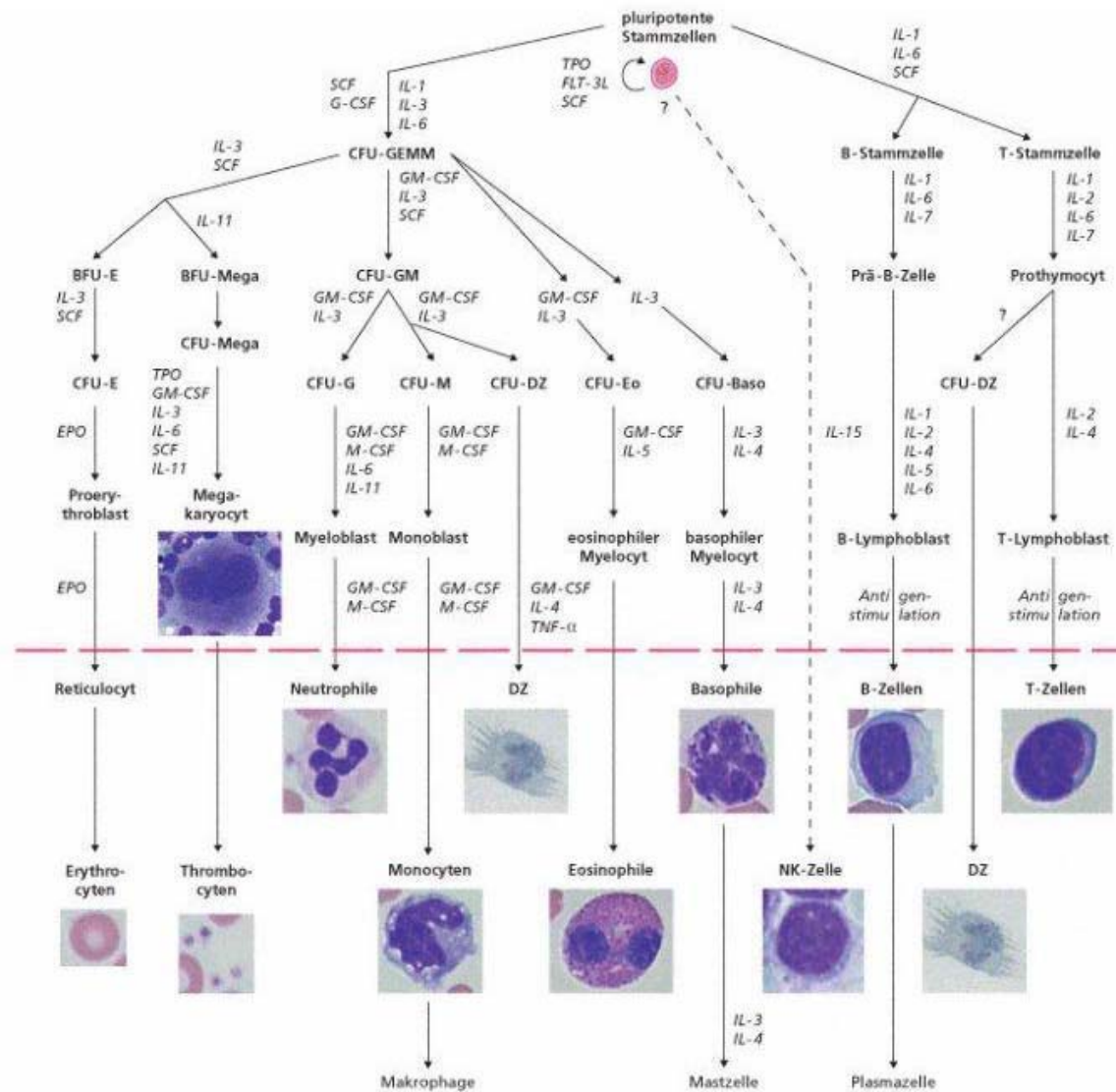


Abbildung aus Schmidt, Unsicker  
Lehrbuch Vorklinik, 2003 ©



Abb. 5: Stammbaum der Zellformen des hämato-lymphatischen Systems

Wichtig für das Verständnis verschiedener Systemerkrankungen, insbesondere maligner Erkrankungen des Blutsystems, ist die Tatsache, dass ein Austausch von Stammzellen zwischen verschiedenen Organen und auch eine Besiedlung des Knochenmarks mit Stammzellen aus extramedullären Blutbildungsstätten, insbesondere aus Keimzentren des lymphatischen Systems, erfolgt. Hierdurch bedingte fließende Übergänge zwischen verschiedenen Zellformen und Lokalisationen sind kennzeichnend für pathologische Störungen wie die myeloproliferativen Erkrankungen. Sie können aber auch therapeutisch genutzt werden, etwa bei der Knochenmarkstransplantation.

Die weißen Blutzellen befähigen den Organismus, physikalische und chemische Fremdeinwirkungen – insbesondere Infektionen – abzuwehren und durch die Antikörperbildung gegen körpereigen- oder artfremde Antigene immunologisch zu reagieren (sog. zelluläre und humorale Immunität). Maligne Erkrankungen des Blutsystems betreffen meist die weißen Zellen, so dass den Leukämien und malignen Lymphomen auch im Zusammenhang mit der krebserzeugenden Wirkung von Benzol besondere Bedeutung zukommt. Dies schließt nicht aus, dass die seltenen malignen Erkrankungen der beiden anderen Systeme ggf. auch für die Benzolproblematik relevant sind.

Die Unterscheidung zwischen Leukämien und Lymphomen ist klinischer Natur und erlaubt keine Rückschlüsse auf die Pathogenese. Der Begriff „Leukämie“ wurde zuerst 1847 von VIRCHOW geprägt, der mit diesem Begriff die extreme Vermehrung unreifer weißer Blutzellen bezeichnete. Allerdings muss die Leukämie nicht immer von einer Vermehrung weißer Zellen im Blut gekennzeichnet sein. Bei der Erkrankung treten mitunter eine Leukozytose, eine Leukopenie oder sogar ein agranulozytäres Blutbild auf.

Während der Begriff Leukämie von einem klinischen Erscheinungsbild des peripheren Blutbildes ausgeht, kennzeichnet das Lymphom eine abnorme Schwellung des lymphatischen Gewebes, insbesondere von Lymphknoten oder Lymphknotenpaketen.

Obwohl sich in den letzten Jahrzehnten die Differenzierung der malignen Erkrankungen des weißen Blutbildes durch die Bestimmung histologischer, biochemischer und neuerdings auch molekularbiologischer Merkmale erheblich weiterentwickelt hat, wurde national und international die Grundeinteilung in die historischen klinisch-morphologischen Gruppen Leukämie und Lymphom beibehalten. Bei der Anwendung der neueren Klassifikationen sollte aber wie oben angeführt bedacht werden, dass es Überlappungen zwischen der klinischen, der histologischen und der molekularbiologischen Einteilung gibt. So handelt es sich etwa bei der chronischen lymphatischen Leukämie (CLL) um ein malignes Non-Hodgkin-Lymphom (Chiorazzi et al. 2005, WHO-Klassifikation). Einzelne Malignome können sich auch im Krankheitsverlauf stadienabhängig von einem durch Lymphome geprägten zu einem leukämischen Erscheinungsbild wandeln.

Bei den **Leukämien** unterscheidet man zwischen der akuten (AML) und der chronischen **myeloischen** Leukämie (CML) sowie der akuten (ALL) und der chronischen **lymphatischen** Leukämie (CLL). Die weitere Unterteilung erfolgt heute in der WHO-Klassifikation auf der Grundlage einer Vielzahl unterschiedlicher genetischer Veränderungen, die teilweise sehr eng mit einem

bestimmten Phänotyp der Leukämie assoziiert sind. Solche genetischen Veränderungen führen zu einem gestörten Proliferations- und Differenzierungsverhalten oder zu einem gestörten Ablauf des programmierten Zelltodes (Apoptose). Die zugunsten des Zellwachstums verschobene Imbalance zwischen Proliferation und Apoptose resultiert in der klonalen Expansion der leukämischen Zelle mit Verdrängung der normalen hämatopoetischen Zellpopulation (Feuring-Buske et al. 2002).

Die **akute myeloische Leukämie (AML)** hat in Deutschland eine Häufigkeit von zwei bis drei Erkrankungen pro 100.000 Einwohner und Jahr. Der Altersmedian liegt bei 60 Jahren. Im höheren Alter ist ein starker Anstieg der Inzidenz bis auf über 15 Erkrankungen /100.000 Einwohner/Jahr zu beobachten. Exogene Faktoren spielen bei der Entstehung der AML offenbar eine große Rolle; etwa 10-20% aller Fälle sind therapieinduziert durch eine Behandlung mit Chemotherapeutika.

Die AML entsteht durch die maligne Transformation früher hämatopoetischer Progenitorzellen. Für die Mehrzahl dieser Erkrankungen ist die multipotente hämatopoetische Stammzelle als Ausgangszelle des malignen Klons anzusehen. Es gibt jedoch auch Ausnahmen, die von reiferen Progenitorzellen ausgehen, etwa die Promyelozytenleukämie.

Die **chronisch myeloische Leukämie (CML)** entsteht durch die klonale Proliferation einer maligne transformierten multipotenten hämatopoetischen Stammzelle. Charakteristisch ist insbesondere die Philadelphia-Chromosomentranslokation t(9;22)(q34;q11). Die Inzidenz der CML liegt in Deutschland bei einer Erkrankung pro 100.000 Einwohner und Jahr und hat einen Anteil von 15-20% an allen Erwachsenenleukämien. Das mediane Erkrankungsalter liegt bei 53 Jahren. Auch bei dieser Leukämieform kommen exogene Risikofaktoren in Betracht; die erhöhte Inzidenz der CML nach den Atombombenabwürfen von Hiroshima und Nagasaki belegt die Bedeutung ionisierender Strahlung. Die chronisch myeloische Leukämie wird nach der aktuellen WHO-Definition (Vardiman et al. 2002) zu den myeloproliferativen Erkrankungen gerechnet.

Die Inzidenz der **akuten lymphatischen Leukämie (ALL)** liegt bei 1,1 pro 100.000 Einwohner und Jahr. Betroffen sind vor allem Kinder unter fünf Jahren (5,3/100.000). Danach fällt die Inzidenz kontinuierlich ab, um nach dem 35. Lebensjahr wieder anzusteigen auf einen zweiten Häufigkeitsgipfel im Alter von über 80 Jahren (2,3/100.000).

Als Risikofaktoren für die ALL gelten im Kindesalter verschiedene Erbkrankheiten mit chromosomalen Auffälligkeiten, etwa die Trisomie 21 (Down-Syndrom). Daneben werden, insbesondere beim Erwachsenen, exogene Faktoren wie ionisierende Strahlung, Benzol, Zytostatika und Viren (insbesondere HTLV1) als Risikofaktoren betrachtet.

Die ALL kann durch maligne Transformation verschiedener Differenzierungsstufen der Lymphopoese entstehen. Bei ca. 75% aller Patienten mit ALL finden sich klonale chromosomale Veränderungen. Bei einigen Formen der ALL finden sich Mutationen des p53-Tumorsuppressorgens.

Die **chronisch lymphatische Leukämie (CLL)** ist die häufigste Leukämieform der Erwachsenen in der westlichen Welt mit einem Anteil von 25-30%. Die Inzidenz der CLL steigt mit zunehmendem Lebensalter und liegt insgesamt bei 3/100.000 Einwohnern pro Jahr. Der Häufigkeitsgipfel liegt zwischen dem 60. und 65. Lebensjahr. Nach der aktuellen WHO-Definition (Stein und Hiddemann 1999) wird die chronische lymphatische Leukämie zu den Non-Hodgkin-Lymphomen (NHL) gerechnet.

Bei den **myeloproliferativen Erkrankungen** handelt es sich um monoklonale Erkrankungen der myeloischen Stammzellen mit autonomer Proliferation einer oder mehrerer hämatopoetischer Zellreihen (Leuko-, Erythro-, Thrombozytose). Die myeloproliferativen Erkrankungen umfassen nach der WHO-Klassifikation sieben Krankheitsentitäten (Vardiman et al. 2002), insbesondere:

- Chronisch myeloische Leukämie (CML)
- Polycythaemia vera
- Essentielle Thrombozythämie
- Osteomyelosklerose.

Die **myelodysplastischen Syndrome (MDS)** sind erworbene klonale Stammzellerkrankungen mit qualitativen und quantitativen Veränderungen aller Zellreihen der Hämatopoese, peripherer Zytopenie, zellreichem dysplastischem Knochenmark und oft erhöhtem Blastenanteil (Vardiman et al. 2002).

Aktuelle Daten zur Häufigkeit von Leukämien, Non-Hodgkin-Lymphomen und anderen malignen Erkrankungen in Deutschland sind von der Arbeitsgemeinschaft bevölkerungsbezogener Krebsregister in Deutschland in Zusammenarbeit mit dem Robert-Koch-Institut veröffentlicht worden (GEKID 2006).

Insbesondere die **aplastische Anämie** und das **myelodysplastische Syndrom (MDS)** sind als Frühstadien einer malignen Erkrankung anzusehen. Da es sich bei MDS um klonale Stammzellenerkrankungen handelt, stellt es per se eine maligne Erkrankung des hämatopoetischen Systems dar (Janssen et al. 1989, Haase et al. 1997). Verlaufsuntersuchungen haben gezeigt, dass innerhalb von fünf Jahren ca. 15 % aller aplastischen Anämien in ein MDS oder eine AML übergehen, wobei das Auftreten klonaler Chromosomenanomalien einerseits als Malignitätskriterium zu werten ist und andererseits mit einer Erkrankungsprogression in Richtung MDS und AML assoziiert ist (De Planque et al. 1988, Maciejewski et al. 2002). Myelodysplasien gehen in ca. 30 % in eine akute myeloische Leukämie über. Das Risiko für einen Übergang in eine AML und die Geschwindigkeit der leukämischen Transformation ist in hohem Maße vom Karyotyp abhängig (Greenberg et al. 1997).

### 1.3.2.3. Toxikologische Aspekte der Benzolwirkung

Das primäre Organ der Blutbildung ist das (rote) Knochenmark. Im Embryo und im Säuglingsalter findet die Blutbildung auch in der Leber und in der Milz statt. Beim Erwachsenen kann die Blutbildung in diesen Organen bei erhöhtem Bedarf und bei verschiedenen Erkrankungen reaktiviert werden. Wie bereits beschrieben wandert ein Teil der Blutzellen im Laufe ihrer Reifung in den Thymus und in das lymphatische Gewebe aus. Zellteilungsvorgänge lymphatischer Zellen finden nach dem Auswandern auch extramedullär z.B. in Lymphknoten statt. Hier werden Vorläufer-Lymphozyten antigenabhängig stimuliert und differenzieren zu antikörperbildenden Lymphozyten aus. Diese Zellen sind somit während der Teilungsphase für Noxen, die mit der Erbsubstanz (DNA) genotoxisch interagieren, vulnerabel. Somit darf bezüglich des Mechanismus der Krebsentstehung das Knochenmark nicht isoliert betrachtet werden.

Bei wiederholter, langdauernder, u. U. auch bei einmaliger, sehr massiver Einwirkung erweist sich Benzol als Blutgift - eine Wirkung, die bereits im 19. Jahrhundert bekannt war. Charakteristisch ist die Hemmung der Bildung der Blutzellen, die sich klinisch als Anämie, Leukopenie oder Thrombopenie zeigt. Diese klinischen Erscheinungsbilder der toxischen Wirkung von Benzol können allein oder in Kombination auftreten. Häufig geht der Depression der einzelnen Systeme eine mehr oder weniger vorübergehende Überproduktion voraus. Daneben kommt es zu einer malignen Entartung von Blutzellen. Eine solche maligne Erkrankung des Blutsystems kann sich klinisch sowohl aus einem der vorangehend genannten toxischen Krankheitsbilder als auch ohne toxisches Vorstadium entwickeln.

Obwohl Fälle von benzolverursachter Leukämie ohne vorangehender toxischer Reduzierung der Zellzahlen des weißen Blutbildes berichtet wurden (Yin et al. 1989), ist die Hämatotoxizität ein **wesentlicher** Risikofaktor für die Leukämieentstehung. Durch vermehrten Zelltod in den Vorläuferzellpopulationen und abnormer regulatorischer Signaltransduktion können geschädigte Zellklone einen Proliferationsvorteil erlangen. Die klonale Hämatopoese wird als Vorstufe des myelodysplastischen Syndroms (MDS) und der akuten myeloischen Leukämie (AML) angesehen. Zelltod und Zytopenie fördern die Expansion der verbliebenen Stammzellen, wodurch die Wahrscheinlichkeit erhöht wird, dass eine Zelle mit einer genetischen Anomalie in den Generationszyklus gelangt (EPA 1998). Derartige Effekte wurden bereits bei  $10^{-9}$ -molaren Konzentrationen des Benzolmetaboliten Hydrochinon festgestellt (Irons et al. 1992). Darüber hinaus kommt es zu einer Vermehrung myeloperoxidase-(MPO)-positiver Zellen im Knochenmark und infolgedessen zu einer Verstärkung der Produktion genotoxischer Benzolmetabolite (Irons und Stillman 1993).

Benzol wirkt toxisch auf das blutbildende Knochenmark und kann eine Knochenmarksdepression und eine aplastische Anämie verursachen (Goldstein 1988, Aksoy 1988, Kipen et al. 1988). Der toxische Effekt ist sogar bei Benzolkonzentrationen unterhalb 1 ppm signifikant (Lan et al. 2004). Beim Menschen reagieren die **Lymphozyten am empfindlichsten** auf diese toxische Wirkung (Aksoy et al. 1971, Moszczynski und Lisiewicz 1982). Benzol-exponierte Beschäftigte in China wiesen eine hoch signifikant geringere Lymphozytenkonzentration im Blut auf als nicht-benzol-exponierte Kontrollen. Die Verminderung der Zellzahl korrelierte mit der Konzentration von Benzolmetaboliten im Urin (Rothman et al. 1996). Die toxische Wirkung auf die lymphozytären Zellen beeinträchtigt die Produktion von Zytokinen, insbesondere IL-3; hierdurch sollen Knochenmarksdepression und Leukämieinduktion

verstärkt werden (EPA 1998). Die toxische Wirkung des Benzols auf die Blutbildung betrifft jedoch nicht nur die Lymphozyten, sondern auch die erythrozytären, granulozytären und thrombozytären Zellformen.

Ein signifikanter, dosisabhängiger Trend für diese Schädigungen weißer Blutzellen zeigt sich bei Personen mit einer inhalativen Benzolexposition zwischen  $< 1$  ppm und  $\geq 10$  ppm. Vermindert waren die Gesamtzahl der weißen Blutzellen, ferner Granulozyten, Lymphozyten,  $CD4^+$  T-Zellen, B-Zellen, NK-Zellen und Thrombozyten (Lan et al. 2004). Ausgenommen waren bemerkenswerterweise  $CD8^+$  T-Zellen und Monozyten. Dies deutet auf einen selektiven Effekt in Bezug auf die T-Zellen: T-Helfer Zellen (Th1 und Th2 Zellen) sind  $CD4^+$ , während cytotoxische T-Zellen  $CD8^+$  sind. Monozyten waren lediglich in der Gruppe mit der höchsten Exposition vermindert. Da die  $CD4^+$  Zellen proportional zur Benzolexposition abnehmen und die  $CD8^+$  Zellen unverändert bleiben, vermindert sich das Verhältnis von  $CD4^+/CD8^+$ . Diese Beobachtung ist wesentlich, weil das gleiche Phänomen im Zusammenhang mit der Exposition gegen Kohlenwasserstoffverbindungen in der „Phenol-Abteilung“ einer petrochemischen Anlage beschrieben wurde (Zeman et al. 1990).

Somit ist belegt, dass bei relativ niedriger Benzolexposition immuntoxische Effekte auf **periphere Lymphozyten** nachweisbar sind.

Eine weitere unabhängige Bestätigung für **immuntoxische Benzolwirkungen** hinsichtlich der Verminderung der Thrombozyten stellt die Verminderung des Thrombozyten-Faktors (PF)4 und des „Connective Tissue Activating Peptide“ (CTAP)-III im Serum von benzol exponierten Personen aus einer Schuhfabrik dar. Diese nachgewiesene Hämatotoxizität wurde als immunsuppressiver Effekt bewertet (Vermeulen et al. 2005).

Da die Entwicklung eines Tumors mehrstufig erfolgt, ist der genaue Ort einer „richtungsgebenden“ Einwirkung einer Noxe wie Benzol (bzw. eines Benzolmetaboliten) nicht exakt zu bestimmen. Eine entscheidende Mutation kann z.B. im Knochenmark erfolgen, jedoch zunächst ohne Konsequenzen bleiben, da ein Wachstumsfaktor betroffen ist, der erst in einem späteren Reifungszustand, z. B. nach Auswanderung in das lymphatische Gewebe, relevant ist.

Als Beispiel sei das zur Diagnosegruppe der Non-Hodgkin-Lymphomen (NHL) zählende multiple Myelom (MM) aufgeführt. Beim MM wird davon ausgegangen, dass die maligne Transformation einen post-Keimzentrums-B-Lymphozyten der sekundären Immunantwort, also einen sehr weit differenzierten Lymphozyten, betrifft (Sahota et al. 1996). Diese MM-Vorläuferzellen differenzieren zu Plasmazellen, die dann im Knochenmark mittels „Homing-Rezeptoren“ eine sessile maligne Population bilden, wobei das Knochenmarkstroma eine wichtige supportive Rolle inne hat und die Apoptose von Plasmazellen verhindert (Bakkus et al. 1994, Uchiyama et al. 1993). Die aktuellen hämatologischen Daten sprechen also dafür, dass die maligne Transformation beim MM extramedullär stattfindet, wobei zu bedenken ist, dass eine wesentliche Komponente der Pathogenese, die klonale Expansion, innerhalb des Knochenmarks abläuft. Es ist davon auszugehen, dass die klonale Expansion weiterer genetischer Anomalien bedarf, die dann intramedullär entstehen (Dalton et al. 2001). Obwohl das multiple Myelom nach der aktuellen WHO-Klassifikation zu den peripheren Non-Hodgkin-Lymphomen zählt, erfolgt ein wesentlicher Teil seiner Pathogenese im blutbildenden Knochenmark.

Somit ist die Unterstellung nicht gerechtfertigt, dass es sich bei peripheren Non-Hodgkin-Lymphomen um Erkrankungen handle, deren Entstehung ausschließlich außerhalb des Knochenmarks angesiedelt sei (Hoffmann et al. 2001, Tannapfel et al. 2001). Vielmehr besteht ein intensiver Austausch zwischen dem peripheren lymphatischen Gewebe und dem blutbildenden Knochenmark; gerade beim multiplen Myelom wird der Einfluss des „Microenvironment“ des Knochenmarks auf die Pathogenese peripherer Non-Hodgkin-Lymphome deutlich.

### 1.3.3. Epidemiologische Befunde

Die toxische Wirkung von Benzol auf das Knochenmark (Knochenmarksdepression) mit resultierender Verminderung der Zellzahlen ist seit dem Ende des 19. Jahrhunderts bekannt und bildete die Grundlage für die Festlegung als Berufskrankheit in 1925. Da die toxischen Wirkungen von Benzol auf das hämatolymphatische System sowohl in der internationalen und nationalen wissenschaftlichen Literatur als auch in der bisherigen Berufskrankheiten-Rechtsanwendung unter der Nummer 1303 unstrittig sind, wird hinsichtlich der Toxikologie, Kasuistik und Epidemiologie dieser nichtkanzerogenen Benzolwirkung auf die ausführliche Darstellung in den toxikologisch-arbeitsmedizinischen Begründungen für MAK-Werte der Deutschen Forschungsgemeinschaft verwiesen (DFG 1971, 1992).

In einer Untersuchung des National Cancer Institute (NCI), National Institutes of Health (NIH) sowie mehrerer Universitäten der USA mit vergleichbaren chinesischen Einrichtungen wurden 250 benzolexponierte Beschäftigte mit 140 Kontrollpersonen verglichen (Lan et al. 2004). Dabei wurden ausgeprägte akute toxische Wirkungen von Benzol **bereits bei Expositionskonzentrationen deutlich unterhalb 1 ppm** festgestellt. Die durchschnittliche Zahl der weißen Blutkörperchen (Leukozyten) betrug bei den Kontrollen 6.480 /  $\mu$ l Blut, bei < 1 ppm Benzol (durchschnittlich 0,57 ppm) 5.540 ( $p < 0,0001$ ), bei 1-10 ppm 5.660, bei >10 ppm 4.770. Die Trendanalyse über alle Personen ergab  $p < 0,0001$ . Besonders ausgeprägt war die Reduktion der Granulozyten, signifikant aber auch der Abfall der Lymphozyten, der Thrombozyten und des Hämoglobin. Auffallend war eine selektive Verminderung der  $CD4^+$ -T-Lymphozyten bei nahezu  $CD8^+$ -unveränderten T-Lymphozyten und infolgedessen veränderter  $CD4^+/CD8^+$ -Relation. Dieser immuntoxische Effekt wurde von den Autoren im Rahmen weiterer differenzierter Analysen untermauert (Lan et al. 2005).

Benzol ist, wie bereits dargestellt, sowohl von der International Agency for Research on Cancer (IARC) (1987) und der Europäischen Union als auch von der Deutschen Forschungsgemeinschaft (DFG) (Henschler 1971 - MAK-Begründung) als Humankanzerogen eingestuft. Die epidemiologische Evidenz beruht in erster Linie auf Studien zum Auftreten von Leukämien, insbesondere der akuten myeloischen Leukämie (AML). Hinsichtlich der unstrittigen leukämieverursachenden Wirkung wird ebenfalls auf die ausführlichen Darstellungen der DFG, der EU und der IARC verwiesen.

Angesichts der in der Einleitung zu dieser wissenschaftlichen Begründung zitierten Artikel in der deutschen arbeitsmedizinischen Literatur wird in der nachstehenden Erörterung anhand der Literatursichtung untersucht, ob genügend epidemiologische Evidenz besteht, dass Benzol auch Non-Hodgkin-Lymphome (NHL) verursachen kann.

Betrachtet man die Ergebnisse und Schlussfolgerungen der zahlreichen, bisher durchgeführten Kohorten- und Fall-Kontroll-Studien, so lassen sich bis auf wenige Ausnahmen keine Risikoerhöhungen für die jeweils unterschiedlich nach ICD oder WHO (siehe Abschnitt 2) als NHL zusammengefassten Hauptgruppen der lymphoproliferativen Malignome durch die vermutete Benzolexposition nachweisen. So kommen **Möhner und Heuchert (2000)** in ihrer Meta-Analyse, in der sie 29 Kohorten- und 20 Fall-Kontroll-Studien aus dem Zeitraum 1966 bis 1999 kritisch analysieren, zu dem Schluss, dass lediglich in einigen wenigen Studien Assoziationen zwischen einer Benzolexposition und einem erhöhten Erkrankungsrisiko bezüglich der B-Zell-Lymphome beobachtet werden. Jedoch sei es aus diesen Studien schwierig, den Effekt von Benzol von den anderen Lösungsmitteln zu trennen (vgl. auch Miligi et al. 2006). Ihrer Meinung nach spricht die Meta-Analyse nicht für einen Zusammenhang zwischen einer Benzolexposition und einem erhöhten Risiko, an einem Non-Hodgkin-Lymphom zu erkranken. Andererseits schließen die Autoren einen Zusammenhang auch nicht völlig aus, sie halten ihn aber aus epidemiologischer Sicht eher für unwahrscheinlich.

**Wong und Raabe (2000)** haben in ihrer Meta-Analyse 26 teilweise nicht veröffentlichte Kohortenstudien von Beschäftigten in der Erdölindustrie aus USA, England, Kanada, Australien, Italien und Finnland im Hinblick auf einen Zusammenhang zwischen Benzolexposition und NHL untersucht. Der Beobachtungszeitraum erstreckte sich von 1937 bis 1996. Die Analyse umfasste 308.000 Beschäftigte. Insgesamt wurden 506 NHL Todesfälle registriert und 561,88 erwartet. Sie berechneten unter Einschluss aller Studien ein SMR von 0,9 mit einem 95%-Konfidenzintervall von 0,82 bis 0,98, das somit auf eine statistisch gesicherte Untersterblichkeit an NHL hinweist, was verwunderlich ist. In den sieben Kohorten mit Beschäftigten der Benzinauslieferung bzw. in der Rohölverarbeitung (insgesamt 82000 Personen) waren alle SMRs unter Eins (die Wahrscheinlichkeit dafür ist  $0,5^7 = 0,008$ , wenn man davon ausgeht, dass, wenn Benzol keinen Einfluss auf die Todesursache NHL hat, Werte größer und kleiner Eins gleichwahrscheinlich sind). Es ist somit zu vermuten, dass eine Untererfassung für NHL vorliegt. In den 19 Kohorten der Raffineriearbeiter wurde in 12 ein SMR größer Eins gefunden; jedoch waren alle SMRs statistisch nicht signifikant. (Die Wahrscheinlichkeit für diese Anzahl beträgt 0,18.). Eine Quantifizierung der Benzolexposition konnte für die Arbeiter von den Autoren anhand der vorliegenden Information nicht vorgenommen werden. Mutmaßlich war die Mehrheit der Beschäftigten nur einer geringen Benzolkonzentration ausgesetzt, so dass NHL nicht induziert wurden (siehe auch Punkt 3 der Seite 43). Der Schlussfolgerung der Autoren „Petroleum workers were not at an increased risk of NHL as a result of their exposure to benzene or other benzene-containing petroleum products in their work environment“ kann aus den genannten Gründen nicht zugestimmt werden.

**Schnatter, Rosamilia und Wojcik (2005)** schließen aus ihrem Literaturstudium bis Oktober 2004, in das sie nach vorgegebenen Kriterien 10 Kohortenstudien und 13 populationsbasierte Fall-Kontroll-Studien, darunter 3 eingebettete Fall-Kontroll-Studien, aufgenommen hatten, dass zwar in allen Studien und Industriebereichen übereinstimmend eine Beziehung zwischen Benzolexposition und AML nachweisbar war, wobei in Bereichen mit hoher Exposition auch höhere Risiken auftraten. Eine derart eindeutige Beziehung ließ sich jedoch nicht für CLL, ALL und CML nachweisen. Nur in den eingebetteten Fall-Kontroll-Studien fanden sie eine Beziehung zwischen Benzolexposition und CLL

angedeutet. Jedoch schränkt ihrer Meinung nach die geringe Fallzahl eine definitive Aussage über den Zusammenhang zwischen der Benzolexposition und dem Risiko für ALL und CLL ein.

Auch **Lamm, Engel und Byrd (2005)**, die eine bis April 2005 reichende Literaturrecherche anhand spezieller Kriterien in der National Library of Medicine durchführten, fanden in den 21 Studien zu NHL und Benzolexposition 11 mit einem Risikoschätzer  $< 1$ , zwei mit einem Risikoschätzer  $= 1$  und nur acht mit einem erhöhten Risiko. In zwei Studien (Fabbro-Peray et al. 2001 und Yin et al. 1996) ergaben sich signifikante Risikoerhöhungen, jedoch sind ihrer Ansicht nach diese Studien mit multiplen Expositionen und daher nicht verwertbar. Nach Ausschluss von vier Studien mit vermuteter Koexposition errechneten die Autoren in der Meta-Analyse ein OR von 0,96 (95%-CI: 0,86 – 1,06) – ohne Ausschluss OR = 1,04 (0,94 – 1,14).

**Smith, Jones und Smith (2007)** kommen anhand der systematischen Durchsicht von 43 Fall-Kontroll-Studien von Personen mit mutmaßlicher beruflicher Benzolexposition und 26 Kohortenstudien aus Raffinerien zu dem Ergebnis, dass die Mehrzahl der Studienergebnisse für einen Zusammenhang zwischen Benzolexposition und NHL spricht, auch wenn die Risikoerhöhungen häufig nicht im statistischen Sinne signifikant sind.

Wesentliche Faktoren, die die Aussage epidemiologischer Studien limitieren, sind Verdünnungseffekte durch unzureichend erfasste Exposition. Als Marker dafür, dass ein solcher Verdünnungseffekt in einer Studie nicht auftritt, wird ein nachgewiesenes erhöhtes Risiko für AML bzw. ANLL (akute nichtlymphatische Leukämie) angesehen. Untersuchungen, die nicht in der Lage waren, diese Risiken nachzuweisen, verfügen mit weit überwiegender Wahrscheinlichkeit nicht über genügend Power, um die selteneren bösartigen Neubildungen des blutbildenden Systems nachzuweisen.

Erkennt man als Ausdruck einer wesentlichen Benzolexposition einen Anstieg des relativen Risikos (SMR, SIR bzw. RR) für AML bzw. ANLL von  $\geq 2,0$  an, unabhängig davon, ob dieser Wert statistisch signifikant ist (Signifikanz ist u. a. eine Frage des Stichprobenumfangs), dann trifft dieser Sachverhalt für vier der insgesamt 31 in der Anlage A aufgeführten und in die Bewertung einbezogenen Kohortenstudien zu. Bei zwei weiteren Studien betrifft die Risikoverdoppelung die „Leukämien“ insgesamt, so dass diese Studien nicht dem vorgegebenen Kriterium entsprechen. Diese sechs Kohortenstudien sind in **Tabelle 1** mit den Risikoschätzern - auch nach Untergruppen unterteilt - aufgeführt. Die Risikoverdoppelung für ANLL wurde als Selektionskriterium gewählt, da ein Wert dieser Größenordnung auf einen Effekt hindeutet, der mit großer Wahrscheinlichkeit nicht auf Artefakten beruht.

Das **Multiple Myelom (MM)** als eine eigene Hauptgruppe der NHL mit drei Untergruppen wird in allen vier Studien separat ausgewiesen. Die geschätzten relativen Risiken reichen von RR = 0,4 (China Kohorte) bis RR = 3,22 (Health Watch Kohorte) bzw. 2,12 (Pliofilm Kohorte). Die Risikoschätzer dieser vier Studien sind im statistischen Sinn als homogen zu bewerten ( $\chi^2 = 0,82$ ;  $p = 0,84$ ). Als gewichteter Schätzer ergibt sich ein Wert von **RR = 2,29** (95 %-CI: 1,21 – 4,34) - siehe **Tabelle 2**. Diese Risikoschätzung stimmt gut mit derjenigen aus der Meta-Analyse von Infante (2006) überein, der nach etwas anderen Kriterien sieben Studien mit gegenüber Benzol exponierten Personen in die Analyse einbezogen hat und ein gewichtetes relatives Risiko von 2,13 (95%-CI: 1,31-3,46) erhält.

Die **Non-Hodgkin-Lymphome (NHL)**, eingegrenzt beschrieben als ICD-9 200 (Lymphosarkom und Reticulosarkom) und 202 (other neoplasms of lymphoid tissues) , werden in drei Studien (Pliofilm-, China- und Health Watch Kohorte) separat ausgewiesen mit relativen Risiken von 1,0 (Pliofilm Kohorte) und 3,0 (China Kohorte). Als gewichteter Schätzer ergibt sich ein Wert von **RR = 1,63** (95 %-CI: 0,98 – 2,71). Die Risikoschätzer sind als homogen zu bewerten:  $\chi^2 = 0,64$ ;  $p = 0,42$ .

Betrachtet man alle „**Lymphome**“ ohne Unterteilung nach ihren Untergruppen, so liegen die relativen Risiken zwischen 1,13 (Pliofilm Kohorte) und RR = 3,0 (China Kohorte). Die Risikoschätzer sind im statistischen Sinne als homogen zu bewerten (Homogenitätstest  $\chi^2 = 2,55$ ;  $p = 0,466$ ). Als gewichtetes Mittel der Risikoschätzer aus den Einzelstudien ergibt sich ein Wert von **RR = 1,55** (95 %-CI: 1,08 bis 2,23).

**Tabelle 1: Kohortenstudien mit RR für AML bzw. ANLL > 2**

Autor		Beob.	Erw.	RR	95%-CI	Zeitraum	Personen	Personenjahre
<b>Pliofilm Kohorte</b>								
Crump KS 1996	<b>AML, AMML</b> ICD-9 205+206	8	1.61	<b>4.97</b>	2.14 – 9.79	1940-87	1717	52 584
Rinsky RA et al. 2002	Leukämie * ICD-9 204-207	15	5.87	2.56	1.43 – 4.22	1950-96	1291	45 753
	Alle * ICD-9 200-209	25	14.72	1.70	1.10 – 2.51			
	Alle ohne Leukämie * ICD-9 200-203; 208,209	10	8.85	1.13	0.54 – 2.08			
	MM *	5	2.35	2.12	0.69 – 4.96			
	NHL *	5	5.01	1.00	0.32 – 2.33			
<b>Chemiearbeiter Kohorte USA</b>								
Ireland B et al. 1997	<b>ANLL</b> ICD-8 205,206	2	0.72	<b>2.77</b>	0.34 – 10.3	1946-91	4172	nicht genannt
	Leukämie ICD-8 204-207	5	2.15	2.3	0.7 – 5.3			
	MM ICD-8 203	3	0.93	3.22	0.66 – 9.43			
	CLL ICD-8 204.1	2	0.47	4.26	0.52 - 15.4			
Wong O 1987a	ICDA-8 200	3	2.65	1.13	0.23 – 3.31	1946-77	<sup>1</sup> 3536	64 483
	ICDA-8 202,203,208	4	2.77	1.45	0.39 – 3.70			
	Zus. ICDA-8 200,202,203,208	7	5.42	1.29	0.52 – 2.66			

**Tabelle 1: Fortsetzung Kohortenstudien mit RR für AML bzw. ANLL > 2**

Autor		Beob.	Erw.	RR	95%-CI	Zeitraum	Personen	Personenjahre
<b>China Kohorte</b>								
Yin SN et al. 1996 (Inzidenz)	<b>AML</b>	23		<b>3.1</b>	1.2 – 10.7	1972-87	74 828 E <sup>2</sup> 35 805 NE	782 497 419 523
	„NHL“	17		3.0	0.9 – 10.5			
	MM	1		0.4	0 – 10.7			
	„Maligne Lymphome“	20		3.5	1.2 – 14.9			
Hayes RB et al. 1997 (Inzidenz)	<b>ANLL ICD-9 205.0,206.0,207.0</b>	21		<b>3.0</b>	1.0 – 8.9		E <sup>2</sup> NE	690 000 405 000
	NHL ICD-9 200,202	16		3.0	0.9 – 10.5			
	Andere ICD-9 204, 205.1-205.9, 206.1-206.9, 207.1-207.9, 208.0	17		2.0	1.2 – 14.9			
<b>Health Watch Kohorte Australien</b>								
Christie D et al. 1991 (SIR) (Inzidenz)	Leukämie ICD-9 204-208	12	3.6	3.4	1.7 – 5.9	1981-89	15 000	50 254
	Lymphatische L. ICD-9 204	4	1.4	2.9	0.8 – 7.5			
	<b>Myeloische L. ICD-9 205</b>	7	1.8	<b>4.0</b>	1.6 - 8.2			
	Andere L. ICD-9 206-208	1	0.4	2.3	0.1 - 13			
	„NHL“ ICD-9 200,202	10	5.9	1.7	0.8 – 3.1			
	MM ICD-9 203	4	1.8	2.2	0.6 – 5.6			

**Tabelle 1: Fortsetzung Kohortenstudien mit RR für AML bzw. ANLL > 2**

Autor		Beob.	Erw.	RR	95%-CI	Zeitraum	Personen	Personenjahre
<b>Schuhmacher Kohorte Florenz</b>								
Fu H et al. 1996 (Florenz)	Leukämie ICD-9 204-208	8	3.74	<u>2.14</u>	0.92 – 4.21	1950-90	2008	54 395
	„NHL“ ICD-9 200, 202	2	1.89	1.06	0.13 – 3.82			
	MM ICD-9 203	3	1.04	2.88	0.60 – 8.43			
	Zus. ICD-9 200, 202, 203	5	2.93	1.71	0.55 – 3.98			
<b>Ölindustrie Kohorte Italien</b>								
Consonni D et al. 1999	Leukämie ICD-8 204-207	<sup>3</sup> 8	3.6	<u>2.25</u>	0.97 – 4.43	1949-91	1583	39 587
	Alle ICD-8 200-209	15	8.4	1.79	1.00 – 2.95			
	„NHL“ ICD-8 200,202	5	2.4	2.12	0.68 – 4.95			

Alle: Bösartige Neubildungen des lymphatischen und hämatopoetischen Gewebes IDC9 200-208 ; ICD8 200-209

ICD\*: International Classification of Disease, death certificates using the rule of the ICD in effect at the time of death (S.475 Mitte rechts)

Zahlen aus Tabelle III White males. Für Alle ohne Leukämie aus Differenzen berechnet.

Die 15 unter den Exponierten festgestellten Leukämien sind: 9 AML, 1 CML, 2 AML oder CML, 1 ALL, 2 ALL oder AML

1: nur Teilkohorte der kontinuierlich exponierten Personen (Tab. 7, S. 372)

2: E Kohorte der Exponierten NE: Kohorte der Nicht-Exponierten

Hayes hat Personen mit einer Beschäftigungsdauer von weniger als sechs Monate oder Eintritt in die Beschäftigung vor 1949 ausgeschlossen

3: die acht Leukämien sind: 1 x 205.1 (AML); 1 x 204.0 (ALL); 2 x 204.1 (CLL); 3 x 207.1 akute unspezifische Leukämie; 1 x 207.9 unspezifische Leukämie

**Tabelle 2: Meta-Analyse für Kohortenstudien mit RR für AML bzw. ANLL > 2**

<b>RR</b>	<b>95%-CI</b>	<b>Autor</b>	<b>Klassifikation</b>
<b>Non-Hodgkin Lymphome (NHL)</b>			
1.00	0.32 – 2.33	Rinsky RA et al. 2002	ICD *
3.00	0.90 – 10.5	Hayes RB et al. 1997	ICD-9 200, 202
1.69	0.80 – 3.10	Christie D et al. 1991	ICD-9 200, 202
<b>mRR = 1.63</b>	<b>0.98 – 2.71</b>	Homogenitätstest 1.893 p = 0.388	
<b>Multiples Myelom (MM)</b>			
2.12	0.69 – 4.96	Rinsky RA et al. 2002	ICD *
3.22	0.66 – 9.43	Ireland B et al. 1997	ICD-8 203
0.40	0.00 – 10.7	Yin SN et al. 1996	ICD-9 203
2.22	0.60 - 5.68	Christie D et al. 1991	ICD-9 203
<b>mRR = 2.29</b>	<b>1.21 – 4.34</b>	Homogenitätstest 0.824 p = 0.844	
<b>Lymphome<sup>1</sup></b>			
1.13	0.54 – 2.08	Rinsky RA et al. 2002	ICD <sup>2</sup>
1.29	0.52 – 2.66	Wong O 1987°	ICD-8 200, 202, 203, 208
3.00	0.90 – 10.5	Hayes RB et al. 1997	ICD-9 200, 202
1.82	0.99 – 3.05	Christie D et al. 1991	ICD-9 200, 202, 203
<b>mRR = 1.55</b>	<b>1.08 – 2.23</b>	Homogenitätstest 2.553 p = 0.466	

RR: Relatives Risiko pro Studie geschätzt als SMR oder SIR

mRR: Bei Zusammenfassung der Studien geschätztes relatives Risiko

1: ohne Hodgkin-Lymphome

2: ICD: International Classification of Disease, death certificates using the rule of the ICD in effect at the time of death (S.475 Mitte rechts)

## **Insgesamt**

ist somit bei Zusammenfassung der Studienergebnisse sowohl für die „Lymphome insgesamt (ohne Hodgkin Lymphome)“, sowie für die Hauptgruppe der Multiplen Myelome bei alleiniger Betrachtung der Kohorten mit einer deutlichen Überhäufigkeit der AML bzw. der ANLL als Leitdiagnose für eine arbeitsmedizinisch-toxikologisch wesentliche Benzolexposition eine statistisch auf dem 5 %-Niveau gesicherte Risikoerhöhung nachgewiesen. Für das auf einige Hauptgruppen eingegrenzte „NHL“ liegt die untere Grenze des 95%-Konfidenzintervalls mit 0,98 knapp unter dem Wert 1, so dass der berechnete Risikoschätzer von 1,63 bei einem konventionellen zweiseitigen Test auf dem 5%-Niveau als statistisch nicht signifikant zu bewerten ist.

Aus der Arbeit von **Collins et al. (2003; Tabelle 2 (S. 678))** ergibt sich, dass für die Induzierung von Lymphomen eine relevante Benzoleinwirkung erforderlich ist, da erst bei Belastungsspitzen von  $\geq 100$  ppm an mehr als 40 Tagen nach Zusammenfassung der „NHL“, MM und CLL 7 beobachteten eine erwartete Anzahl von 2,8 Todesfällen gegenüber steht und somit ein SMR von 2,5 (95 %-CI: 1,0 – 5,2) resultiert. Unter dieser relevanten Benzoleinwirkung zeichnet auch deutlich die ANLL mit einer SMR von 4,1 (95%-CI: 0,5 – 14,9).

Auch aus der Publikation von **Fabbro-Peray et al. (2001)** geht hervor (Tab. 3, S. 206 und Tab. 6, S. 208), dass erst eine Expositionsdauer von über 810 Tagen (810 ist der Median der Expositionsdauer der gegenüber Benzol exponierten Personen) zu einer deutlichen Erhöhung des NHL-Risikos (OR = 4,6; 95%-CI: 1,1 – 19,2) führt. Die Diagnosen dieser Studie beruhen erstmals bereits auf der WHO-Klassifikation.

Die Ergebnisse von **Hayes et al. (1997)** deuten darauf hin, dass einerseits das relative Risiko für „NHL“ mit der Expositionsdauer ansteigt (Anstieg des RR von 0,7 bei einer Expositionsdauer von unter fünf Jahren auf RR von 4,2 bei einer Expositionsdauer von mindestens zehn Jahren (Tab. 2, S. 1068; p für Trend 0,01)) und andererseits, dass schon bei einer durchschnittlichen Belastung von  $\leq 10$  ppm das RR mit einem Wert von 2,7 erhöht ist und bei einer durchschnittlichen Belastung von  $\geq 25$  ppm auf 4,7 ansteigt (p-Trend = 0,04).

Für die Beschäftigten der in die australische Health Watch Studie eingebetteten Fall-Kontroll-Studie konnte von **Glass et al. (2003 und 2005)** primär ab 1975 eine sehr gründliche Expositionserfassung durchgeführt werden. Die Autoren sind sich aber unsicher, wie zuverlässig diese Messwerte auch auf die Beschäftigten für den Zeitraum von 1940 bis 1974 übertragbar sind. Trotz der im Vergleich mit anderen Studien eher geringen Benzolexposition konnte für die 33 „Leukämien“ (11 ANLL ICD-9 205.0, 208.0; 6 CML ICD-9 205.1; 2 ALL ICD-9 204.0; 11 CLL ICD-9 204.1; und 3 andere ICD-9 202.4, 204.9; Tab. 1, S. 571, 2003) eine Risikoerhöhung mit Zunahme der kumulativen Benzolexposition von  $\leq 2$  ppm-years OR = 1 auf OR = 7,8 bei  $>16$  ppm-years nachgewiesen werden (Tab. 4, S. 573, 2003 und Tab. 2, S. 29, 2005), nicht jedoch für die 46 „NHL“/MM (ICD-9 200, 202, 203). Andererseits wird für die elf CLL-Fälle, die nach der neuen WHO-Klassifikation zu den NHL zu rechnen sind, eine Risikozunahme mit wachsender kumulierter Exposition von RR = 1 ( $\leq 4$  ppm-years) über RR = 2,8 ( $>4 - 8$  ppm-years) auf RR = 4,5 ( $>8$  ppm-years) im Sinne einer Dosis-Häufigkeitsbeziehung angegeben (Tab. 6, S. 574, 2003).

Auch in der in die Kohorte von Beschäftigten der Gas- und Elektrizitätswerke in Frankreich eingebetteten Fall-Kontroll-Studie von **Guenel et al. (2002)** (S. 94, Tab. VI) ergeben sich erhöhte Risiken für die **akute lymphatische Leukämie (OR = 3,3; 95%-CI: 0,3 - 43,3)** und für die **chronisch lymphatische Leukämie (OR = 4,4; 95%-CI: 0,3 – 77,1)** in der höchsten Expositions-kategorie von 5,5 und mehr sogenannten Benzoleinheiten. Dieses Maß wurde gewählt, da man Intensitätsindices der Benzolbelastung für das Ranking der Tätigkeiten und nicht absolute Werte benutzt hat (S. 90).

## **2. Validität und Reliabilität der vorliegenden epidemiologischen Erkenntnisse**

### **2.1. Methodische Aspekte**

Mittels epidemiologischer Studien lassen sich vielfach die durch bestimmte Stoffe verursachten Erkrankungs- bzw. Sterberisiken anhand der standardisierten Inzidenz- bzw. Mortalitätsraten (SIR, SMR) zuverlässig abschätzen.

Verschiedene prinzipielle Limitierungen epidemiologischer Studien erschweren jedoch die Zusammenhangsbeurteilung zwischen einer Benzolexposition und verschiedenen, seltenen bösartigen Neubildungen des blutbildenden Systems:

1. Beim Non-Hodgkin-Lymphom (NHL) handelt es sich im Vergleich zu anderen bösartigen Neubildungen (z.B. Prostata- 98,5, Darm- 72,9, Lunge- 66,8, Harnblase- 38,7, Magen-Karzinom 23,2 altersstandardisierte Inzidenz pro 100.000 Personenjahre pro Jahr; WHO-Klassifikation) um relativ seltene Erkrankungen mit einer altersstandardisierten Inzidenz für Männer von 12,6 Neuerkrankungen pro 100.000 Personenjahre ( $12,6 \times 10^{-5}$ ), wobei allerdings die altersspezifische Inzidenz mit dem Lebensalter für Männer unter 45 Jahre von 3,6 über die Altersklasse 45 - < 60 Jahre mit 16,1 auf 37,8 für Personen im Alter von 60 - < 75 Jahre ansteigt. Die genannten Zahlen gelten für das Jahr 2002 in Deutschland (GEKID 2006). Da die Inzidenz für NHL weltweit einen jährlichen Anstieg aufweist, waren die altersspezifischen Inzidenzen in früheren Zeiträumen deutlich niedriger. Somit müssen bei **Kohortenstudien** a priori sehr viele gegenüber Benzol exponierte Personen über lange Zeiträume beobachtet werden, um mit einer ausreichenden Erfolgswahrscheinlichkeit (Power) eine vermutete Risikoerhöhung gegenüber Nichtexponierten, z. B. der Allgemeinbevölkerung, nachweisen zu können. Das gleiche gilt für **Fall-Kontroll-Studien**, bei denen NHL als „Fälle“ aus einer sehr großen Population eingeschlossen werden müssen. Dies setzt aufgrund der relativen Seltenheit der Erkrankungen prinzipiell nicht nur den Organisationsaufwand einer Multicenterstudie, sondern auch ein funktionierendes Krebsregister voraus.
  - Würden beispielsweise betriebsärztlich im Rahmen einer Inzidenzstudie 1.000 exponierte Mitarbeiter im Alter von unter 50 Jahren einer Firma zehn Jahre lang (entspricht 10.000 Personenjahre) hinsichtlich ihrer neu auftretenden Krankheitsdiagnosen beobachtet, lassen sich im Vergleichskollektiv der „Allgemeinbevölkerung“ bei einer mittleren Inzidenz von  $10 \times 10^{-5}$  pro Personenjahr am Ende der Studie nur eine Neuerkrankung als Gesamtheit aller NHL

erwarten. Im Falle eines durch die betriebliche Benzoleinwirkung verdoppelten Erkrankungsrisikos wäre dementsprechend bei diesen Beschäftigten mit zwei Neuerkrankungen an NHL zu rechnen. Bei zwei eingetretenen Erkrankungsfällen in dieser Kohorte würde sich ein 95 %-Konfidenzintervall mit Werten zwischen 0,24 und 7,2 ergeben. Erst bei einer Anzahl von vier beobachteten Erkrankungsfällen kommt es aber zu einer statistischen Signifikanz gegenüber den Erwartungswerten in der Allgemeinbevölkerung, weil dann die untere Grenze des 95 %-Konfidenzintervalls bei 1,09 liegt. Vier beobachtete Todesfälle entsprechen jedoch in diesem Beispiel bereits einem um das vierfache erhöhten Erkrankungsrisiko an NHL.

- Bei der in der arbeitsmedizinischen Epidemiologie als Kohortenstudie üblichen Untersuchung der Todesursachen der Beschäftigten würde sich unter Annahme einer Letalität der NHL von z. B. 50 Prozent - selbst bei dem Verdoppelungsrisiko  $RR = 2,0$  - die Zahl der Todesfälle in dem Zehnjahreszeitraum des Mortalitäts-Follow-up nochmals um 50 Prozent auf  $n = 1$  reduzieren.

Es liegt daher auf der Hand, dass mit den betriebsüblichen Studiengrößen und Studiendauern eine statistisch belastbare Aussage zur Überhäufigkeit der heute international anerkannten, insgesamt  $n = 42$  Untergruppen umfassenden, NHL (s. Ziff. 2) nicht getroffen werden kann.

2. Als NHL werden Lymphome bezeichnet, deren maligne Zellen dem lymphoproliferativen Gewebe entstammen und nicht die typischen Kennzeichen von Hodgkin-Krebszellen aufweisen. Es handelt sich um eine komplizierte Nomenklatur maligner Erkrankungen, die nicht nach kausalen, sondern primär nach diagnostischen und prognostischen Kriterien, d. h. im Wesentlichen mit klinisch-therapeutischer Zielsetzung differentialdiagnostisch unterschieden werden kann.

Hierzu dienen neben morphologischen und zytogenetischen Merkmalen zunehmend immunphänotypische, molekularbiologisch-genomische und -proteomische Charakteristika. Die International classification of diseases (ICD) in ihrer jetzt gültigen zehnten Fassung (German modification) unterteilt einerseits die Leukämien in fünf Hauptgruppen (C 91 - C 95) mit zusammen 25 Untergruppen und andererseits die NHL in vier Hauptgruppen (C 82 - C 85) mit weiteren 25 Untergruppen.

In der klinisch gebräuchlichen Klassifikation der malignen Lymphome (H. Stein und W. Hiddemann, 1999) werden jedoch **weitere 17 Untergruppen der ICD 10**, nämlich

- die bösartigen immunproliferativen Krankheiten (C 88) mit ihren sechs Subtypen,
- das Plasmozytom und bösartige Plasmazellen-Neubildungen (C 90) mit drei Subtypen sowie
- die lymphatischen Leukämien (C 91) mit weiteren acht Subtypen

als NHL klassiert.

Demgegenüber haben früher sowohl die ICD-7 bis 9 ebenso wie auch die jetzt gültige ICD-10 diese **17 Untergruppen** der drei genannten Hauptgruppen C 88, C 90 und C 91 aus der Definition der NHL **ausgeschlossen**. Diese der WHO-Klassifikation widersprechende Zuordnung der NHL bei Anwendung der ICD-9 lässt sich aus den Angaben in der Arbeit von Glass et al. (2003) beispielhaft demonstrieren. Zu den von den Autoren als NHL gezählten 31 Fällen (ICD-9: 200, 202) wären aber nach WHO-Kriterien die elf Fälle mit CLL (ICD-9: 204.1), die drei anderen Leukämien (ICD-9: 202.4, 204.9 – eine Haarzell-Leukämie, zwei unspezifizierte lymphocytische Leukämien), und die 15 MM (ICD-9: 203) hinzuzuzählen, so dass es insgesamt nicht 31 „NHL“ sondern 60 NHL sind.

3. Rückblickend haben sich insoweit die Klassifikationen für die Vielzahl hämato-lympho-proliferativer Erkrankungen öfter als bei allen anderen malignen Erkrankungen gravierend verändert. Die neue WHO-Konsensus-Klassifikation ist aus der in Europa weit verbreiteten Kiel-Klassifikation und dann mit wenigen Änderungen aus der 1994 veröffentlichten „Revised European-American-Lymphoma (REAL) Classification“ hervorgegangen. Sie ist seit 1999/2001 weltweit – einschließlich der Bundesrepublik Deutschland – von den zuständigen Fachgesellschaften anerkannt worden.

Demgegenüber wurde in epidemiologischen Studien international das Vorliegen von NHL stets nach den Vorgaben der jeweils gültigen ICD differenziert. Daher ist es aus den unter Ziff. 2 genannten Gründen **nicht** zu erwarten, dass durch die Anwendung der damals zeitgemäßen ICD das gesamte, umfangreiche Spektrum der Haupt- und Untergruppen der NHL zutreffend und insbesondere vollständig erfasst wurde.

4. Eine gewisse Annäherung der ICD-9 an den aktuellen Wissensstand der Einordnung von NHL erhält man, indem folgende Diagnose-Hauptgruppen zusammengefasst werden:

- ICD-9: 200 - Lymphosarkom und Retikulosarkom,
- ICD-9: 202 - Sonstige bösartige Neubildungen des lymphatischen und histiozytären Systems (darunter z. B. auch Noduläres Lymphom, Mykosis fungoides und Haarzellenleukämie),
- ICD-9: 203 - Multiples Myelom und immunoproliferative Neubildungen (MM),
- ICD-9: 204.1 - Chronische lymphatische Leukämie (CLL).

Bei älteren Versionen der ICD (ICD-7 und ICD-8) ist analog zu verfahren.

5. Eine retrospektive dosimetrische Abschätzung der Exposition gegenüber Benzol gestaltet sich als sehr schwierig:

Benzol trat auch in der Vergangenheit in der Regel nicht in reiner Form, sondern insbesondere bei handwerklichen Tätigkeiten als **nicht deklariertes Rezepturbestandteil** in Lösemitteln oder anderen Zubereitungen auf. So betrug in den 50er-Jahren der Benzolgehalt in Toluol 2 - 20%, derjenige in Xylol 0,2 – 5,4% und auch in vielen Klebstoffen, Reinigungs-, Verdünnungs- und

Lösemitteln war Benzol in unterschiedlicher Konzentration auch **undeclariert** enthalten (BGIA 2006).

Für die konkret erforderliche dosimetrische Abschätzung der zeitlichen Dauer und Intensität der einwirkenden Benzolkonzentration in ml Benzol/m<sup>3</sup> Atemluft pro Arbeitsschicht ist man in der Regel sowohl bei Kohorten- als auch bei Fall-Kontroll-Studien lediglich auf Angaben der Erkrankten bzw. der Betriebe beim Umgang mit solchen Chemikaliengemischen angewiesen. Hinzu kommt, dass valide dosimetrische Expositionsabschätzungen selbst in Deutschland beispielsweise vor 1980 allein wegen der damals noch unzureichenden gefahrstoffanalytischen Möglichkeiten beeinträchtigt sind. Wegen fehlender zuverlässiger Messwerte wird daher für Tätigkeiten, je weiter sie zurück in der Vergangenheit liegen, die Zuverlässigkeit der Expositionsabschätzungen immer weniger präzise. Es muss jedoch mit hoher Wahrscheinlichkeit davon ausgegangen werden, dass die Belastungen durchweg höher waren.

Dosimetrische Unter- und Überschätzungen der kumulativen Exposition verzerren jedoch die in einer Studie errechneten Risikoschätzer für eine Dosis-Häufigkeitsbeziehung erheblich. Denn das erste Gesetz der Toxikologie lautet: "Die Dosis bewirkt die Giftigkeit (den Effekt)". Erschwerend kommt der Umstand hinzu, dass arbeitsbedingt gegenüber Benzol exponierte Personen in der Regel auch einer Koexposition mit anderen potentiell krebserzeugenden Arbeitsstoffen ausgesetzt waren.

Folgende Erklärungen für die negativen Studienergebnisse sind daher in Betracht zu ziehen:

1. Die Arbeitshypothese einer Risikoerhöhung für NHL durch Benzol trifft nicht zu. Die relativ wenigen Studien mit einer positiven Assoziation zwischen Benzol und NHL sind reine Zufallsbefunde.

Gegen das völlige Verwerfen der Arbeitshypothese einer Risikoerhöhung spricht jedoch die **biologische Evidenz**. Hiernach sind die gentoxischen Metabolite des Benzols als systemische Kanzerogene ubiquitär im Körper verteilt und daher generell geeignet, nicht nur akute myeloische Leukämien sondern auch NHL zu verursachen (Whysner 2000; Whysner et al. 2004). Die kanzerogene Wirkung von Benzol auf periphere lymphatische Zellen bzw. Gewebe wurde auch tierexperimentell nachgewiesen (NTP 1986; Maltoni et al. 1989; Huff et al. 1989).

2. Die Studienumfänge sind zu gering, um mit ausreichender Wahrscheinlichkeit (Power) auch eine tatsächlich bestehende Risikoerhöhung für die Gesamtheit der n = **42 Untergruppen der NHL** nachweisen zu können.

Um mit einer Kohortenstudie eine Risikoverdopplung für diese Gesamtheit der NHL mit einer Power von 80 % auf dem 5 %-Niveau (einseitiger Test) nachweisen zu können, muss bei Benutzung eines externen Standards (bevölkerungsbezogene Sterbe- bzw. Inzidenz-Ziffern; Risikomaß SMR bzw. SIR) die erwartete Anzahl von Sterbe- bzw. Erkrankungsfällen mindestens n = 10 sein.

Um mit einer Fall-Kontroll-Studie eine Risikoverdopplung für die Gesamtheit der NHL bei einer angenommenen Prävalenz der Exposition unter den Kontrollen von 5 % mit einer Power von 80 %

nachweisen zu können, benötigt man bei einem Verhältnis von Fällen zu Kontrollen von 1:2 rund  $n = 400$  und bei einem Verhältnis von 1:4 rund  $n = 300$  Fälle (Breslow und Day 1987). Ist die Expositionsprävalenz unter den Kontrollen geringer als die angenommenen 5 %, vergrößert sich die benötigte Fallzahl entsprechend.

Obwohl es sich bei den Kohortenstudien oftmals um große Kollektive mit mehrjährigen Follow-up-Zeiten handelt, liegen wegen der niedrigen Inzidenz bereits der Gesamtheit der NHL die erwarteten Fälle deutlich unter der vorstehend begründeten Zahl von  $n = 10$ . Der Nachweis einer Risikoverdoppelung, auch wenn diese tatsächlich bestünde, ist daher mit großer Wahrscheinlichkeit anhand solcher Studien nicht zu erbringen.

Der statistisch abgesicherte Nachweis einer durch Benzol bedingten Risikoerhöhung für jede einzelne der **42 Untergruppen der NHL** stellt somit erst recht eine Überforderung der gegebenen Möglichkeiten der epidemiologischen Methodik dar. Es muss bedacht werden, dass die Untergruppen zum Zweck der Prognostik und Therapie entwickelt wurden und weiterentwickelt werden. Ein klarer Hinweis auf eine differentielle Ätiologie ist daraus nicht abzuleiten.

Im Gegensatz zu den Kohortenstudien sind immerhin rund ein Drittel der bis 2005 publizierten Fall-Kontroll-Studien (Literatur der Studien bis 1999 siehe Möhner und Heuchert 2000) mit einem ausreichend großen Stichprobenumfang durchgeführt worden, um eine bestehende Risikoverdoppelung nachweisen zu können. Von diesen Studien haben aber nur drei ein signifikantes Ergebnis für einzelne Hauptgruppen oder die nach ICD jeweils erfassbare Gesamtheit der „NHL“ erbracht (Demers et al. 1993, MM OR = 2.10 (95%-CI: 1.2-3.6) für Maler; Fabbro-Peray et al. (2001), NHL OR = 2.0 (95%-CI: 1.1-3.9) bzw. OR = 4.6 (95%-CI: 1.1-19.2) kumulierte Exposition > 810 Tage und Dryver et al. (2004), „NHL“ (ICD-7 200, 2002) OR = 1.77 (95%-CI: 1.13-2.76) für Maler bzw. OR = 1.45 (95%-CI: 1.13-1.86) für Umgang mit aromatischen Kohlenwasserstoffen.

Es sei angemerkt, dass unter den restlichen Fall-Kontroll-Studien mit insuffizienten Stichprobenumfängen in drei Studien statistisch gesicherte Risikoerhöhungen nachgewiesen wurden. Diese Häufigkeit widerspricht nicht der Tatsache, dass die Power dieser Studien jeweils kleiner als 80 % für den Nachweis selbst einer Risikoverdoppelung ist.

Wenn in Studien mit zu geringer Power keine statistisch abgesicherten Risikoerhöhungen nachweisbar sind, versucht man durch Zusammenfassung dieser Studien mittels Meta-Analyse die Chance für den Nachweis einer statistisch gesicherten Risikoerhöhung zu verbessern. Allerdings haben auch die Meta-Analysen, wie an anderer Stelle skizziert, bisher keine statistisch gesicherte Risikoerhöhung ergeben. Inwieweit die ICD-bedingte Nichtberücksichtigung wichtiger Haupt- und Untergruppen der NHL hierzu beiträgt, ist ohne Neuberechnung der Datensätze nicht zu beurteilen.

3. Als weiterer Grund für den negativen Ausgang der Mehrzahl der Studien und der darauf basierenden Meta-Analysen ist zu prüfen, ob in diesen Studien die meisten Personen einer zu geringen Benzolexposition ausgesetzt waren, um bösartige Neubildungen des lymphoproliferativen Gewebes zu verursachen.

Die Angaben zur Exposition in Fall-Kontroll-Studien basieren meist auf den Aussagen der Probanden oder – nach deren Tod – auf denjenigen ihnen nahestehender Personen. Nur selten dürfte jedoch jemand in der Lage sein, exakte Angaben über den Umfang einer stattgefundenen Benzolexposition im o. g. dosimetrischen Sinne zu machen. Oftmals wird auch nicht ausdrücklich nach dem Umgang mit Benzol, sondern nur nach dem Umgang mit „Lösungsmitteln“ bzw. den ausgeübten Tätigkeiten gefragt. Ob und wieviel Benzol die Rezeptur eines Lösungsmittels enthält bzw. die Tätigkeit mit einer Exposition gegenüber Benzol verbunden ist, wird dann in einem weiteren Schritt durch Experten geschätzt.

Etwas genauere Angaben über die stattgefundenene Benzolexposition gewährleisten Kohortenstudien an Beschäftigten der Industrie, wenn aus Betriebsunterlagen sowohl teilweise Messergebnisse über die Benzolkonzentration in der Raumluft für bestimmte Arbeitsplätze zu entnehmen sind sowie die Arbeitsanamnese für einzelne Personen in qualifizierter Weise rekonstruierbar ist. Allerdings sind Messwerte gerade für die länger zurückliegenden Zeiträume häufig sehr lückenhaft. Es ist daher nicht auszuschließen, dass es bei den auf diesen Daten fußenden Expositionseinstufungen zu Über- wie Unterschätzungen in Bezug auf Höhe und Dauer der Exposition kommt. Dieses „Rauschen“ bedingt in der Regel eine **Risikounterschätzung** (Wong 1987b S. 394; Buzas et al. 2005).

Als Marker einer stattgefundenen wesentlichen Benzolexposition in Kohortenstudien kann unter Berücksichtigung der relativ kurzen Latenzzeit von Leukämien die Zunahme von Erkrankungen an akuter myeloischer Leukämie (AML) bzw. an akuter nicht lymphatischer Leukämie (ANLL) angesehen werden. Da in den für die Fragestellung relevanten Kohortenstudien nur in wenigen auch Erkrankungs- bzw. Todesfälle an ANLL überhäufig auftraten, ist zu fragen, ob in den meisten Studien die Benzolexposition nicht so gering war, dass selbst diese Leukämieraten nicht erhöht wurden.

Stimmt man dieser Argumentation zu, dann sind Kohortenstudien, in denen nicht einmal das Leukämierisiko erhöht ist, erst recht ohne Informationswert für die zur Diskussion stehende Frage, ob eine Benzolexposition auch ein Risikofaktor für die Entstehung von Non-Hodgkin-Lymphomen ist. Auf diesen Sachverhalt haben u. a. Goldstein und Shalat (2000) hingewiesen:

*„It is unreasonable to ask the question of whether benzene causes multiple myeloma (MM) in a cohort in which the benzene effect, if any, is too weak to observe an increase in the relative risk of acute myelogenous leukaemia (AML). AML is known to be caused by benzene and has a higher background incidence and likely a shorter latency period than MM, making the causal relation between benzene and AML much easier to detect epidemiologically. Although not stated by Bergsagel et al. (1999), the same epidemiological approach that did not find a statistical significant increase in MM also did not find an increase in AML in this cohort. It is as if the authors asked the question of whether cigarette smoking causes MM but chose to address it in a cohort in which the extent of cigarette smoking was sufficiently minimal that there was no increase in lung cancer. The laboratory equivalent would be to draw negative conclusions from a study in which a positive control turned out to be negative.“*

Wie dargelegt, erschweren

- die relative Seltenheit der Erkrankung,
- der häufige Wechsel der Klassifikation der NHL in der Vergangenheit,
- die Unsicherheiten einer verlässlichen Bewertung der Jahrzehnte zurückliegenden Benzolexpositionen und
- die nicht auszuschließende berufliche und in den Studien unzureichend erfasste Koexposition gegenüber anderen potentiellen Kanzerogenen

die Bewertung der Studienergebnisse in gravierender Weise.

## 2.2. Zusammenfassende Bewertung der epidemiologischen Befunde

Bei der Gesamtbewertung ist zu berücksichtigen, dass in der Mehrzahl der Studien kein zwingender Zusammenhang zwischen einer Benzolexposition und der Verursachung von „NHL“ gefunden wurde. Ein Schwachpunkt vieler Studien ist die *unzuverlässige* Abschätzung der vor Jahren stattgefundenen Benzolexposition. Selbst für die Pliofilm Kohorte wird eine Fehlklassifikation der Exposition nicht ausgeschlossen (Rinsky et al. 2002 S. 479 1. Satz rechts). Daher wurde in dieser Bewertung als Indikator für eine arbeitsmedizinisch-toxikologisch wesentliche Benzolexposition in einem Kollektiv der Nachweis einer Risikoverdoppelung für das Auftreten von AML gewählt.

Die Pliofilm Kohorte gilt als das Kollektiv, das primär nur gegenüber Benzol als Kanzerogen exponiert war. In den anderen Kollektiven, in denen ebenfalls deutlich erhöhte Risiken für AML nachgewiesen wurden und somit von einer deutlichen Benzolexposition ausgegangen werden kann, sind Koexpositionen nicht auszuschließen. Allerdings könnte eine Koexposition die aufgezeigte Risikoschätzung nur dann beeinflussen (modifizieren), wenn diese sowohl mit der Benzolexposition korreliert als auch selber ein Risikofaktor für Lymphome ist. In der Pliofilm Kohorte ist das Risiko für das Multiple Myelom mit einer SMR von 2,12 zwar erhöht, es ist aber noch nicht überzufällig von dem Erwartungswert 1 verschieden. Da jedoch in dem langen Beobachtungszeitraum von 1960 (Beginn der gesonderten Ausweisung des MM als Todesursache in den USA) bis 1996 auch nur 2,35 Myelome erwartet wurden, ist die Power dieser Studie zu gering, eine Risikoverdoppelung auch nachzuweisen (siehe Punkt 2, Seite 40). Das Studienergebnis spricht somit nicht gegen einen Zusammenhang zwischen Benzolexposition und dem Auftreten eines multiplen Myeloms.

Fasst man die Studienergebnisse der vier Studien mit deutlich erhöhtem AML-Risiko zusammen, dann ist das geschätzte **MM-Risiko** von 2,29 auch deutlich von 1 verschieden. Damit ist es auch aus epidemiologischer Sicht wahrscheinlich, dass eine Benzolexposition nicht nur AML, sondern auch MM verursachen kann.

Die Ergebnisse der Studie von Glass et al. (2003, 2005) zeigen einen Zusammenhang zwischen Benzolexposition und **CLL** auf. Die Zusammenfassung der Studienergebnisse für den nach ICD-9 eingeschränkten Bereich der NHL verfehlt zwar die Signifikanz. In der Studie von Fabbro-Peray et al.

(2001), in der nach der neuen WHO-Klassifikation die Diagnose gestellt wurde und in der nach Koexpositionen im Auswertungsmodell adjustiert wurde, wird jedoch eine signifikante Risikoerhöhung nachgewiesen.

Auch Wong (1987a) hatte beim internen Vergleich des „**NHL**“-Risikos der gegenüber Benzol exponierten Chemiewerker (13 Fälle) mit den nichtexponierten Chemiewerker (zwei Fälle) eine statistisch signifikante Risikoerhöhung von 3,77 erhalten (Mantel-Haenszel Chiquadrat 4,34;  $p = 0,4$ ; S. 377 Tab. 13). Seiner Meinung nach minimiert ein derartiger interner Vergleich den Einfluss möglicherweise gleichzeitig bestehender anderer Expositionen auf die benzolbedingte Risikoabschätzung (S.366, linke Spalte).

Unter den vorstehend ausgeführten Annahmen und Ergebnissen ist es **auch** aus epidemiologischer Sicht wahrscheinlich, dass das von der IARC als gesichertes Humankarzinogen eingestufte Benzol ab einer arbeitsmedizinisch-toxikologisch wesentlichen Einwirkung (Dosis) nicht ausschließlich AML, sondern auch „NHL“ und Multiples Myelom verursachen kann (siehe auch Woitowitz et al. 2003).

Zum gleichen Schluss kamen auch schon Savitz und Andrews (1997) in ihrer Schlussfolgerung nach einer kritischen Sichtung der Literatur, indem sie schreiben (S. 293, conclusion):

*„The epidemiologic evidence linking benzene to leukemia in the aggregate, as well as acute and chronic lymphocytic and myeloid leukemia, is no less persuasive than that for AML alone. Specificity of association was once cited as a hallmark of causality (Hill, 1965), yet with expansion of knowledge regarding agents such as tobacco, ionizing radiation, and asbestos, the criterion of specificity has little value. By analogy with other known carcinogens, it would be surprising if benzene's only carcinogenic effect was on AML. Limitations in the literature, particularly in regard to exposure assessment and the ability to isolate benzene from concomitant workplace exposures preclude more definitive conclusions.“*

### **Bestimmung einer Grenzdosis**

Versucht man anhand der Studien eine Grenzdosis für jede einzelne Entität abzuleiten, ab der ein deutlich erhöhtes Risiko zu erwarten ist, stößt man auf folgende Schwierigkeiten:

- Die geltende WHO-Definition umfasst derzeit 42 Untergruppen der NHL. Selbst die ICD-10 umfasst hiervon lediglich 25 Entitäten. Hieraus folgt, dass 17 Untergruppen bisher epidemiologisch nicht als NHL bezeichnet wurden.
- Die Fallzahlen für einzelne Entitäten sind auch in großen Kohorten oft zu klein, um bei der gegebenen Variabilität in der Krankheitsverursachung Dosis-Wirkungsbeziehungen eindeutig nachweisen zu können.
- Die Klassifikation der Lymphome und Leukämien folgt primär diagnostischen und kurativen, keinesfalls aber ätiologischen Prinzipien, so dass Fehlzuordnungen der Entitäten zu den ICD-Codes mehr oder weniger häufig in den einzelnen Studien und Dekaden eingetreten sein können. Bei kleinen Fallzahlen kann eine derartige Fehlklassifikation die Risikoschätzung und Dosis-Wirkungsbestimmung entscheidend tangieren.

- Bei Mortalitätsstudien kann es zu einer Untererfassung bestimmter Entitäten kommen. So weist Glass (2006; S. 86 3. Zeile) darauf hin, dass von den elf CLL-Fällen im Studienzeitraum 1981-1999 der Health Watch Studie nur eine Person verstorben war.
- Auch unter größter Sorgfalt der Experten bei der Expositionsabschätzung kann es zu wesentlich unterschiedlichen Werten pro Person kommen. So differieren die für die gleichen 14 Personen mit Leukämie in der Pliofilm Kohorte von drei unterschiedlichen Untersucherguppen bestimmten kumulativen Benzolbelastungen erheblich (maximal im Verhältnis 1:533), wie aus der Tabelle 3 zu entnehmen ist.

**Tabelle 3: Leukämien (14 Fälle) der Pliofilm-Studie nach der von drei Autorengruppen geschätzten kumulativen Benzolexposition (nach Paustenbach et al. 1993)**

Typ der Leukämie	Jahr der ersten Exposition	Kumulative Exposition (ppm-Jahre)		
		Rinsky	Crump	Paustenbach
AML-C	1939	474	937	900
AGL	1941	639	2150	1420
AML-C	1942	98	306	668
AML-B	1942	252	324	1120
AML-G	1944	497	1490	1000
AML-C	1945	259	51	1050
AML	1948	1	15	533
CML	1950	90	65	336
Monocytisch	1940	50	379	116
ALL	1940	62	144	291
Unspezifisch	1945	7	50	11
CML	1948	0,1	3	3
Unspezifisch	1949	1	7	9
Myelogen	1950	10	23	54

**AML, acute myelogenous leukemia (AML-C, cystic; AML-B, blastocytic; AML-G, granulocytic);**

**CML, chronic myelogenous leukemia; AGL, acute granulocytic leukemia; ALL, acute lymphocytic leukemia**

- Die Höhe der Exposition kann mutmaßlich einen Einfluss auf die Verteilung der Leukämietypen ausüben. So berichtet Paxton (1996), dass in der Pliofilm Kohorte am Standort St. Marys unter den sechs Leukämien keine exakt definierte AML aufgetreten ist. Hingegen dominierte am Standort Akron mit einer durchschnittlich höheren Benzolexposition unter den insgesamt zehn lymphohämatopetischen Malignomen mit acht Fällen die AML.

- In Kohortenstudien hat der Abstand zwischen dem Ende der Exposition und dem Ende des Follow-up einen deutlichen Einfluss auf den Risikoschätzer, wie Silver et al. 2002 anhand der Daten der Pliofim Kohorte demonstriert. Auf einen Anstieg des Risikos mit der Nachbeobachtungszeit folgt, je länger die Zeitspanne zwischen dem Ende der Exposition und dem Cutpoint für das Follow-up wird, eine deutliche Risikominderung. So ergibt sich bei einem theoretischen Studienende 1961 bei acht Leukämiefällen eine SMR von 13,55 (95%-CI: 5,83 – 26,70), 1971 bei immer noch acht Fällen eine SMR von 5,30 (2,32 - 10,63), 1981 bei nun neun Fällen eine SMR von 3,16 (1,44 - 6.01), 1991 bei 15 Fällen eine SMR von 3,12 (1,74 - 5,14) und am tatsächlichen Studienende 1966 bei 15 Fällen eine SMR von 2,47 (1,38 - 4,07).

Ein analoges Bild – Anstieg der SMR und dann Abfall - ergibt sich auch für das Multiple Myelom, nur dass die SMR bedingt durch die insgesamt nur fünf Fälle keine Signifikanz erreicht.

Auch in der Health Watch Studie (Glass et al. 2006) zeigt sich das gleiche Phänomen, wie die Zahlen in der Tabelle 4 zeigen.

**Tabelle 4: Risiko für lymphohämatopoetische Malignome der Männer im zeitlichen Verlauf (nach Glass et al. 2006)**

	SIR (CI 95 %) <sup>1)</sup>					
	1987	1988-89	1992	1998	2000	2005
Leukämie	2,0(0,6-4,6)	3,4(1,7-5,9)	2,8(1,7-4,5)	2,0(1,3-2,9)	1,5(1,0-2,2)	1,1(0,7-1,5)
Non-Hodgkin-Lymphom (NHL)	1,1(-)	1,7(0,8-3,1)	1,3(0,7-2,2)	0,9(0,6-1,3)	1,0(0,7-1,4)	0,9(0,7-1,2)
Multiples Myelom (MM)	1,1(-)	2,2(0,6-5,6)	1,8(0,7-3,9)	1,9(1,0-3,3)	1,7(0,9-2,8)	1,1(0,6-1,8)

<sup>1)</sup> standardized incidence ratio

- Auch die Abhängigkeit der Produktion toxischer Metabolite von der Höhe der Benzolexposition ist bei dem Dosis-Wirkungsnachweis zu beachten. Auf Benzolmessungen in der Luft am Arbeitsplatz und biologischem Monitoring basierende Untersuchungen unter Beschäftigten ergaben, dass **Sättigung** des primären metabolischen Weges über Cytochrom P4502E1 bereits bei einer Exposition im Bereich von 1 ppm Benzol beginnt (Rappaport et al. 2002). In einer weiteren Studie wurde gezeigt, dass sich die dosisbezogene Produktion der vier Hauptmetaboliten zwischen dem 2,5- bis 26-fachen reduzierte, wenn die mediane

Benzolexposition im Bereich von 0,027 bis 15,4 ppm anstieg. Dabei war die Verringerung der Produktion von Catechol und Phenol bei <1 ppm am deutlichsten. Dies zeigt, dass der Metabolismus bei **niedrigen Expositionen** die Produktion der toxischen Metabolite Hydrochinon und Mercaptursäure bevorzugt (Kim et al. 2006). Aus diesen Untersuchungen resultiert, dass für den Bereich hoher kontinuierlicher Expositionen nicht mehr mit einer Linearität von Dosis-Wirkungsbeziehungen gerechnet werden kann. Problematisch ist auch die Betrachtung von hohen Expositionsspitzen, wenn nicht zusätzlich der durchschnittliche Level der Benzolexposition der betroffenen Personen in epidemiologischen Analysen berücksichtigt wird. Überwiegt der Anteil hochexponierter Personen in epidemiologischen Analysen, so kann das zu einer Unterschätzung des kanzerogenen Risikos niedriger Dosisbereiche führen. Aus toxikologischer Sicht sind daher epidemiologische Studien, die Benzolexpositionen und Dosis-Wirkungsbeziehungen in den kritischen niedrigen Bereichen differenziert analysieren, für die Risikobewertung besser geeignet. Sie sind daher bevorzugt zu berücksichtigen.

Als aussagefähigste epidemiologische Studien zur Bestimmung von Dosis-Wirkungsbeziehungen, die sich auf umfangreiche Untersuchungen zur retrospektiven Bewertung der Benzolexposition stützen, stehen gegenwärtig folgende drei zur Verfügung:

- Die vom U.S. National Institute of Occupational Safety and Health eingeleitete Pliofilm-Kohortenstudie (N = 1.868);
- Die gemeinsam von der Chinese Academy of Preventive Medicine und vom U.S. National Cancer Institute durchgeführte Kohortenstudie unter chinesischen Arbeitern mit (N = 74.828) und ohne Benzolexposition (N = 35.805);
- Die von der University of Melbourne begonnene und später von der University of Adelaide für das Australian Institute of Petroleum fortgeführte Kohortenstudie unter Beschäftigten der Petroleumindustrie (N ≈ 18.000).

In der **Pliofilm Kohorte** wurden insgesamt 15 Leukämien und je fünf Non-Hodgkin-Lymphome und Multiple Myelome erfasst. Für die 15 Leukämien konnte, wie aus der Tabelle 5 hervorgeht, eine deutliche Dosis-Wirkungsbeziehung nachgewiesen werden.

**Tabelle 5: Relatives Risiko (RR) für Leukämie unter weißen Arbeitern der Pliofilm-Studie in Beziehung zur kumulativen Benzolexposition (nach OEHHA 2003; um Rinsky 2002 erweitert)**

Expositions- matrix	ppm-Jahre		Personen- Jahre	Fälle	Erwartete Zahl der Fälle	RR	95 % CI
	Kategorie	Mittel- wert					
Rinsky et al. 1987	0-39	15,9	29648	5	2.228	2.24	0.73-5.24
	40-199	93,3	7209	4	0.677	5.91	1.61-15.13
	200-399	260,8	2476	2	0.232	8.64	1.03-31.12
	≥400	530,1	1059	3	0.086	34.76	7.21-101.98
Rinsky et al. 2002	0-39	15,9		6	4.13	1.45	0.53-3.31
	40-199	93,3		4	1.25	3.21	0.86-8.89
	200-399	260,8		2	0.36	5.55	0.62-24.08
	≥400	530,1		3	0.13	23.96	4.82-78.51
Crump & Allen	0-39	15,5	24907	4	1.842	2.17	0.59-5.56
	40-199	108,0	9385	3	0.801	3.74	0.77-10.95
	200-399	279,0	3100	4	0.280	14.29	3.89-36.57
	≥400	808,4	3026	3	0.320	9.39	1.94-27.41
Paustenbach et al.	0-39	16,7	20354	3	1.405	2.14	0.44-6.24
	40-199	108,9	9827	2	0.816	2.45	0.29-8.85
	200-399	290,9	3587	2	0.349	5.73	0.69-20.69
	≥400	745,3	6623	7	0.673	10.41	4.18-21.43

Aus einer Modellrechnung (Rinsky et al. 2002) ergibt sich, dass zwischen den ppm-Jahren (x) und dem relativen Risiko an Leukämie zu sterben, folgende lineare Beziehung besteht:  $RR = 1 + \beta x$ , wobei  $\beta = 0,0233$  geschätzt ist und der Fehler dieses Koeffizienten 0,0066 beträgt (S. 478 Tabelle V). Daraus folgt, dass das Exzessrisiko pro ppm-Jahr 2,3% beträgt und für eine Risikoverdoppelung rund 43 ppm-Jahre erforderlich wären. Für zehn ppm-Jahre errechnet sich ein um 23% erhöhtes Risiko.

Für das MM ergab sich als Modell die Beziehung  $RR = \exp(\beta x)$  mit  $\beta = 0,00301$  und einem Standardfehler von 0,00222. Das Exzessrisiko pro ppm-Jahr beträgt diesem Modell nach somit 0,3%, also 3% bei zehn ppm-Jahren. Für eine Risikoverdoppelung wären rund 230 ppm-Jahre erforderlich. Wie einleitend ausgeführt ist zu beachten, dass der Modellrechnung nur fünf MM-Fälle zugrunde liegen. Bemerkenswert ist, dass die kumulierte Benzolexposition von drei der fünf MM-Todesfälle **weniger als zehn ppm-Jahre** beträgt und die SMR mit 2,12 (5/2,35) dennoch deutlich erhöht ist.

Für die fünf „NHL“-Fälle hatte sich insgesamt keine Risikoerhöhung nachweisen lassen, so dass auch keine Modellierung erfolgte.

Aus der Arbeit von Hayes et al. (1997), die die Dosisbeziehung zwischen Benzolexposition und dem Auftreten von hämatologischen Neoplasien in der **China-Kohorte** analysieren, ist zu entnehmen, dass bei einer durchschnittlichen Benzolbelastung von **unter 10 ppm** das relative Risiko für alle lymphatisch-hämatologischen Malignome bereits mit 2,2 (95%-CI: 1,1 – 4,2) signifikant erhöht ist und bei einer kumulierten Benzollast von unter 40 ppm-Jahren ebenfalls 2,2 (1,1 – 4,5) beträgt (S. 1068 Tabelle 2). Die Autoren folgern: „Risks for these conditions are elevated at average benzene-exposure levels **less than 10 ppm** and show a tendency, although not a strong one, to rise with increasing levels of exposure.“.

Für die 16 „NHL“ (nodale NHL, da nur ICD 9 200 und 202) ergibt sich folgende Dosis-Wirkungsbeziehung in Abhängigkeit von der durchschnittlichen Benzolbelastung:

< 10 ppm RR = 2,7 (n = 7; 95%-CI: 0,7-10,6); 10-24 ppm RR = 1,7 (n = 2; 0,3-10,2); ≥ 25 ppm RR = 4,7 (n = 7; 1,2-18,1); P für Trend 0,04.

Für die 17 anderen Leukämien (ohne ANLL), die den nicht-nodalen NHL zuzurechnen sind, ergibt sich für die gleichen Expositionsclassen folgende Dosis-Wirkungsbeziehung:

<10 ppm RR = 1,9 (n = 8; 0,6-5,9); 10-24 ppm RR = 2,1 (n = 4; 0,6-7,8); ≥ 25 ppm RR = 2,1 (n = 5; 0,6-7,1); P für Trend 0,27.

Für das „NHL“ ergibt sich eine deutliche Abhängigkeit von der Dauer:

< 5 Jahre RR = 0,7 (n = 1; 0,1-0,7); 5-9 Jahre RR = 3,3 (n = 4; 0,7-14,7); ≥ 10 Jahre RR = 4,2 (n = 11; 1,1-15,9); P für Trend 0,01.

Für die anderen Leukämien ergeben sich für alle Dauern erhöhte Werte ohne aber einen Trend erkennen zu lassen:

< 5 Jahre RR = 2,7 (n = 5; 0,7-9,7); 5-9 Jahre RR = 2,7 (n = 5; 0,8-9,3); ≥ 10 Jahre RR = 1,4 (n = 7; 0,5-4,6); P für Trend 0,83.

Betrachtet man das Risiko in Abhängigkeit von der kumulierten Benzollast (ppm-Jahre), dann ergeben sich die in der Tabelle 6 aufgeführten Dosis-Wirkungsbeziehungen. Mutmaßlich bedingt durch die kleinen Fallzahlen pro Expositionsclassen ergibt sich selbst für die ANLL kein deutlicher Trend. Das höchste RR befindet sich in der mittleren Classen. So ist es auch nicht verwunderlich, dass keine eindeutige Dosis-Wirkungsbeziehung für die anderen Entitäten festzustellen ist.

Betrachtet man nur die Personen, die einer konstanten ppm-Benzolbelastung ausgesetzt waren (entspricht 76% der gesamten Personenjahre unter Risiko), da für diese Personen die Expositionsabschätzung als besonders zuverlässig anzusehen ist (OEHHA 2003 Seite 3 letzter Absatz), dann erhält man die in der Tabelle 7 aufgeführten relativen Risiken in Abhängigkeit von der kumulativen Exposition. Man sieht, dass sich für alle aufgeführten Entitäten auch deutliche, allerdings statistisch überwiegend nicht signifikante Risikoerhöhungen bei einer mittleren Belastung von **unter zehn ppm-Jahren** abzeichnen. Vergleicht man die Dosis-Wirkungsbeziehungen der relativen Risiken der ANLL mit derjenigen der ANLL+MDS, so sieht man, was bei so kleinen Fallzahlen pro Expositionsgruppe das Hinzufügen von wenigen Fällen die Dosis-Wirkungsbeziehung verändert. Für

ANLL/MDS ist auch numerisch ein kontinuierlicher Risikoanstieg von 3 über 5 auf 7 zu erkennen, während dies für die ANLL alleine mit 2 über 5 auf 4 nicht zutrifft.

Multiple Myelome wurden von Hayes in der China-Kohorte nicht berichtet.

**Tabelle 6: Relatives Risiko pro ppm-Jahres-Klasse (Auszug aus Tabelle 2 von Hayes et al. 1997)**

	<40 ppm-Jahre	40-99 ppm-Jahre	≥100 ppm-Jahre	P für Trend
Alle hämatologischen Neoplasmen	18 2,2 1,1-4,5	11 2,9 1,3-6,5	29 2,7 1,4-5,2	0,004
„NHL“ 200,202	6 3,3 0,8-13,1	1 1,1 0,1-11,1	9 3,5 0,9-13,2	0,02
Andere Leukämien (nicht ANLL)	6 2,0 0,6-6,6	3 2,1 0,5-9,0	8 1,9 0,6-6,0	0,36
ANLL	5 1,9 0,5-7,0	5 4,3 1,1-16,0	11 3,6 1,1-11,6	0,06

**Tabelle 7: Relatives Risiko (RR) für Krankheiten des hämatopoetischen und lymphatischen Systems unter chinesischen Arbeitern nach Kategorien der konstanten Benzolexposition (nach Hayes et al. 1997 und OEHHA 2003)**

Krankheitsgruppe	Nichtexponierte Referenzgruppe	Expositionsbereich in ppm		
		<10	10-24	≥25
		Mittlere Exposition in ppm <sup>*)</sup>		
		1,2	15	60
		Mittlere kumulative Exposition in ppm-Jahre <sup>*)</sup>		
		6,7	67	299
<b>ANLL/ MDS</b>				
Fälle	4	10	4	8
RR (CI 95%)		<b>3,2</b> (1,0-10,3)	<b>5,1</b> (1,3-20,6)	<b>7,1</b> (2,1-23,7)
<b>ANLL</b>				
Fälle	4	6	4	5
RR (CI 95%)		<b>1,9</b> (0,5-6,8)	<b>4,9</b> (1,2-19,8)	<b>4,4</b> (1,2-16,4)
<b>Leukämie</b>				
Fälle	9	12	7	7
RR (CI 95%)		<b>1,7</b> (0,7-4,1)	<b>4,0</b> (1,5-10,7)	<b>2,8</b> (1,0-7,4)
<b>NHL</b>				
Fälle	3	7	0	3
RR		<b>3,0</b> (0,8-11,6)	-	<b>3,5</b> (0,7-17,3)
<b>Alle lymphohämatopoetische Malignome</b> ICD-9 200, 202-208				
Fälle	13	21	8	11
RR		<b>2,1</b> (1,0-4,1)	<b>3,2</b> (1,3 – 7,6)	<b>2,9</b> (1,3-6,6)
Personenjahre	405 000	324 000	88 000	121 000

<sup>\*)</sup> OEHHA, 2003

Ferner zeigt die Studie von Hayes et al. (1997) bereits nach kurzen Latenzzeiten (< fünf Jahre) ein signifikant erhöhtes Risiko für ANLL/MDS (RR = 11,7; CI 95% 2,9-47,3).

Für das NHL waren demgegenüber erst Benzolexpositionen von zehn oder mehr Jahren mit einem signifikant erhöhtem Risiko von RR = 4,2 (CI 95% 1,1-15,9) assoziiert. Dabei war die Assoziation am stärksten, wenn die Benzolexposition wenigstens zehn Jahre vor der Diagnose eingesetzt hatte, d.h. die Latenzzeit wenigstens zehn Jahre betrug (Trend im zweiseitigen Test: p = 0,005).

Zusammenfassend ist festzuhalten, dass sich in dieser Kohorte die benzolinduzierten Risiken für NHL und ANLL/MDS weniger bezüglich der kumulativen ppm-Benzoljahr-Dosis unterscheiden, wohl aber hinsichtlich des zeitlichen Abstandes zwischen Expositionsbeginn und Feststellung der Erkrankung, d.h. der Latenzzeit. Benzolinduzierte NHL erfordern offenbar eine längere Induktionsperiode (Latenzzeit) als ANLL/MDS.

Die Kohortenmitglieder der **Health Watch Studie** weisen im Gegensatz zu denjenigen der Ploifilm Kohorte deutlich geringere kumulative Benzolbelastungen auf, denn für 60 Prozent der Personen wurden weniger als vier ppm-Jahre ermittelt. Dabei sei darauf hingewiesen, dass ab 1975 sehr genaue Angaben über die individuellen Benzolbelastungen vorliegen und die Mehrzahl der Personen erst nach 1965 in die Exposition eingetreten sind (Glass et al. 2003, S. 575 rechte Spalte unten). Die individuelle Expositionsabschätzung ist daher als sehr gut zu bewerten. Sie steht derjenigen in der Ploifilm Kohorte nicht nach, sondern ist eher genauer. Aus den Publikationen von Glass et al. 2003 (S. 573 Tabelle 4) und 2005 (S. 29 Tabelle 2) ist zu entnehmen, dass die in der Tabelle 8 ausgedruckte Dosis-Wirkungsbeziehung zwischen dem Erkrankungsrisiko (Expositions OR) an Leukämie (ICD-9 204-208; n = 33) und der kumulativen Benzolbelastung (ppm-Jahre) besteht.

**Tabelle 8: Leukämierisiko und Benzolexposition nach Glass et al. (2003, 2005)**  
basierend auf 33 Fällen und 165 Kontrollen

ppm-years	OR	95%-CI	ppm-years	OR	95%-CI	OR <sup>1</sup>	95%-CI
≤ 1	1						
>1-2	3,9	0,9-17,1	≤ 2	1		1	
>2-4	6,1	1,4-26,0	>2-4	2,89	0,97-8,53	3,07	1,02-9,28
>4-8	2,4	0,4-13,6	>4-8	1,17	0,27-4,98	1,22	0,28-5,22
>8-16	5,9	1,3-27,0	>8-16	3,11	0,91-10,56	2,68	0,71-10,08
>16	98,2	8,8-1090	>16	51,88	5,64-477	7,79	2,34-25,89

<sup>1</sup> unter Einrechnung der high-exposure events, d.h. von gelegentlichen aber hohen Expositionen (z.B. Waschen von Overalls in Benzin) s. S. 26 linke Spalte 2005.

Die Wahl der Basiskategorie ≤ 2 für die Reanalyse wurde gewählt, da die absolute Differenz der Exposition zwischen den beiden unteren Kategorien gering war und man durch die Zusammenfassung dieser beiden Klassen eine stärker besetzte Referenzkategorie erhielt, s. S. 26 linke Spalte 2005.

So ergeben sich ab einer kumulativen Benzolbelastung von über einem ppm-Jahr deutlich erhöhte Odds Ratios für die 33 Leukämien (ICD-9 204-208). Es sei jedoch noch einmal darauf hingewiesen, dass sich unter den 33 Leukämien insgesamt 16 Subentitäten befinden (11 CLL, zwei ALL, eine Haarzell-Leukämie und zwei unspezifische lymphozytäre Leukämien), die sämtlich den NHL zuzurechnen sind. Wird die kumulative Benzolexposition als kontinuierliche Variable betrachtet, ergibt sich ein Odds Ratio von 1,65 (CI 95% 1,25-2,17), das mit jeder Verdoppelung der mittleren kumulativen Exposition konsistent um 65 % anstieg.

Die Ergebnisse der Analyse von Dosis-Wirkungsbeziehungen für die Leukämietypen *akute nichtlymphatische Leukämie (ANLL)*, *chronische lymphatische Leukämie (CLL)* und *chronische myeloische Leukämie (CML)* sind in Tabelle 9 angegeben. Gegenüber der Referenzkategorie ( $\leq 4$  ppm-Jahre) waren für ANLL und CLL die Odds Ratios bei einer kumulativen Benzoldosis von  $>8$  ppm-Jahren deutlich erhöht.

**Tabelle 9: Beziehungen zwischen Leukämietyp und kumulativer Benzolexposition\***  
(Glass et al. 2003)

Kumulative Benzolexposition (ppm-Jahre)	Odds Ratios nach Leukämietyp		
	ANLL (N = 11)	CLL (N = 11)	CML (N = 6)
$\leq 4$ (Referenzkategorie)	1,0	1,0	1,0
$>4-8$	0,52 (0,05-5,0)	2,76 (0,42-18,1)	-
$>8$	7,17 (1,27-40,4)	4,52 (0,89-22,9)	0,91 (0,08-9,8)

\* nach konditionaler logistischer Regressionsanalyse

ANLL, akute nichtlymphatische Leukämie; CLL, chronische lymphatische Leukämie;

CML, chronische myeloische Leukämie.

Die eingebettete Fall-Kontroll-Studie ergab ohne die Berücksichtigung von Induktionszeiten keinen Zusammenhang zwischen Benzolexposition und dem Multiplen Myelom. Sie korrelierte damit nicht mit dem im Verlauf der Kohortenstudie unter den Männern erhöhten Inzidenzverhältnis von SIR = 1,9 (CI 95 % 1,0-3,3). Mit Ausnahme der zu den B-Zell-Lymphomen zählenden chronischen lymphatischen Leukämie war auch für die übrige Gruppe der Non-Hodgkin-Lymphome keine signifikante Assoziation mit der Benzolexposition nachweisbar.

Fasst man die 15 „NHL“ und die 31 MM zu einer Gruppe von insgesamt 46 Fällen zusammen, so stellt man fest, dass unter den Kontrollen 257 von 395 also rund 65% ppm-Jahre  $>1$  aufweisen und somit exponiert sind und berücksichtigt man das Verhältnis von Kontrollen zu Fällen von 5:1, so beträgt die Power bei einer Dichotomisierung der ppm-Jahre in  $<1$  (nicht exponiert) und  $>1$  (exponiert) nur rund 50%. Es ist also nicht verwunderlich, dass man die Risikoverdoppelung unter diesen Gegebenheiten nicht nachweisen kann. Das negative Ergebnis ist als **nicht informativ** zu werten. Der geringen Power steht nicht entgegen, dass man bei den 33 Leukämien oder den elf ANLL signifikante Risikoerhöhungen trotz kleiner Fallzahl gefunden hat.

Ferner darf nicht übersehen werden, dass, obwohl die eingebettete Fall-Kontroll-Studie den Bereich der kumulativen Benzolexposition unterhalb von 16 ppm-Jahren differenziert betrachtet, die als Referenz verwendeten kumulativen Benzolexpositionen von  $\leq 1$  ppm-Jahr bzw.  **$\leq 4$  ppm-Jahren** aus toxikologischer Sicht bereits eine erhebliche Belastung darstellen und ein kanzerogenes Risiko einschließen. Von den Autoren selbst wird darauf verwiesen, dass keine Evidenz für einen Grenzwert der kumulativen Exposition gefunden wurde, bei dessen Unterschreitung kein Risiko besteht.

## Schlussfolgerungen

1. Aus der Gesamtschau der epidemiologischen Studienergebnisse lässt sich erkennen, dass eine berufliche Benzolexposition grundsätzlich zu allen Malignomen des myeloischen und lymphatischen Systems und deren Vorstufen führen kann.
2. Eine Ableitung der Dosis-Wirkungsbeziehung für die einzelnen Untergruppen der lymphatischen und hämatopoetischen Malignome aus der verfügbaren epidemiologischen Literatur steht vor folgenden Schwierigkeiten:
  - a. Die Klassifikation der Lymphome und Leukämien folgt primär diagnostischen und kurativen, keinesfalls aber ätiologischen Prinzipien.
  - b. Die verfügbaren Klassifikationen haben im Zeitablauf gemäß der Ziffer a. erhebliche Modifikationen erfahren.
  - c. Daraus folgt, dass epidemiologische Studien, die die jeweils gültige klinische Klassifikation verwendet haben, Krankheitsentitäten abgebildet haben, die für sich genommen keine Vergleichbarkeit der Studien untereinander zulassen.
  - d. Aufgrund der fraglichen Validität der Subspezifitäten der in Rede stehenden Krankheiten kann somit eine epidemiologisch belastbare Aussage (auch aufgrund der Fallzahlproblematik) nicht abgegeben werden.

Die deutlichsten Dosis-Wirkungsbeziehungen ergeben sich für die Leukämien (Tabellen 5, 6, 7 und 8), wobei in der Tabelle 8 sich unter den Leukämien auch Entitäten befinden, die zum NHL zu rechnen sind. Für das NHL (Ausnahme die CLL; Tabelle 9) und MM sind keine so ausgeprägten Dosis-Wirkungsbeziehungen wie für die Leukämien zu erkennen. Es gibt jedoch Hinweise dafür, dass das Multiple Myelom (Silver et al. 2002, Collins et al. 2003) und die Non-Hodgkin-Lymphome (Hayes et al. 2001) längere Latenzzeiten erfordern als die akuten nichtlymphatischen Leukämien oder das myelodysplastische Syndrom.

3. Für die Leukämie nach der WHO-Definition einschließlich chronisch-lymphatischer Leukämie (CLL), die aplastische Anämie und das myelodysplastische Syndrom (MDS) ist aus der Gesamtschau der gegenwärtigen epidemiologischen und toxikologischen Evidenz von einer Verursachungswahrscheinlichkeit über 50% ab einem Bereich von zehn ppm-Benzoljahren auszugehen (Tabellen 7, 8 und 9). Dies gilt nicht für die chronisch myeloische Leukämie (CML) (siehe Ziffer 4). Dieser Bereich ist ca. 88-mal (zehn ppm-Benzoljahre) höher als die umweltbedingte Lebenszeitbelastung einer Person ohne berufliche Benzolexposition mit ca. 0,11 ppm-Benzoljahren. Diese Schätzung basiert auf einer städtischen Grundbelastung von 2 [ $\mu\text{g}/\text{m}^3$ ] Benzol in der Außenluft, der Einatmung von 12  $\text{m}^3/24\text{h}$ , einer 24-stündigen Benzolaufnahme in der Umwelt in einem 80-jährigen Lebenszeitraum. Zu beachten ist auch,

dass in allen Studien die Expositionsabschätzung nur auf der Benzolinhalation beruht und die perkutane Absorption von Benzol (z.B. bei der Händereinigung mit Benzol) jeweils unberücksichtigt geblieben ist.

Das kanzerogene Risiko des nach dem heutigen Kenntnisstand relativ niedrigen Bereiches der kumulativen Benzolexposition steht im Einklang mit neuen Erkenntnissen über die Produktion toxischer Benzolmetabolite bei Beschäftigten an Arbeitsplätzen mit relativ niedriger Benzolexposition (Rappaport et al. 2002; Kim et al. 2006).

Auch im Tiermodell lassen sich Malignome mit geringen Benzoldosen induzieren. In einer Lebenszeitstudie des National Toxicology Program der USA (NTP 1986) wurden 0, 25, 50 oder 100 mg/kg Körpergewicht Benzol B6C3F<sub>1</sub> Mäusen oral verabreicht und 0, 50, 100 oder 200 mg/kg F344/N Ratten. Benzol verursachte in beiden Spezies eine beeindruckende Häufung von Tumoren in einer ungewöhnlich großen Zahl von Zielorganen. Beobachtet wurden vor allem auch maligne Lymphome. Diese traten bei männlichen und weiblichen Mäusen in allen dosierten Gruppen häufiger auf als in den Kontrollgruppen (Männchen: 4/49; 9/48; 9/50; 15/49; Weibchen: 15/49; 24/45; 24/50; 20/49). Hyperplasien im Knochenmark waren ebenfalls in allen dosierten Gruppen häufiger als in den Kontrollgruppen (Männchen: 0/49; 11/48; 10/50; 25/49; Weibchen: 3/49; 14/45; 8/50; 13/49). Die niedrigste tumorauslösende Wirkung (Lowest Observed Adverse Effect Level) war mithin die niedrigste untersuchte Dosis von 25 mg Benzol pro kg Körpergewicht (es kann somit nicht ausgeschlossen werden, dass auch in niedriger dosierten Tieren eine Häufung von Tumoren hätte beobachtet werden können).

4. Für die Non-Hodgkin-Lymphome einschließlich des multiplen Myeloms und die myeloproliferativen Erkrankungen einschließlich der chronisch myeloischen Leukämie (CML) lässt die gegenwärtige epidemiologische Datenlage keine präzise Beschreibung des Dosis-Wirkungszusammenhangs zu.

**Anlage A: Für die Bewertung betrachtete Kohortenstudien Zeitraum 1966-2005**

Koh. Nr.	Personen	Follow-up	Autor	Betrieb
1	6 678	1964-72	McMichael et al. 1974	Reifenproduktion / USA
2	6 533	1964-78	Delzell und Monson 1984	Reifenproduktion / USA
3	1 717 1 291	1940-87 1950-96	Paxton et al. 1994; Crump 1996; Rinsky et al. 2002	Gummi-Hydrochlorid Pliofilm Kohorte / USA
4	956	1940-82	Ott et al. 1978; Bond et al. 1986	Dow Chemical / USA
5	34 569	1951-89	Rushton 1993c	Raffinerie / England
6	23 306	1951-89	Rushton 1993a-c	Tanklagerarbeiter / England
7	15 095	1937-77	Wen et al. 1983	Raffinerie Gulf Oil / USA
8	19 077	1947-77	Divine et al. 1985; Divine and Barron 1987	Raffinerie Texaco / USA
9	25 321	1970-82	Hanis et al. 1985a, b	Mineralölverarbeitung Exxon / USA
10		1973-82	McCraw et al. 1985; Honda et al. 1995	Mineralölverarbeitung / USA
11	5 017	1939-82	Pippard und Acheson 1985	Schuhmacher / England
12	13 397	1950-80	Wong et al. 1986; Dagg et al. 1992	Raffinerie Chevron / USA
13	11 098	1946-80	Divine and Barron 1987	Pipelinearbeiter Texaco / USA
14	4 172 7 676	1946-91 1946-77	Ireland et al. 1997 Wong 1987 a, b	Chemiearbeiter / USA
15	74 828	1972-87	Yin et al. 1987 a, b; Hayes et al. 1997	Industriearbeiter/innen / China
16	4 849	1945-84	Bender et al. 1989	Straßenreparaturarbeiter / USA
17	1 595	1949-91	Bertazzi et al. 1989; Consonni et al. 1999	Raffinerie / Italien
18	1 008	1950-90	Paci et al. 1989; Fu et al. 1996	Schuhmacher / Italien
19	13 250	1964-86	Arnetz et al. 1991	Petrochemie / USA
20	15 000	1981-89	Christie et al. 1991a, b	Mineralölindustrie / Australien
21	6 831	1948-83	Marsh et al. 1991	Raffinerie und Chemie / USA
22	2 865	1917-89	Giles et al. 1993	Feuerwehr / Australien
23	6 672	1964-83	Schnatter et al. 1993	Vertrieb Erdölprodukte / Kanada
24	4 585	1973-89	Tsai et al. 1993	Mineralölindustrie / USA
25	5 414	1950-89	Aronson et al. 1994	Feuerwehr / Kanada
26	2 447	1944-89	Demers et al. 1994	Feuerwehr / USA
27	2 665	1980-92	Lagorio et al. 1994	Tankwarte / Italien
28	15 499	1981-91	Weiland und Keil 1995	Kautschukindustrie / Deutschland
29	18 969	1970-89	Lynge et al. 1997	Tankwarte / Skandinavien
30	4 352	1940-77	Collins et al. 2003	Chemiearbeiter / USA
31	5 514	1968-02	Sorahan et al. 2005	Benzolexponierte Arbeiter verschiedener Branchen / England und Wales

### **3. Abgrenzung der „bestimmten Personengruppe“ gemäß § 9 (1) SGB VII**

#### **3.1. Grundsätzliches**

Bei Benzol handelt es sich um eine ubiquitäre Verbindung, deren Vorkommen insbesondere in Kraftstoffen und anderen Mineralölprodukten zu einer unvermeidlichen Belastung der Allgemeinbevölkerung führt. Daher ist es erforderlich, die Abgrenzung der „bestimmten Personengruppe“ aufgrund quantitativer Maße und Kenntnisse über Dosis-Wirkungsbeziehungen vorzunehmen.

Toxische Wirkungen treten bereits bei Expositionskonzentrationen unterhalb 1 ppm Benzol auf, wobei in erster Linie die Lymphozyten im Sinne eines immuntoxischen Effekts betroffen sind (Lan et al. 2004, 2005).

Während die Feststellung des Kausalzusammenhangs bei reversiblen toxischen Effekten durch Beobachtung des Krankheitsverlaufs nach Expositionsende in der Regel unproblematisch ist, ist dies bei irreversiblen Schädigungen (aplastische Anämie) und malignen Erkrankungen weitaus schwieriger.

Wie oben ausführlich dargestellt, belegen einige epidemiologische Studien die Kausalbeziehung zwischen einer beruflichen Benzolexposition und diversen malignen Erkrankungen des blutbildenden und lymphatischen Systems. Die Ableitung einer „Dosisgrenze“ zur Abgrenzung der „bestimmten Personengruppe“ stellt jedoch weitaus höhere Anforderungen an die Datendichte als eine rein qualitative Aussage zur Frage des generellen Zusammenhangs. Im Rahmen der australischen Health Watch Kohortenstudie (Glass et al. 2003, 2005) wurden nach bestem verfügbarem Wissen und entsprechend dem Stand der Wissenschaft Abschätzungen der Dosiswerte vorgenommen. Daher hat diese Studie eine gewisse Sonderstellung als Basis für die Ableitung einer Dosishöhe. Zudem unterliegt sie als inzidenzbasierte Untersuchung nicht der Problematik der sehr unterschiedlichen Überlebensraten der diversen malignen Erkrankungen des blutbildenden und lymphatischen Systems. Unter den übrigen inzidenzbasierten Studien bietet die China-Kohortenstudie (Hayes et al. 1997) aufgrund ihres Umfangs (mehr als 70.000 exponierte Beschäftigte) einige wertvolle ergänzende Informationen, obwohl die Expositionsermittlung bei weitem nicht die Qualität der australischen Untersuchung erreicht. Hingegen ist die Pliofilm-Kohortenstudie (OEHHA 2003, Rinsky 2002) vor allem wertvoll für qualitative Aussagen, da die Beschäftigten in der untersuchten Kohorte fast ausschließlich gegen Benzol und nur geringfügig gegen andere Chemikalien exponiert waren. Für eine Abgrenzung der „bestimmten Personengruppe“ anhand der Dosis ist die Pliofilm-Untersuchung jedoch problematisch. Zum einen handelt es sich um eine Mortalitätsstudie, welche die lymphatischen Erkrankungen mit niedriger Letalität unzureichend erfasst; zum anderen erfolgten die wenigen Konzentrationsmessungen zur Expositionsermittlung vor der Mitte des 20. Jahrhunderts und sind nach heutigen Maßstäben der Analytik unzureichend belastbar.

Wie im Abschnitt 2.2 dieser wissenschaftlichen Begründung dargelegt, ist eine in jeder Hinsicht belastbare Ableitung einer Grenzdosis für die Benzolwirkungen nicht möglich. Die folgenden

Überlegungen auf der Basis der aktuell bestverfügbaren Datenlage haben daher ausschließlich orientierenden Charakter.

In den Schlussfolgerungen des Abschnitts 2.2. zur Epidemiologie wurde zusammengefasst (siehe oben), dass nach dem gegenwärtigen Kenntnisstand von einer Verursachungswahrscheinlichkeit über 50% ab einem Bereich von **zehn ppm-Benzoljahren** für **Leukämien nach der WHO-Definition** auszugehen ist (Tabellen 7, 8 und 9). Diese Feststellung umfasst ferner die **chronische lymphatische Leukämie (CLL)**, obwohl sie nach hämatologischen und molekularbiologischen Gesichtspunkten heute gemäß der WHO-Klassifikation zu den peripheren Non-Hodgkin-Lymphomen gerechnet wird, denn die australische Health Watch Kohortenstudie (Glass et al. 2003) belegt für diese spezielle Krankheitsentität eine Risikoerhöhung um das 2,76-fache bereits bei einer Benzoldosis von vier bis acht ppm-Jahren (siehe Tabelle 9). Ebenfalls einzubeziehen sind die **aplastische Anämie** und die **myelodysplastischen Syndrome (MDS)**, da diese nach heutiger Erkenntnis Vor- und Frühstadien der akuten myeloischen Leukämie (AML) bzw. akuten nichtlymphatischen Leukämie (ANLL) darstellen und somit in vielen Studien mit den Leukämien zusammengefasst wurden. Die Einbeziehung gilt dagegen nicht für die chronisch myeloische Leukämie (CML) (siehe nächster Absatz).

Für die **übrigen Erkrankungen** des blutbildenden und lymphatischen Systems, die aufgrund ihrer Seltenheit keine epidemiologiebasierte orientierende Abschätzung einer Abgrenzung ermöglichen (übrige Non-Hodgkin-Lymphome außer CLL, Myeloproliferative Erkrankungen), ist eine Einzelfallbetrachtung der Expositionsbedingungen erforderlich. Die Entschädigungsfähigkeit dieser Erkrankungen ist dabei wegen des generellen Kausalzusammenhangs zu bejahen. Aufgrund der Vulnerabilität und Proliferation der hämatopoetischen Stammzellen ist davon auszugehen, dass stammzellennahe Non-Hodgkin-Lymphome hinsichtlich des Risikobereichs nicht anders zu beurteilen wären als die Leukämien. Für die sonstigen Krankheitsbilder siehe die epidemiologischen Hinweise in den Tabellen 6 und 7.

Es erfolgt im Abschnitt 3.3. eine gesonderte Empfehlung des ärztlichen Sachverständigenbeirats für die Bewertung der Einzelfälle von Erkrankungen mit unzureichender epidemiologischer Datenlage.

Das **Multiple Myelom (MM)**, auch als Plasmozytom bezeichnet, nimmt eine Sonderstellung unter den Non-Hodgkin-Lymphomen ein. Hierbei handelt es sich um eine Tumorform, deren Zellen in enger Beziehung zum blutbildenden Knochenmark stehen und den dort vorliegenden toxikologischen Bedingungen unterliegen; die Krankheitserscheinungen sind dementsprechend auch in erster Linie im Knochenmark lokalisiert. Aus den genannten toxikologisch-hämatologischen Gründen könnte überlegt werden, das Multiple Myelom in diese Bewertungsgruppe des Abschnitts 3.2. einzubeziehen. Allerdings gestaltet sich die Epidemiologie des Multiplen Myeloms wegen der Seltenheit dieser Erkrankung und der langen Latenzzeit sehr schwierig (siehe Abschnitt 1.3.3), zudem scheint es ethnische Unterschiede zu geben: Multiple Myelome wurden von Hayes et al. (1997) zur Chinakohorte nicht berichtet, dagegen zeigen die in Nordamerika durchgeführten Studien eine mehrfache Risikoerhöhung an (siehe Tabelle 1). In Anbetracht der heterogenen Datenlage wird daher auch das Multiple Myelom (Plasmozytom) im Abschnitt 3.3. behandelt.

In der Einzelfallbeurteilung ist wegen des Fehlens belastbarer Messdaten und der erheblichen Bedeutung verschiedener Rahmenbedingungen (Hautkontakt, Belastungsspitzen, jugendliches Alter, Polymorphismen) eine belastbare Expositionsermittlung oft nicht möglich; zudem deuten toxikologische (Sättigungskinetik) und epidemiologische Befunde darauf hin, dass die kumulative Expositionsdosis nicht das einzig relevante Risikomaß darstellt. Es wird daher nochmals auf den orientierenden Charakter der Empfehlungen in den Abschnitten 3.2. und 3.3. hingewiesen; besondere Umstände des Einzelfalls sind, wenn sie vorliegen sollten, unbedingt zu berücksichtigen.

Darüber hinaus wird für die Beurteilung der individuellen Expositionsverhältnisse auf Folgendes hingewiesen:

- Für offenen Hautkontakt kann eine dermale Penetrationsrate von bis zu 1 mg/cm<sup>2</sup>/h, für semiokklusive oder okklusive Verhältnisse (durchtränkte Arbeitskleidung oder Benzol auf der Innenseite von Schutzhandschuhen) allerdings die doppelte Penetrationsrate mit 2 mg/cm<sup>2</sup>/h angesetzt werden (Korinth et al. 2005). Dies stellt eine Worst-case-Abschätzung dar.
- Gegebenenfalls ist zu prüfen, ob und inwieweit Expositionen gegenüber weiteren Noxen vorgelegen haben, für die eine Schädigung des blutbildenden oder des lymphatischen Systems gesichert ist oder in Betracht kommt, u.a. ionisierende Strahlung, Asbest, Schwermetalle (Blei). Darüber hinaus können individuelle medizinische Dispositionsfaktoren das Erkrankungsrisiko im Einzelfall erhöhen, z.B. Enzympolymorphismen (insbesondere NQO1) oder Vorerkrankungen des hämatolymphatischen Systems.

### **3.2. Spezielle Hinweise zur Intensität der Benzolbelastung**

#### **3.2.1. Definition der bestimmten Personengruppe für die Krankheitsbilder**

- **Leukämie nach der WHO-Definition ohne chronisch myeloische Leukämie (CML), aber einschließlich chronisch lymphatischer Leukämie (CLL)**
- **Aplastische Anämie**
- **Myelodysplastisches Syndrom (MDS)**

Als „bestimmte Personengruppe“, die durch ihre Arbeit der „besonderen Einwirkung“ von Benzol in erheblich höherem Maß als die übrige Bevölkerung ausgesetzt sind, sind Versicherte anzusehen, bei denen nach Intensität und Dauer der beruflichen Benzoleinwirkung eine der unter 3.2.2.1. bis 3.2.2.3. beschriebenen Fallkonstellationen zutrifft. Liegen die dort genannten Bedingungen vor, handelt es sich um Expositionsbedingungen, die aus arbeitsmedizinisch-toxikologischer Sicht grundsätzlich geeignet sind, die Wahrscheinlichkeit eines Ursachenzusammenhangs im Einzelfall zu begründen.

In den Fällen, in denen gemäß Unterabschnitt 3.2.2.4. die Merkmale der **geringen Belastung** zutreffen, kann ebenfalls nach Maßgabe der Umstände des Einzelfalles eine kumulative Benzolbelastung im hohen einstelligen bzw. unteren zweistelligen Bereich der „ppm-Jahre“ bzw. „Benzol-Jahre“ (Tätigkeitsdauer in Jahren x durchschnittliche arbeitstägliche Benzolkonzentration über

acht Stunden in der Luft am Arbeitsplatz in ppm), d.h. oberhalb ca. acht ppm-Jahren, erreicht werden. In diesen Fällen ist die individuelle Benzolbelastung im Einzelfall zu prüfen; eine Hilfestellung bieten hierzu die „Anwendungshinweise zur retrospektiven Beurteilung der Benzolexposition“, BGIA-Ringbuch Nr. 9105 (BGIA 2006). Insbesondere zu beachten sind ein besonders intensiver Hautkontakt mit Benzol oder benzolhaltigen Produkten, körperliche Arbeit mit erhöhter inhalativer Aufnahme, juveniles Expositionsalter, hohe Belastungsspitzen und eine ungewöhnlich lange Dauer der Einwirkung. In solchen Einzelfällen kann die kumulative Benzolbelastung ein arbeitsmedizinisch-toxikologisch relevantes Maß betragen.

### **3.2.2. Beschreibung und Klassifizierung relevanter Expositionsverhältnisse**

Benzolbelastungen können unter bestimmten Bedingungen bösartige Erkrankungen des myeloischen und lymphatischen Systems verursachen. Epidemiologische Studien weisen auf die Verursachung sowohl durch kürzere hohe wie auch länger andauernde Belastungen hin. Sie lassen aber die Ableitung eines präzisen Dosisgrenzwertes nicht zu (siehe Kap. 1.3.3. Epidemiologie).

Anhaltspunkte und Einzelheiten zu den Belastungen bei verschiedenen Tätigkeiten geben die „Anwendungshinweise zur retrospektiven Beurteilung der Benzolexposition“ (Nr. 9105) im BGIA-Ringbuch Arbeitsanamnese (HVBG 2006), wobei die Rahmenbedingungen (vgl. Vorwort) zu beachten sind. Für den Zeitraum zwischen 1950 und 1980 sowie für besondere Expositionsbedingungen (besonders intensiver Hautkontakt, vom Arbeitsschutz nicht kontrollierte Betriebe) liegen in der Regel keine validen Expositionsdaten vor. Hier ist im Einzelfall die Exposition durch Analogieschlüsse, Berechnungen, nachstellende Untersuchungen usw. zu beschreiben.

Die folgende Aufzählung typischer benzolbelasteter Arbeitsbereiche und -tätigkeiten ist nicht abschließend. Den in den Unterabschnitten 3.2.2.1. bis 3.2.2.3. unter Berücksichtigung der unterschiedlichen Belastungsintensitäten gegebenen Hinweisen zur Mindestdauer einer solchen Einwirkung liegt jeweils eine mindestens zu erreichende kumulative Belastungsdosis in der Größenordnung im hohen einstelligen bzw. unteren zweistelligen Bereich zu Grunde. Eingeflossen sind dabei nicht allein die verfügbaren Messdaten, sondern z.B. auch Erfahrungen bezüglich außerordentlich schlechter arbeitshygienischer Bedingungen mit direktem Hautkontakt oder mit messtechnisch nicht erfassbaren kurzfristigen extrem hohen Belastungen. Auch bei geringen Belastungsintensitäten ist eine entsprechende Gesamtbelastung im Einzelfall erreichbar (siehe 3.1.).

Bei Arbeitsbedingungen mit fraglicher Benzoleinwirkung, welche nicht den beispielhaft genannten und klassifizierten Tätigkeitsbereichen zugeordnet werden können, ist anhand aller Umstände des Einzelfalls zu prüfen, ob ein Ursachenzusammenhang wahrscheinlich ist.

Nachfolgend sind somit den unterschiedlichen Belastungsintensitäten beispielhaft Tätigkeiten zugeordnet. Hierzu ist zu beachten: Die betreffenden Tätigkeiten können im Einzelfall der nächst höheren Kategorie zuzuordnen sein, wenn regelmäßig ohne die üblichen Arbeitsschutzmaßnahmen gearbeitet und dadurch eine der nächst höheren Kategorie entsprechende Belastungsintensität erreicht wurde. Unter solchen außergewöhnlichen Umständen kann zum Beispiel bei den zu einer

hohen Belastungsintensität genannten Tätigkeiten (3.2.2.2.) eine Einordnung als extreme Belastungsintensität (3.2.2.1.) gerechtfertigt sein.

#### 3.2.2.1. Extreme Belastungsintensität (Expositionsintensität)

Eine Expositionszeit von in der Regel einem Jahr ist ausreichend; bei der Ermittlung der Expositionszeit ist die tätigkeits- (T) und schichtbezogene (S) Differenzierung zu beachten.

- offener Umschlag von Ottokraftstoffen oder hinsichtlich des Benzolgehaltes vergleichbaren Kohlenwasserstoffgemischen auf Tankschiffen, Tank- und Kesselwagen sowie Tankcontainern bis 1982 (S)
- Benzolalkylierung und Ethylbenzolherstellung in Chemiebetrieben der DDR (z.T. bis 1990) (S)
- Reinigen von Gegenständen (auch Hände waschen) mit Ottokraftstoffen oder hinsichtlich des Benzolgehaltes vergleichbaren Kohlenwasserstoffgemischen bis ca. 1985 (T)
- Spritzauftrag von benzolhaltigen Beschichtungen oder Oberflächenbehandlungsmitteln vor 1970 (T)
- Arbeiten in Teer-, Pech- und Asphaltlaboratorien (Kalt- und Heißextraktion mit Benzol) bis 1980 (S)
- Reinigung von Tankanlagen für Ottokraftstoffe bis 1980 (T)
- Innenreinigung von Behältern für Benzol bzw. Ottokraftstoffen oder hinsichtlich des Benzolgehaltes vergleichbaren Kohlenwasserstoffgemischen ohne geeignete Schutzmaßnahmen

#### 3.2.2.2. Hohe Belastungsintensität

Eine Expositionszeit von in der Regel zwei bis fünf Jahren ist ausreichend; bei der Ermittlung der Expositionszeit ist die tätigkeits- (T) und schichtbezogene (S) Differenzierung zu beachten.

- Arbeiten in Nebengewinnungsanlagen der Kohlechemie (Kokerei und Gaswerk) vor 1990 (zwei Jahre) oder vor 1999 (vier Jahre) (S)
- Roh- und Reinbenzolherstellung vor 1999 (vier Jahre) (S)
- Arbeiten in Anlagen zur Herstellung von Ethylen bis 1990 (S)
- Bedienen von Tanks für Ottokraftstoffe durch Pumpen, Peilen, Aufmischen, Öffnen von Schiebern, Tankstandsmessungen, Wartung und Ziehen von Labormustern im Tankfeld bis 1999 (vier Jahre) (S)
- Warten und Instandhaltung von benzolführenden Rohrleitungsteilen und Pumpen (nicht Kfz) bis 1999 (vier Jahre) (S)
- Arbeiten im Kfz-Handwerk an ottokraftstoffführenden Teilen bis 1980 (zwei Jahre) (T)
- Arbeiten im Kfz-Handwerk an Vergasern bis 1985 (zwei Jahre) (T)

- Arbeiten im Kfz-Handwerk an Ottokraftstoffführenden Teilen bis 1985 (vier Jahre) (T)
- Arbeiten im Kfz-Handwerk an Vergasern bis 1990 (fünf Jahre) (T)
- Reinigung von Tankanlagen für Ottokraftstoffe bis 1990 (T)
- Funktionsprüfung von kraftstoffführenden Motorkomponenten (z.B. Benzinpumpen) bis 1999 (T)
- Spritzauftrag von Beschichtungen oder Oberflächenbehandlungsmitteln vor 1970 bis 1979 (T)

### 3.2.2.3. Mittlere Belastungsintensität

Eine Expositionszeit von in der Regel sechs bis zehn Jahren ist ausreichend; bei der Ermittlung der Expositionszeit ist die tätigkeits- (T) und schichtbezogene (S) Differenzierung zu beachten.

- Arbeiten in der Benzolextraktion und in der Verarbeitung bis 1999 (S)
- Abfüllen von Ottokraftstoffen in Kesselwagen und Tankschiffe ab 1990 (S)
- Abfüllen von Ottokraftstoffen in Kesselwagen und Tankschiffe bis 1990 (sieben Jahre) (S)
- Tankwagenfahrer für Ottokraftstoffe bis 1999 (S)
- geschlossener Umschlag von Ottokraftstoffen oder hinsichtlich des Benzolgehaltes vergleichbaren Kohlenwasserstoffgemischen (closed loading) auf Tankschiffen ab 1982 (S)
- Abgießen und Ausleeren in der Gießerei (T)
- Laborprüfung von Kraftstoffen (sechs Jahre) (T)
- Handauftrag von Beschichtungen oder Oberflächenbehandlungsmitteln von 1970 bis 1979 (T)

### 3.2.2.4. Geringe Belastungsintensität (Einzelfallprüfung erforderlich)

- Arbeiten auf dem Füllwagen, der Ofendecke, in den Meistergängen und im Düsenkanal in der Kokerei, Arbeiten in der Petrochemie
- Betanken von Kraftfahrzeugen mit benzolhaltigen Ottokraftstoffen ohne Gas-Pendel-System als Tankwart seit 1970 (Für die Zeiträume davor, in denen die Ottokraftstoffe z.T. deutliche höhere Benzolgehalte hatten, liegen keine Messdaten vor.)
- Reinigung von Heizöl-, Kerosin- oder Dieseltanks (Benzolgehalt ca. 0,004 Vol.%)
- Lösemittel ab 1980 mit Benzol als Verunreinigung (Benzolanteil bei maximal 0,1 Gew.%, typisch 0,01 Gew.%) in den alten Bundesländern
- Für den Umgang mit benzolhaltigen Lösungsmitteln (>0,5 Gew.%) lassen sich generelle Aussagen zur Exposition am Arbeitsplatz in Abhängigkeit von Benzolgehalt nicht machen. Aufgrund der Vielfalt der Einflussfaktoren muss die Belastung im Einzelfall ermittelt werden. Für die Belastungsermittlung ist es in der Regel sehr wertvoll, nähere Auskünfte über die damals verwendeten Lösungsmittel zu gewinnen, insbesondere zu den Bezeichnungen und Qualitäten.

### **3.3. Definition der bestimmten Personengruppe für die Krankheitsbilder**

- **Non-Hodgkin-Lymphome einschließlich Multiples Myelom, außer chronisch lymphatischer Leukämie (CLL)**
- **Myeloproliferative Erkrankungen gemäß der WHO-Klassifikation einschließlich chronisch myeloischer Leukämie (CML)**

Für diejenigen Erkrankungen des blutbildenden und lymphatischen Systems, die aufgrund ihrer Seltenheit keine epidemiologiebasierte orientierende Quantifizierung der für eine relevante Risikohöherung erforderlichen Expositionsverhältnisse wie bei 3.2.2. ermöglichen (Non-Hodgkin-Lymphome einschließlich Multiples Myelom (MM), außer CLL; myeloproliferative Erkrankungen), ist ausschließlich eine einzelfallbezogene Beurteilung der Expositionsbedingungen vorzunehmen. Eine grundsätzliche Anerkennungsfähigkeit als Berufskrankheit ist dabei wegen des sich auch auf diese Erkrankungen beziehenden Nachweises der generellen Eignung von Benzol als Ursache (siehe Abschnitt 1) zu bejahen. Bei der Einzelfallbeurteilung ist wie folgt zu differenzieren: Aufgrund der Vulnerabilität und Proliferation der hämatopoetischen Stammzellen ist davon auszugehen, dass stammzellennahe Non-Hodgkin-Lymphome (Vorläufer-B-Zell- und Vorläufer-T-Zell-Lymphome gemäß WHO-Klassifikation) hinsichtlich des benzolassoziierten Erkrankungsrisikos nicht anders zu beurteilen sind als die unter 3.2.1. behandelten Leukämien. Für die übrigen der genannten Krankheitsbilder wird ungeachtet der unzureichenden epidemiologischen Erkenntnislage beispielhaft eine ausreichende Exposition bejaht bei einer extremen Belastungsintensität (siehe Abschnitt 3.2.2.1.) über einen Zeitraum von in der Regel zwei bis fünf Jahren oder bei einer hohen Belastungsintensität (siehe Abschnitt 3.2.2.2.) über einen Zeitraum von in der Regel sechs und mehr Jahren.

### **3.4. Sonstige Hinweise**

Als konkurrierende Kausalfaktoren für die toxische Knochenmarksdepression durch Benzol sind insbesondere blutbildverändernde Medikamente und Störungen der Blutbildung durch Vitaminmangel zu beachten; differentialdiagnostisch können z.B. hämolytische Anämien und Tumoranämien eine Reduktion der Zellzahlen im peripheren Blut bewirken. Als konkurrierende Risikofaktoren für Leukämien und Non-Hodgkin-Lymphome sind unter anderem Infektionen mit lymphotropen Viren (insbesondere HIV, HTLV, aktuelle Epstein-Barr-Infektion) von Bedeutung. Die Bewertung dieser und weiterer medizinischer Aspekte obliegt der arbeitsmedizinischen Begutachtung.

#### 4. Literaturverzeichnis

- Aksoy M (1988) Benzene hematotoxicity. In: M. Aksoy (ed.): Benzene carcinogenicity, S. 59-104, CRC Press, Boca Raton, USA
- Aksoy M, Dincol K, Akgun T, Erdem S, Dincol G (1971) Hematological effects of chronic benzene poisoning in 217 workers. *Br J Ind Med* 28, 296-302
- Arnetz BB, Raymond LW, Nicolich MJ, Vargo L (1991) Mortality among petrochemical science and engineering employees. *Arch Environ Health* 46, 237-248
- Aronson KJ, Tomlinson GA, Smith L (1994) Mortality among fire fighters in metropolitan Toronto. *Am J Ind Med* 26, 89-101
- Baker RK, Kurz EU, Pyatt DW, Irons RD, Kroll DJ (2001) Benzene metabolites antagonize etoposide-stabilized cleavable complexes of DNA topoisomerase II alpha. *Blood* 98, 830-833
- Bakkus MH, van Riet I, van Camp B, Thielmans K (1994) Evidence that the clonogenic cell in multiple myeloma originates from a pre-switched but somatically mutated B cell. *Br J Haematol* 87, 68-74
- Bechtold WE, Willis JK, Sun JD, Griffith WC, Reddy TV (1992) Biological markers of exposure to benzene: S-phenylcysteine in albumin. *Carcinogenesis* 13, 1217-1220
- Bender AP, Parker DL, Johnson RA, Scharber WK, Williams AN, Marbury MC, Mandel JS (1989) Minnesota highway maintenance worker study: cancer mortality. *Am J Ind Med* 15, 545-556
- Bergsagel DE, Wong O, Bergsagel PI, Alexanian R, Anderson K, Kyle RA and Raabe GK. (1999) Benzene and multiple myeloma: appraisal of the scientific evidence. *Blood* 94, 1174-1182
- Bertazzi PA, Pesatori AC, Zocchetti C, Latocca R (1989) Mortality study of cancer risk among oil refinery workers. *Int Arch Occup Environ Health* 61, 261-270
- BGIA-Ringbuch Arbeitsanamnese, Belastungen am Arbeitsplatz. Nr. 9105: Anwendungshinweise zur retrospektiven Beurteilung der Benzolexposition (2006)
- Bodell WJ, Lévy G, Pongracz K (1993) Investigation of benzene DNA adducts and their detection in human bone marrow. *Environ Health Perspect* 99, 241-244
- Bodell WJ, Pathak DN, Levay G, Ye Q, Pongracz K (1996) Investigation of the DNA adducts formed in B6C3F1 mice treated with benzene: implications for molecular dosimetry. *Environ Health Perspect* 104, Suppl 6, 1189-93.
- Boley SE, Donehower LA, Abernethy DJ, French JE, Rcio L (2001) Evidence of Homologous Recombination in Benzene-Induced Thymic Lymphomas in p 53 +/- Mice. *CIIT Activities* 21 1-7
- Bond GG, McLaren EA, Baldwin CL, Cook RR (1986) An update of mortality among chemical workers exposed to benzene. *Br J Ind Med* 43, 685-691 [Erratum 1987 in *Br J Ind Med* 44, 215]
- Bonnet D, Dick JE (1997) Human acute myeloid leukemia is organized as a hierarchy that originates from a primitive hematopoietic cell. *Nat Med* 3, 730-737

- Breslow NE and Day NE (1987) Statistical methods in cancer Research. Vol. II The design and analysis of cohort studies. Oxford Univ. Press
- Buzas JS, Stefanski LA, Tosteson TD (2005) Measurement error. In: Handbook of Epidemiology, Ahrens W and Pigeot I; Springer Verlag
- Chaney AM, Carlson GP (1995) Comparison of rat hepatic and pulmonary microsomal metabolism of benzene and the lack of benzene-induced pneumotoxicity and hepatotoxicity. *Toxicology* 104, 53-62
- Chen H, Eastmond DA (1995) Topoisomerase inhibition by phenolic metabolites: a potential mechanism for benzene's clastogenic effects. *Carcinogenesis* 16, 2301-2307
- Chiorazzi N, Rai KR, Ferrarini M (2005) Chronic lymphocytic leukemia. *N Engl J Med* 352, 804-815
- Christie D, Robinson K, Gordon I, Bisby J (1991a) A prospective study in the Australian petroleum industry. II. Incidence of cancer. *Br J Ind Med* 48, 511-514
- Christie D, Robinson K, Gordon I, Bisby J (1991b) A prospective study in the Australian petroleum industry. I. Mortality. *Br J Ind Med* 48, 507-510
- Collins JJ, Ireland B, Buckley CF, Shepperly (2003) Lymphohaematopoietic cancer mortality among workers with benzene exposure. *Occup Environ Med* 60, 676-679
- Consonni D, PeSatori AC, Tironi A, Bernucci I, Zocchetti C, Bertazzi PA (1999) Mortality study in an Italian oil refinery: extension of the follow-up. *Am J Ind Med* 35, 287-294
- Creek MR, Mani C, Vogel JS, Turteltaub KW (1997) Tissue distribution and macromolecular binding of extreme low doses of [<sup>14</sup>C]-Benzene in B6C3F1 mice. *Carcinogenesis* 18, 2421-2427
- Crosignani P, Tittarelli A, Borgini A, Codazzi T, Rovelli A, Porro E, Contiero P, Bianchi N, Tagliabue G, Fissi R, Rossitto F, Berrino F (2004) Childhood leukemia and road traffic: A population-based case-control study. *Int J Cancer* 108, 596-599
- Crump KS (1996) Risk of benzene-induced leukemia predicted from the Pliofilm cohort. *Environ Health Perspect* 104, Suppl 6, 437-1441
- Dagg TG, Satin KP, Bailey WJ, Wong O, Harmon LL, Swencicki RE (1992) An updated cause specific mortality study of petroleum refinery workers. *Br J Ind Med* 49, 203-212
- Dalton WS, Bergsagel PL, Kuehl WM, Anderson KC, Harousseau JL (2001) Multiple myeloma. *Hematology* 1, 157-177
- De Planque MM, Kluijn-Nelemans HC, van Krieken HJ, Kluijn PM, Brand A, Beverstock GC, Willemze R, van Rood JJ (1988) Evolution of acquired severe aplastic anemia to myelodysplasia and subsequent leukemia in adults. *Br J Haematol* 70, 55-62
- Delzell E, Monson RR (1984) Mortality among rubber workers: VIII. Industrial products workers. *Am J Ind Med* 6, 273-279
- Demers PA, Schade WJ, Demers RY (1994) Lymphocytopenia and occupational exposures among pattern and model markers. *Scand J Work Environ Health* 20, 107-112

- Divine BJ, Barron V, Kaplan SD (1985) Texaco mortality study. *J Occup Med* 27, 445-447
- Divine BJ, Barron V (1987) Texaco mortality study: III. A cohort study of producing and pipeline workers. *Am J Ind Med* 11, 189-202
- DFG, Deutsche Forschungsgemeinschaft (1971) Benzol. In: *Toxikologisch-arbeitsmedizinische Begründungen von MAK-Werten*, Henschler D (Hrsg.), Wiley-VCH Verlag, Weinheim
- DFG, Deutsche Forschungsgemeinschaft (1992) Benzol. Nachtrag 1992. In: *Toxikologisch-arbeitsmedizinische Begründungen von MAK-Werten*, Greim H (Hrsg.), Wiley-VCH Verlag, Weinheim
- Dryver E, Brandt L, Kauppinen T, Olsson H (2004) Occupational exposures and Non-Hodgkin's lymphoma in Southern Sweden. *Int J Occup Environ Health* 10, 13-21
- Eastmond DA (2000) Benzene-induced genotoxicity: a different perspective. *J Toxicol Environ Health* 61, 353-356
- Eastmond DA, Mondrala ST, Hasegawa L (2005) Topoisomerase II inhibition by myeloperoxidase-activated hydroquinone: a potential mechanism underlying the genotoxic and carcinogenic effects of benzene. *Chem Biol Interact* 153-154, 207-216
- Eastmond DA, Schuler M, Frantz C, Chen H, Parks R, Wang L, Hasegawa L (2001) Characterization and mechanisms of chromosomal alterations induced by benzene in mice and humans. *Res Rep Health Eff Inst* 103, 1-68
- Eling TE, Thompson DC, Foureman GL, Curtis JF, Hughes MF (1990) Prostaglandin H synthase and xenobiotic oxidation. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 30, 1-45
- EPA (Environmental Protection Agency, USA) (1998) *Carcinogenic Effects of Benzene: An Update*. EPA document 600/P-97/001F
- Fabbro-Peray P, Daures JP, Rossi JF (2001) Environmental risk factors for non-Hodgkin's lymphoma: a population-based case-control study in Languedoc-Roussillon, France. *Cancer Causes and Control* 12, 201-212
- Feuring-Buske M, Hiddemann W, Buske C (2002) Pathogenese und Biologie der Leukämien. *Internist* 43, 1179-1189
- Forni A (1971) Chromosome studies in workers exposed to benzene or toluene or both. *Arch Environ Health* 22, 373-378
- French JE, Lacks GD, Trempus C, Dunnick JK, Foley J, Mahler J, Tice RR, Tennant RW (2001) Loss of heterozygosity frequency at the Trp53 locus in p53-deficient (+/-) mouse tumors is carcinogen- and tissue-dependent. *Carcinogenesis* 22, 99-106
- Fu H, Demers PA, Costantini AS, Winter P, Colin D, Kogevinas M, Boffetta P (1996) Cancer mortality among shoe manufacturing workers: an analysis of two cohorts. *Occup Environ Med* 53, 394-398
- Gaido KW, Wierda D (1987) Suppression of bone marrow stromal cell function by benzene and hydroquinone is ameliorated by indomethacin. *Toxicol Appl Pharmacol* 89, 378-390

- Ganousis LG, Goon D, Zyglewska T, Wu KK, Ross D (1992) Cell-specific metabolism in mouse bone marrow stroma: studies of activation and detoxification of benzene metabolites. *Mol Pharmacol* 42, 1118-1125
- GEKID (Hrsg.) (2006) Krebs in Deutschland. 5. überarbeitete und aktualisierte Ausgabe. Gesellschaft der epidemiologischen Krebsregister in Deutschland e.V. und das Robert Koch Institut (RKI). Saarbrücken, 2006
- Giles G, Staples M, Berry J (1993) Cancer incidence in Melbourne metropolitan fire brigade members. *Health Rep* 5, 33-38
- Glass DC, Gray CN, Jolley DJ, Gibbons C, Sim MR (2006) The Health Watch Case–Control Study of Leukemia and Benzene. The Story So Far. *Annals of the New York Academy of Sciences*, Vol. 1076 Page 80 (September 2006)
- Glass DC, Gray CN, Jolley DJ, Gibbons C, Sim MR (2005) Health Watch exposure estimates: do they underestimate benzene exposure? *Chemico-Biological Interactions* 153-154, 23-32
- Glass DC, Gray CN, Jolley DJ, Gibbons C, Sim MR, Fritschi L, Adams GG, Bisby JA, Manuell R (2003) Leukaemia risk associated with low-level benzene exposure. *Epidemiology* 14, 569 – 577
- Glatt H, Padykula R, Berchtold GA, Ludewig G, Platt KL, Klein J, Oesch F (1989) Multiple activation pathways of benzene leading to products with varying genotoxic characteristics. *Environ Health Perspect* 82, 81-89
- Goldstein BD (1988) Benzene toxicity. *Occup Med* 3, 541-554
- Goldstein BD und Shalat SL. The causal relation between benzene exposure and multiple myeloma. *Blood* 2000; 95: 1512-1513
- Greenberg P, Cox C, LeBeau MM, Fenaux P, Morel P, Sanz G, Sanz M, Vallespi T, Hamblin T, Oscier D, Ohyashiki K, Toyama K, Aul C, Mufti G, Bennett J (1997) International scoring system for evaluating prognosis in myelodysplastic syndromes. *Blood* 89, 2079-2088
- Gross S, Helm K, Gruntmeir JJ, Stillman WS, Pyatt DW, Irons RD (1997) Characterization and phenotypic analysis of differentiating CD 34+ human bone marrow cells in liquid culture. *Eur J Haematol* 59, 318-326
- Guenel P, Imbernon E, Chevalier A, Crinquand-Calasteng A, Goldberg M (2002) Leukemia in relation to occupational exposures to benzene and other agents: A case-control study nested in a cohort of gas and electric utility workers. *Am J Ind Med* 42, 87-97
- Haase D, Feuring-Buske M, Schäfer C, Schoch C, Troff C, Gahn B, Hiddemann W, Wörmann B (1997) Cytogenetic analysis of CD34+ subpopulations in AML and MDS characterized by the expression of CD38 and CD117. *Leukemia* 11, 674-679
- Hanahan D, Weinberg RA (2000) The hallmarks of cancer. *Cell* 100, 57-70

- Hanis NM, Shallenberger LG, Donaleski DL, Sales EA (1985a) A retrospective mortality study of workers in three major US refineries and chemical plants: I. Comparison with US population. *J Occup Med* 27, 283-292
- Hanis NM, Shallenberger LG, Donaleski DL, Sales EA (1985b) A retrospective mortality study of workers in three US refineries and chemical plants: II. Internal comparison by geographic site, occupation, and smoking history. *J Occup Med* 27, 361-369
- Hayes RB, Yin SN, Dosemeci M, Li GL, Wacholder S, Travis LB, Li CY, Rothman N, Hoover RN, Linet MS (1997) Benzene and the dose-related incidence of hematologic neoplasms in China. *J Natl Cancer Inst* 89, 1065-1071
- Hayes RB, Yin SN, Rothman N, Dosemeci M, Li G, Travis LT, Smith MT, Linet MS (2000) Benzene and lymphohematopoietic malignancies in China. *J Toxicol Environ Health* 61, 419-432
- Hayes RB, Songnian Y, Dosemeci M, Linet M (2001) Benzene and lymphohematopoietic malignancies in humans. *Am J Ind Med* 40, 117-126
- Hazel BA, Kalf GF (1996) Induction of granulocytic differentiation in myeloblasts by hydroquinone, a metabolite of benzene, involves the leukotriene D4 receptor. *Recept Signal Transduct.* 6, 1-12
- Hedli CC, Rao NR, Reuhl KR, Witmer CM, Snyder R (1996) Effects of benzene metabolite treatment on granulocytic differentiation and DNA adduct formation in HL-60 cells. *Arch Toxicol* 70, 135-144
- Henschler D (1992) Wichtige Gifte und Vergiftungen. In: Forth W, Henschler D, Rummel W, Starke K (Hrsg.): *Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie*, 6. Aufl., BI-Wiss.-Verl., 1992
- Hill AB (1965) The environment and disease: association or causation? *Proc R Soc Med* 58, 295-300
- Hoffmann J, Bolz H-M, Kerzel A et al. (2001) Benzol-verursachte Malignome des hämatolymphatischen Systems als Berufskrankheit BK 1303. *Arbeitsmed. Sozialmed. Umweltmed.* 36, 475-483
- Honda Y, Delzell E, Cole P (1995) An updated study of mortality among workers at a petroleum manufacturing plant. *J Occup Environ Med* 37, 194-200
- Huff JE, Haseman JK, DeMarini DM, Eustis S, Maronpot RR, Peters AC, Persing RL, Chrisp CE, Jacobs AC (1989) Multiple-site carcinogenicity of benzene in Fischer 344 rats and B6C3F1 mice. *Environ Health Perspect* 82,125-163 Review
- Hutt AM, Kalf GF (1996) Inhibition of human DNA topoisomerase II by hydroquinone and p-benzoquinone, reactive metabolites of benzene. *Environ Health Perspect* 104, Suppl 6, 1265-1269
- IARC (1987) Overall evaluations of carcinogenicity: An update of IARC Monographs Volumes 1 to 42. Lyon. IARC Monographs on the evaluation of the carcinogenic risk to humans. Supplement No. 7
- Infante PF (2006) Benzene exposure and multiple myeloma. A detailed meta-analysis of benzene cohort studies. *Ann NY Acad Sci*, 1076, 90-109

- Inoue O, Seiji K, Kasahara M, Nakatsuka H, Watanabe T, Yin S, Li G, Jin C, Cai S, Wang X, Ikeda M (1986) Quantitative relation of urinary phenol levels to breathzone benzene concentrations: a factory survey. *Br J Ind Med* 43, 692-697
- Inoue O, Seiji K, Kasahara M, Nakatsuka H, Watanabe T, Yin S, Li G, Cai S, Wang X, Jin C, Ikeda M (1988) Determination of catechol and quinol in the urine of workers exposed to benzene. *Br J Ind Med* 45, 487-492
- Inoue O, Seiji K, Kasahara M, Nakatsuka H, Watanabe T, Yin SN, Li GL, Cai SX, Jin C, Ikeda M (1989) Urinary *t,t*-muconic acid as an indicator of exposure to benzene. *Br J Ind Med* 46, 122-127
- Ireland B, Collins JJ, Buckley CF, Riordan SG (1997) Cancer mortality among workers with benzene exposure. *Epidemiology* 8, 318-320
- Irons RD (2000) Molecular Models of Benzene Leukemogenesis. *J Toxicol Environ Health* 61, 391-397
- Irons RD, Neptun DA, Pfeifer RW (1981) Inhibition of lymphocyte transformation and microtubule assembly by quinone metabolites of benzene: evidence for a common mechanism. *J Reticuloendothel Soc* 30, 359-372
- Irons RD, Stillman WS (1993) Cell proliferation and differentiation in chemical leukemogenesis. *Stem Cells* 11, 235-242
- Irons RD, Stillman WS, Colagiovanni DB, Henry VA (1992) Synergistic action of the benzene metabolite hydroquinone on myelopoietic stimulating activity of granulocyte/macrophage colony-stimulating factor in vitro. *Proc Natl Acad Sci U S A* 89, 3691-5369.
- Janssen JW, Buschle M, Layton M, Drexler HG, Lyons J, van den Berghe H, Heimpel H, Kubanek B, Kleihauer E, Mufti GJ (1989) Clonal analysis of myelodysplastic syndromes: evidence of multipotent stem cell origin. *Blood* 73, 248-254
- Johansson I, Ingelman-Sundberg M (1988) Benzene metabolism by ethanol-, acetone-, and benzene-inducible cytochrome P-450 (IIE1) in rat and rabbit liver microsomes. *Cancer Res* 48, 5387-5390
- Kalf GF, Schlosser MJ, Renz JF, Pirozzi SJ (1989) Prevention of benzene-induced myelotoxicity by nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Environ Health Perspect* 82, 57-64
- Kim S, Vermeulen R, Waidyanatha S, Johnson BA, Lan Q, Rothman N, Smith MT, Zhang L, Li G, Shen M, Yin S, Rappaport M (2006) Using urinary biomarkers to elucidate dose-related patterns of human benzene metabolism. *Carcinogenesis* 27 (4), 722-781
- Kipen HM, Cody RP, Crump KS, Allen BC, Goldstein BD (1988) Hematologic effects of benzene: a thirty-five year longitudinal study of rubber workers. *Toxicol Ind Health* 4, 411-430
- Klein G (1981) The role of gene dosage and genetic transpositions in carcinogenesis. *Nature* 294, 313-318

- Kolachana P, Subrahmanyam VV, Meyer KB, Zhang L, Smith MT (1993) Benzene and its phenolic metabolites produce oxidative DNA damage in HL60 cells in vitro and in the bone marrow in vivo. *Cancer Res* 53, 1023-1026
- Korinth G, Barrot R, Drexler H, Hallier E, Kalberlah F, Prager H-M, Schaller KH, Westphal G, Nies E (2005) Perkutane Aufnahme von Benzol – Folgerungen für die retrospektive Expositionsabschätzung. *Arbeitsmed Sozialmed Umweltmed* 40, P37, 170-171
- Krewet E, Verkoyen C, Müller G, Schell C, Popp W, Norpoth K (1993) Studies on guanine adducts excreted in rat urine after benzene exposure. *Carcinogenesis* 14, 245-250
- Lagorio S, Forastiere F, Iavarone I, Rapiti E, Vanacore N, Perucci CA, Carere A (1994) Mortality of filling station attendants. *Scand J Work Environ Health* 20, 331-338
- Lamm SH, Engel A, Byrd DM. Non-Hodgkin lymphoma and benzene exposure: A systematic literature review. *Chemico-Biological Interactions* 2005; 153-154: 231-237
- Lan Q, Zhang L, Li G, Vermeulen R, Weinberg RS, Dosemeci M, Rappaport SM, Shen M, Alter BP, Wu Y, Kopp W, Waidyanatha S, Rabkin C, Guo W, Chanock S, Hayes RB, Linet M, Kim S, Yin S, Rothman N, Smith MT (2004) Hematotoxicity in workers exposed to low levels of benzene. *Science* 306, 1774-1776
- Lan Q, Zhang L, Shen M, Smith MT, Li G, Vermeulen R, Rappaport SM, Forrest MS, Hayes R, Linet M, Dosemeci M, Alter BP, Weinberg RS, Yin S, Yeager M, Welch R, Waidyanatha S, Kim S, Chanock S, Rothman N (2005) Polymorphisms in cytokine and cellular adhesion molecule genes and susceptibility to hematotoxicity among workers exposed to benzene. *Cancer Res* 65, 9574-9581
- Latriano L, Goldstein BD, Witz G (1986) Formation of muconaldehyde, an open-ring metabolite of benzene, in mouse liver microsomes: an additional pathway for toxic metabolites. *Proc Natl Acad Sci USA* 83, 8356-8360
- Lévay G, Pathak DN, Bodell WJ (1996) Detection of DNA adducts in white blood cells of B6C3F1 mice treated with benzene. *Carcinogenesis* 17, 151-153
- Lévay G, Ross D, Bodell WJ (1993) Peroxidase activation of hydroquinone results in the formation of DNA adducts in HL-60 cells, mouse bone marrow macrophages and human bone marrow. *Carcinogenesis* 14, 2329-2334
- Levy GN (1997) Prostaglandin H synthases, nonsteroidal antiinflammatory drugs, and colon cancer. *FASEB J* 11, 234-247
- Li Y, Lafuente A, Trush MA (1994) Characterization of quinone reductase, glutathione and glutathione S-transferase in human myeloid cell lines: induction by 1,2-dithiole-3-thione and effects on hydroquinone-induced cytotoxicity. *Life Sci* 54, 901-916
- Lindsey RH Jr, Bromberg KD, Felix CA, Oseroff N (2004) 1,4-Benzoquinone is a topoisomerase II poison. *Biochemistry* 15:7563-7574

- Lindstrom AB, Yeowell-O'Connell K, Waidyanatha S, Golding BT, Tomero-Velez R, Rappaport SM (1997) Measurement of benzene oxide in the blood of rats following administration of benzene. *Carcinogenesis* 18, 1637-1641
- Lovern MR, Cole CE, Schlosser PM (2001) A review of quantitative studies of benzene metabolism. *Crit Rev Toxicol* 31, 285-311
- Lyng E, Andersen A, Nilsson R, Barlow L, Pukkala E, Nordlinder R, Boffetta P, Grandjean P, Heikkila P, Horte LG, Jakobsson R, Lundberg I, Moen B, Partanen T, Riise T (1997) Risk of cancer and exposure to gasoline vapors. *Am J Epidemiol* 145, 449-458
- Maciejewski JP, Risitano A, Sloand EM, Nunez O, Young NS (2002) Distinct clinical outcomes for cytogenetic abnormalities evolving from aplastic anemia. *Blood* 99, 3129-3135
- Maltoni C, Ciliberti A, Cotti G, Conti B, Belpoggi F (1989) Benzene, an experimental multipotential carcinogen: Results of the long-term bioassays performed at the Bologna Institute of Oncology. *Environ Health Perspect* 82, 109-124
- Maltoni C, Cotti G, Valgimigli L, Mandrioli A (1982) Zymbal gland carcinomas in rats following exposure to benzene by inhalation. *Am J Ind Med* 3, 11-16
- Maltoni C, Scarnato C (1979) First experimental demonstration of the carcinogenic effects of benzene; long-term bioassays on Sprague-Dawley rats by oral administration. *Med Lav* 70, 352-357
- Marnett LJ (1990) Prostaglandin synthase-mediated metabolism of carcinogens and a potential role for peroxy radicals as reactive intermediates. *Environ Health Perspect* 88, 5-12
- Marsh GM, Enterline PE, McCraw D (1991) Mortality patterns among petroleum refinery and chemical plant workers. *Am J Ind Med* 19, 29-42
- McCraw DS, Joyner RE, Cole P (1985) Excess leukemia in a refinery population. *J Occup Med* 27, 220-222
- McDonald TA, Yeowell-O'Connell K, Rappaport SM (1994) Comparison of protein adducts of benzene oxide with benzoquinone in the blood and bone marrow of rats and mice exposed to [<sup>14</sup>C/<sup>13</sup>C<sub>6</sub>]benzene. *Cancer Res* 54, 4907-4914
- McMichael AJ, Spirtas R, Kupper LL (1974) An epidemic study of mortality within a cohort of rubber workers, 1964-72. *J Occup Med* 16, 458-464
- Medinsky MA, Kenyon EM, Seaton MJ, Schlosser PM (1996) Mechanistic considerations in benzene physiological model development. *Environ Health Perspect* 104, Suppl 6, 1399-1404
- Mehlman MA (2004) Benzene: a haematopoietic and multi-organ carcinogen at any level above zero. *Eur J Oncol* 9, 15-36
- Merlat A, Lai JL, Sterkers Y, Demory JL, Bauters F, Preudhomme C, Fenaux P (1999) Therapy-related myelodysplastic syndrome and acute myeloid leukemia with 17p deletion. A report on 25 cases. *Leukemia* 13, 250-257

- Miligi L, Constantini AS, Benvenuti A, Kriebel D, Bolejack V, Tumino R, Ramazotti V, Rodella S, Stagnaro E, Crosignani P, Amadori D, Mirabelli D, Sommani L, Belletti I, Troschel L, Romeo L, Micelli G, Tozzi GA, Mendico I, Vineis P (2006) Occupational Exposure to Solvents and the Risk of Lymphomas. *Epidemiol* 17: 552 - 561
- Möhner M, Heuchert G (2000) Benzolexposition und Non-Hodgkin-Lymphome. Meta-Analyse epidemiologischer Studien, Schriftenreihe der Bundesanstalt für Arbeitsschutz und Arbeitsmedizin - Sonderschrift - S61
- Moran JL, Siegel D, Ross D (1999) A potential mechanism underlying the increased susceptibility of individuals with a polymorphism in NAD(P)H:quinone oxidoreductase 1 (NQO1) to benzene toxicity. *Proc Natl Acad Sci USA* 96, 8150-8155
- Moszczynski P, Lisiewicz J (1982) T and B cells and occupational exposure to benzene and its homologues (with regard to other blood cells). *Rev Esp Oncol* 29, 49-55
- Mullin AH, Rando R, Esmundo F, Mullin DA (1995) Inhalation of benzene leads to an increase in the mutant frequencies of a transgene in lung and spleen tissues of mice. *Mutat Res* 327, 121-129
- Nakajima T, Okuyama S, Yonekura I, Sato A (1985) Effect of ethanol and phenobarbital administration on the metabolism and toxicity of benzene. *Chem-Biol Interact* 55, 23-38
- Nowell PC, Hungerford DA (1960) Chromosome studies on normal and leukemic human leukocytes. *J Natl Cancer Inst* 25, 85-109
- National Toxicology Program (NTP) (1986) Toxicology and carcinogenesis studies of benzene (CAS No. 71-43-2) in F344/N rats and B6C3F<sub>1</sub> mice (gavage studies) National Cancer Institute Technical Report Series No. 289, DHEW Publication No (NIH) 86-2545. US Department of Health Service, NIH
- Nwosu VC, Kissling GE, Trempus CS, Honeycutt H, French JE (2004) Exposure of Tg.AC transgenic mice to benzene suppresses hematopoietic progenitor cells and alters gene expression in critical signaling pathways. *Toxicol Appl Pharmacol* 196, 37-46
- OEHHA [Office of Environmental Health Hazard Assessment] (2003) No significant risk levels (NSRLs) for the proposition 65 carcinogen benzene. California Environmental Protection Agency, May 2003.
- Ott MG, Townsend JC, Fishbeck WA, Langner RA (1978) Mortality among individuals occupationally exposed to benzene. *Arch Environ Health* 33, 3-10
- Paci E, Buiatti E, Seniori CA, Miligi L, Pucci N, Scarpelli A, Petrioli G, Simonato L, Winkelmann R, Kaldor JM (1989) Aplastic anemia, leukemia and other cancer mortality in a cohort of shoe workers exposed to benzene. *Scand J Work Environ Health* 15, 313-318
- Pathak DN, Lévy G, Bodell WJ (1995) DNA adduct formation in the bone marrow of B6C3F<sub>1</sub> mice treated with benzene. *Carcinogenesis* 16, 1803-1808

- Paustenbach DJ, Bass RD, Price P (1993) Benzene Toxicity and Risk Assessment, 1972-1992: Implications for Future Regulation. *Environmental Health Perspectives Supplements* 101 (Suppl. 6), 177-200
- Paxton MB, Chinchilli VM, Brett SM, Rodricks JV (1994) Leukemia risk associated with benzene exposure in the pliofilm cohort. II. Risk estimates. *Risk Anal* 14, 155-161
- Paxton MB (1996) Leukemia Risk Associated with Benzene Exposure in the Pliofilm Cohort. *Environmental Health Perspectives* 104 (Suppl. 6), 1431-1436
- Pegram LD, Megonigal MD, Lange BJ, Nowell PC, Rowley JD, Rappaport EF, Felix CA (2000) t(3;11) translocation in treatment-related acute myeloid leukemia fuses MLL with the GMPS (Guanosine 5' monophosphate synthetase) gene. *Blood* 96, 4360-4362
- Picciano D (1979) Cytogenetic study of workers exposed to benzene. *Environ Res* 19, 33-38
- Pippard EC, Acheson ED (1985) The mortality of boot and shoe makers, with special reference to cancer. *Scand J Work Environ Health* 11, 249-255
- Popp W, Vahrenholz C, Yaman S, Müller C, Schmieding W, Norpoth K, Fahnert R (1992) Investigations of the frequency of DNA strand breakage and cross-linking and of sister chromatid exchange frequency in the lymphocytes of female workers exposed to benzene and toluene. *Carcinogenesis* 13, 57-61
- Rappaport SM, Waidyanatha S, Qu Q, Shore R, Jin X, Cohen B, Chen L-C, Melikian AA, Li G, Yin S, Yan H, Xu B, Mu R, Li Y, Zhang X, Li K (2002) Albumin adducts of benzene oxide and 1,4-benzoquinone as measures of human benzene metabolism. *Cancer Res* 62(5), 1330-1337
- Reddy MV, Bleicher WT, Blackburn GR, Mackerer CR (1990) DNA adduction by phenol, hydroquinone, or benzoquinone *in vitro* but not *in vivo*: nuclease P1-enhanced <sup>32</sup>P-postlabeling adducts as labeled nucleoside bisphosphates, dinucleotides and nucleoside monophosphates. *Carcinogenesis* 11, 1349-1357
- Rinsky RA, Smith AB, Hornung R, Filloon TG, Young RJ, Okun AH, Landrigan PJ (1987) Benzene and leukemia. An epidemiologic risk assessment. *New Engl J Med* 316, 1044-1050
- Rinsky RA, Hornung RW, Siver SR, Tseng CY (2002) Benzene exposure and hematopoietic mortality: A long-term epidemiological risk assessment. *Am J Ind Med* 42, 474-480
- Rivedal E, Witz G (2005) Metabolites of benzene are potent inhibitors of gap-junction intercellular communication. *Arch Toxicol* 79, 303-311
- Ross D, Siegel D, Schattenberg DG, Sun XM, Moran JL (1996) Cell-specific activation and detoxification of benzene metabolites in mouse and human bone marrow: identification of target cells and a potential role for modulation of apoptosis in benzene toxicity. *Environ Health Perspect* 104, 1177-1182
- Rossi AM, Guarnieri C, Rovesti S, Gobba F, Ghittori S, Vivoli G, Barale R (1999) Genetic polymorphisms influence variability in benzene metabolism in humans. *Pharmacogenetics* 9, 445-451

- Rothman N, Bechtold WE, Yin SN, Dosemeci M, Li GL, Wang YZ, Griffith WC, Smith MT, Hayes RB (1998) Urinary excretion of phenol, catechol, hydroquinone, and muconic acid by workers occupationally exposed to benzene. *Occup Environ Med* 55, 705-711
- Rothman N, Haas R, Hayes RB, Li GL, Wiemels J, Campleman S, Quintana PJ, Xi LJ, Dosemeci M, Titenko-Holland N, Meyer KB, Lu W, Zhang LP, Bechtold W, Wang YZ, Kolachana P, Yin SN, Blot W, Smith MT (1995) Benzene induces gene-duplicating but not gene-inactivating mutations at the glycophorin A locus in exposed humans. *Proc Natl Acad Sci USA* 92, 4069-4073
- Rothman N, Li GL, Dosemeci M, Bechtold WE, Marti GE, Wang YZ, Linet M, Xi LJ, Lu W, Smith MT, Titenko-Holland N, Zhang LP, Blot W, Yin SN, Hayes RB (1996) Hematotoxicity among Chinese workers heavily exposed to benzene. *Am J Ind Med* 29, 236-246
- Rothman N, Smith MT, Hayes RB, Traver RD, Hoener B, Campleman S, Li GL, Dosemeci M, Linet M, Zhang L, Xi L, Wacholder S, Lu W, Meyer KB, Titenko-Holland N, Stewart JT, Yin S, Ross D (1997) Benzene poisoning, a risk factor for hematological malignancy, is associated with the NQO1 <sup>609</sup>C→T mutation and rapid fractional excretion of chlorzoxazone. *Cancer Res* 57, 2839-2842
- Rowley JD, Olney HJ (2002) International workshop on the relationship of prior therapy to balanced chromosome aberrations in therapy-related myelodysplastic syndromes and acute leukemia: overview report. *Genes Chromosomes Cancer* 33, 331-345
- Rushton L (1993a) Further follow up of mortality in a United Kingdom oil distribution centre cohort. *Br J Ind Med* 50, 561-569
- Rushton L (1993b) A 39-year follow-up of the U.K. oil refinery and distribution center studies: Results for kidney cancer and leukemia. *Environ Health Perspect* 101, 77-84
- Rushton L (1993c) Further follow up of mortality in a United Kingdom oil refinery cohort. *Br J Ind Med* 50, 549-560
- Sahota SS, Leo R, Hamblin TJ, Stevenson FK (1996) Ig VH gene mutational patterns indicate different tumor cell status in human myeloma and monoclonal gammopathy of undetermined significance. *Blood* 87, 746-755
- Sato A, Nakajima T (1985) Enhanced metabolism of volatile hydrocarbons in rat liver following food deprivation, restricted carbohydrate intake and administration of ethanol, phenobarbital, polychlorinated biphenyl and 3-methylcholanthrene: a comparative study. *Xenobiotica* 15, 67-75
- Savitz DA, Andrews KW (1997) Review of epidemiologic evidence on benzene and lymphatic and hematopoietic cancers. *Am. J. Ind. Med.* 31, 287-295
- Schattenberg DG, Stillman WS, Gruntmeir JJ, Helm KM, Irons RD, Ross D (1994) Peroxidase activity in murine and human hematopoietic progenitor cells: potential relevance to benzene-induced toxicity. *Molec Pharmacol* 46, 346-351
- Schnatter AR, Katz AM, Nicolich MJ, Theriault G (1993) A retrospective mortality study among Canadian petroleum marketing and distribution workers. *Environ Health Perspect* 104, Suppl 6, 1375-1379

- Schnatter AR, Rosamilia K, Wojcik NC (2005) Review of the literature on benzene exposure and leukemia subtypes. *Chemico-Biological Interactions* 153-154, 9-21
- Schönberger A, Mehrrens G, Valentin H (1998) *Arbeitsunfall und Berufskrankheit*, 6. Auflage, Erich Schmidt Verlag 1998
- Schönberger A, Mehrrens G, Valentin H (2003) *Arbeitsunfall und Berufskrankheit*, 7. Auflage, Erich Schmidt Verlag 2003
- Silver SR, Rinsky RA, Cooper SP, Hornung RW, Lai D (2002) Effect of follow-up time on risk estimates: A longitudinal examination of the relative risks of leukaemia and multiple myeloma in a rubber hydrochloride cohort. *Am J Ind Med* 42, 481-489
- Smith MT, Jones RM, Smith AH (2007) Benzene exposure and risk of Non-Hodgkin Lymphoma. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 16, 385-391
- Smith MT, Skibola CF, Allan JM, Morgan GJ (2004) Causal models of leukemia and lymphoma. IARC Scientific Publications No. 157, International Agency for Research on Cancer, Lyon 2004, 373-392
- Smith MT, Wang Y, Kane E, Rollinson S, Wiemels JL, Roman E, Roddam P, Cartwright R, Morgan G (2001) Low NAD(P)H :quinone oxidoreductase 1 activity is associated with increased risk of acute leukemia in adults. *Blood* 97, 1422-1426
- Smith MT, Zhang L, Wang Y, Hayes RB, Li G, Wiemels J, Dosemeci M, Titenko-Holland N, Xi L, Kolachana P, Yin S, Rothman N (1998) Increased translocations and aneusomy in chromosomes 8 and 21 among workers exposed to benzene. *Cancer Res* 58, 2176-81
- Snyder R, Witz G, Goldstein BD (1993) The toxicology of benzene. *Environ Health Perspect* 100, 293-306
- Sorahan T, Kinlen LJ, Doll R (2005) Cancer risks in a historical UK cohort of benzene exposed workers. *Occup Environ Med* 62, 231-236
- Steffen C, Auclerc MF, Auvrignon A, Baruchel A, Kebaili K, Lambilliotte A, Leverger G, Sommelet D, Vilmer E, Hémon D, Clavel J (2004) Acute childhood leukemia and environmental exposure to potential sources of benzene and other hydrocarbons; a case-control study. *Occup Environ Med* 61, 773-778
- Stein H, Hiddemann W (1999) Die neue WHO-Klassifikation der malignen Lymphome. *Dtsch. Ärztebl.* 96, A3168-A3176
- Stillman WS, Varella-Garcia M, Irons RD (2000) The benzene metabolite, hydroquinone, selectively induces 5q31- and -7 in human CD34+CD19- bone marrow cells. *Exp Hematol* 28, 169-176
- Strobl H, Takimoto M, Majdic O, Fritsch G, Scheinecker C, Höcker P, Knapp W (1993) Myeloperoxidase expression in CD34+ normal human hematopoietic cells. *Blood* 82, 2069-2078
- Tannapfel A, Weihrauch M, Lehnert G, Weber A, Wittekind C, Wrbitzky R (2001) Unfallversicherungsrechtliche Begutachtung fraglich Benzol-assoziiierter Non-Hodgkin-Lymphome.

- In: Drexler H, Broding HC (Hrsg.) Verh Dtsch Ges Arbeitsmed Umweltmed, S. 460-463. Rindt-Druck, Fulda
- Tompa A, Major J, Jakab MG (1994) Monitoring of benzene-exposed workers for genotoxic effects of benzene : improved-working-condition-related decrease in the frequencies of chromosomal aberrations in peripheral blood lymphocytes. *Mutat Res* 304, 159-165
- Tough IM, Smith PG, Court Brown WM, Hamden DG (1970) Chromosome studies on workers exposed to atmospheric benzene. The possible influence of age. *Eur J Cancer* 6, 49-55
- Trush MA, Twerdok LE, Rembish SJ, Zhu H, Li Y (1996) Analysis of target cell susceptibility as a basis for the development of a chemoprotective strategy against benzene-induced hematotoxicities. *Environ Health Perspect* 104, 1227-1234
- Tsai SP, Gilstrap EL, Cowles SR, Snyder PJ, Ross CE (1993) A cohort mortality study of two California refinery and petrochemical plants. *J Occup Med* 35, 415-421
- Tuo J, Loft S, Poulsen HE (1999) Enhanced benzene-induced DNA damage in PMA-stimulated cells *in vitro* and in LPS-treated animals. *Free Radic Biol Med* 26, 801-808
- Uchiyama H, Barut BA, Mohrbacher AF, Chauhan D, Anderson KC (1993) Adhesion of human myeloma-derived cell lines to bone marrow stromal cells stimulates interleukin-6 secretion. *Blood* 82, 3712-3720
- Valentine JL, Lee SST, Seaton MJ, Asgharian B, Farris G, Corton JC, Gonzalez FJ, Medinsky MA (1996) Reduction of benzene metabolism and toxicity in mice that lack CYP2E1 expression. *Toxicol Appl Pharmacol* 141, 205-213
- Vardiman JW, Harris NL, Brunning RD (2002) The World Health Organization (WHO) classification of the myeloid neoplasms. *Blood* 100, 2292-2302
- Vermeulen R, Lan Q, Zhang L, Gunn L, McCarthy D, Woodbury RL, McGuire M, Podust VN, Li G, Chatterjee N, Mu R, Yin S, Rothman N, Smith MT (2005) Decreased levels of CXC-chemokines in serum of benzene-exposed workers identified by array-based proteomics. *Proc Natl Acad Sci U S A* 102, 17041-17046
- Ward JB, Ammenheuser MM, Ramanujam VM, Morris DL, Whorton EB, Legator MS (1992) The mutagenic effects of low level sub-acute inhalation exposure to benzene in CD-1 mice. *Mutat Res* 268, 49-57
- Weiland SK, Keil U (1995) Epidemiologische Studie zur Ermittlung des Berufskrebsrisikos in der Gummiindustrie. Heidelberg: BG Chemie
- Wen CP, Tsai SP, McClellan WA, Gibson RL (1983) Long-term mortality study of oil refinery workers. *Am J Epidemiol* 118, 526-542
- Whysner J (2000) Benzene-induced genotoxicity. *J Toxicol Environ Health* 61, 347-351
- Whysner J, Reddy MV, Ross PM, Mohan M, Lax EA (2004) Genotoxicity of benzene and its metabolites. *Mutation Res* 566, 99-130

- Williams CS, Mann M, DuBois RN (1999) The role of cyclooxygenases in inflammation, cancer, and development. *Oncogene* 18, 7908-7916
- Winterbourn CC, Kettle AJ (2004) Reactions of superoxide with myeloperoxidase and its products. *Jpn J Infect Dis* 57, S31-3
- Winterbourn CC, Vissers MCM, Kettle AJ (2000) Myeloperoxidase. *Curr Opin Hematol* 7, 53-58
- Woitowitz J-J, Thielmann HW, Norpoth K, Henschler D, Hallier E (2003) Benzol als Ausnahmekarzinogen in der Prävention und seine genotoxischen Folgen: Toxikologische, arbeitsmedizinische und sozialmedizinische Aspekte. *Zbl Arbeitsmed* 53, 126-150
- Wong O, Morgan RW, Bailey WJ, Swencicki RE, Claxton KW, Kheifets L (1986) An epidemiological study of petroleum refinery employees. *Br J Ind Med* 43, 6-17
- Wong O (1987a) An industry wide mortality study of chemical workers occupationally exposed to benzene. I. General results. *Br. J. Ind.* 44, 365-381
- Wong O (1987b) An industry wide mortality study of chemical workers occupationally exposed to benzene. II. Dose response analyses. *Brit J Ind Med* 44, 382-395 [Erratum 1987 in *Br J Ind Med* 44, 776]
- Wong O, Raabe GK (2000) Non-Hodgkin's Lymphoma and exposure to benzene in a multinational cohort of more than 308,000 petroleum workers, 1937 to 1996. *J Occup Environ Med* 42, 554-568
- Yager JW, Eastmond DA, Robertson ML, Paradisin WM, Smith MT (1990) Characterization of micronuclei induced in human lymphocytes by benzene metabolites. *Cancer Res* 50, 393-399
- Yin SN, Li GL, Tain FD, Fu ZI, Jin C, Chen YJ, Luo SJ, Ye PZ, Zhang JZ, Wang GC, Zhang XC, Wu HN, Zhong QC (1987a) Leukaemia in benzene workers: a retrospective cohort study. *Br J Ind Med* 44, 124-128
- Yin SN, Li Q, Tian F, Du C, Jin C (1987b) Occupational exposure to benzene in China. *Br J Ind Med* 44, 192-195
- Yin SN, Li GL, Tain FD, Fu ZI, Jin C, Chen YJ, Luo SJ, Ye PZ, Zhang JZ, Wang GC, Zhang XC, Wu HN, Zhong QC (1989) A retrospective cohort study of leukemia and other cancers in benzene workers. *Environ Health Perspect* 82, 207-213
- Yin SN, Hayes RB, Linet MS, Li GL, Dosemeci M, Travis LB, Zhang ZN, Li DG, Chow WH, Wacholder S, Blot WJ (1996) An expanded cohort study of cancer among benzene-exposed workers in China. Benzene Study Group. *Environ Health Perspect* 104 Suppl 6, 1339-1341
- Yu R, Weisel CP (1996) Measurement of the urinary benzene metabolite trans,trans-muconic acid benzene exposure in humans. *J Toxicol Environ Health* 48, 453-477
- Zarani F, Papazafiri P, Kappas A (1999) Induction of micronuclei in human lymphocytes by organic solvents in vitro. *J Environ Pathol Toxicol Oncol*, 18, 21-28

- Zeman K, Tchorzewski H, Baj Z, Nowak Z, Majewska E, Pokoca L, Kocur E, Kantorski J (1990) The effects of occupational exposure to hydrocarbons on some immune parameters of workers of the phenol division of a petrochemical plant. *Pol J Occup Med* 3, 399-407
- Zhang L, Eastmond DA, Smith MT (2002) The nature of chromosomal aberrations detected in humans exposed to benzene. *Crit Rev Toxicol* 32, 1-42
- Zhang L, Rothman N, Wang Y, Hayes RB, Li G, Dosemeci M, Yin S, Kolachana P, Titenko-Holland N, Smith MT (1998a) Increased aneusomy and long arm deletion of chromosomes 5 and 7 in the lymphocytes of Chinese workers exposed to benzene. *Carcinogenesis* 19, 1955-61
- Zhang L, Wang Y, Shang N, Smith MT (1998b) Benzene metabolites induce the loss and long arm deletion of chromosomes 5 and 7 in human lymphocytes. *Leuk Res* 22, 105-113
- Zhang L, Yang W, Hubbard AE, Smith MT (2005) Nonrandom aneuploidy of chromosomes 1, 5, 6, 7, 8, 9, 11, 12, and 21 induced by the benzene metabolites hydroquinone and benzenetriol. *Environ Mol Mutagen* 45, 388-396