

Untersuchungen zur krebserzeugenden Wirkung von Nanopartikeln und anderen Stäuben

M. Roller

**Forschung
Projekt F 2083**

**Forschung
Projekt F 2083**

M. Roller

**Untersuchungen zur
krebserzeugenden Wirkung von
Nanopartikeln und anderen Stäuben**

Dortmund/Berlin/Dresden 2008

Diese Veröffentlichung ist der Abschlussbericht zum Projekt „Untersuchungen zur krebserzeugenden Wirkung von Nanopartikeln und anderen Stäuben“ - Projekt F 2083 - im Auftrag der Bundesanstalt für Arbeitsschutz und Arbeitsmedizin. Die Verantwortung für den Inhalt dieser Veröffentlichung liegt bei dem Autor.

Die Einzeltierdaten können als ZIP-Datei bei der BAuA angefordert werden.
Bei Interesse wenden Sie sich bitte an Herrn Dr. Wardenbach
wardenbach.peter@baua.bund.de.

Autor: Dr. Markus Roller

Beratungsbüro für Risikoabschätzung
Doldenweg 14, 44229 Dortmund

Herausgeber: Bundesanstalt für Arbeitsschutz und Arbeitsmedizin
Friedrich-Henkel-Weg 1-25, 44149 Dortmund
Telefon: 0231 9071-0
Telefax: 0231 9071-2454
E-Mail: poststelle@baua.bund.de
Internet: www.baua.de

Berlin:
Nöldnerstr. 40-42, 10317 Berlin
Telefon: 030 51548-0
Telefax: 030 51548-4170

Dresden:
Proschhübelstr. 8, 01099 Dresden
Telefon: 0351 5639-50
Telefax: 0351 5639-5210

Alle Rechte einschließlich der fotomechanischen Wiedergabe und des auszugsweisen Nachdrucks vorbehalten.
Aus Gründen des Umweltschutzes wurde diese Schrift auf Recyclingpapier gedruckt.

ISBN 978-3-88261-069-7

Inhaltsverzeichnis

	Seite
Kurzreferat	7
Abstract	8
1	Einleitung und Fragestellungen 9
2	Beschreibung des Tierexperiments 11
2.1	Stäube 13
2.2	Versuchstiere und Tierhaltung 24
2.3	Versuchsplan, Durchführung, Verlauf 25
2.4	Statistische Auswertung (Basis-Statistik Kanzerogenitätsversuch) 29
2.4.1	Allgemeines 29
2.4.2	Überlebenszeiten 29
2.4.3	Tumorhäufigkeiten 30
2.4.4	Tiergewichte 30
2.4.5	Erläuterung zu den Grunddatenblättern (<i>Basic data sheets</i>) und Bewertungsziffern (<i>indicators</i>) im Anhang - Appendix 8.3 31
3	Ergebnisse 35
3.1	Überblick 35
3.2	Akute Verträglichkeit 37
3.3	Langzeit-Verträglichkeit und Ergebnis des Kanzerogenitätstests 43
3.4	Makroskopisches Erscheinungsbild der Lungen, Lungengewichte und -volumina 50
3.5	Histologische Diagnosen der Lungentumoren 50
3.6	Zeitlicher Verlauf des Auftretens der Lungentumoren 53
3.7	Vertrauensbereiche und statistische Vergleiche der Tumorhäufigkeiten in Abhängigkeit von der Dosis 53
4	Statistische Auswertungen der Dosis-Häufigkeitsbeziehungen 58
4.1	Dosis-Häufigkeitsbeziehungen bei den einzelnen Stäuben 58
4.2	Multivariate logistische Regression 63
4.3	Multivariate Analysen des Dosismaßes mit dem Weibull- und Multistage-Modell 68
4.4	Auswertungen mit einem „biologisch-basierten“ Dosis-Zeit-Risikomodell 77
5	Diskussion 84
5.1	Dosismaß 84
5.1.1	Optimaler Maßstab für die kanzerogene Potenz: GBS-Volumen in Verbindung mit der Partikelgröße 84
5.1.2	Die Stauboberfläche eignet sich nicht als universelles Dosismaß 86

5.1.3	Die Partikelzahl eignet sich nicht als universelles Dosismaß	91
5.1.4	Fragen der Messtechnik - Die Kombination mehrerer Größen (Volumen, Oberfläche, Partikelzahl) zu einem komplexen Dosismaß bringt keine Vorteile	94
5.2	Wirkungsmechanismus bei der GBS-Kanzerogenese	97
5.2.1	Die Entzündungshypothese	97
5.2.2	Dieseruß erfüllt die GBS-Definition, PAH-Gehalt nicht maßgebend	103
5.2.3	Wirkungsmechanismus nicht geklärt; auch eine direkte kanzerogene Wirkung auf die Epithelzellen erscheint möglich	106
5.3	Eine regulatorisch nutzbare Wirkungsschwelle lässt sich nicht ableiten	109
5.3.1	Irreführende Schaubilder und Interpretation einer Wirkungsschwelle	109
5.3.2	PMN in der Lungenspülflüssigkeit: Zeichen einer chronischen Entzündung bereits unterhalb einer Exposition in Höhe des Allgemeinen Staubgrenzwerts	112
5.3.3	Die Dosen in der 19-Stäube-Studie waren nicht übermäßig hoch	114
5.3.4	Der Versuch, aus einem Teildatensatz der 19-Stäube-Studie einen Schwellenwert abzuleiten, führte zu unplausiblen Ergebnissen	115
5.3.5	Mehr histologisch untersuchte Gewebsschnitte pro Lunge erforderlich, um kleine Tumoren mit höherer Wahrscheinlichkeit zu finden	118
5.3.6	Entzündungsreaktionen nach Partikelexposition in der Menschenlunge: Kohlengrubenstaub, Dieselruß, Feinstaub und andere	122
5.4	Epidemiologische Daten - Relevanz der Daten von Ratten für den Menschen	127
5.4.1	Epidemiologische Daten zu Dieselmotoremissionen und Umwelt-Feinstaub	127
5.4.1.1	Vorbemerkung zu Dieselmotor-Emissionen	127
5.4.1.2	Epidemiologie - Risikoerhöhungen für Lungenkrebs	128
5.4.1.3	Expositionen	129
5.4.1.4	Expositions-Risikobeziehungen	130
5.4.1.5	Quantitative Risikoabschätzungen	134
5.4.2	Erhöhtes Lungentumorrisiko bei Kohlenbergleuten, durch Healthy worker-Selektionseffekte schwer zu entdecken	135
5.4.3	Epidemiologische Studien mit Ruß und Feinstaub	143
5.4.4	Unterschiedliche Lungentumortypen bei Ratte und Mensch: Präventivmedizinisch irrelevant	143
5.4.5	Die Rattenspezifität des Overload-Phänomens: Eine nach wie vor unbewiesene Hypothese	144

5.4.6	Falsches Postulat: Gleiche Entzündungsreaktionen und gleicher Proliferationsgrad für gleiche Tumorrisiken	146
5.4.7	System der Oxidantienabwehr: Unterschiedliche „Kapazitäten“ bei Ratte, Hamster und Mensch	148
5.4.8	Lungentumorrisiko durch GBS bei Ratte und Mensch: Wesentlicher Unterschied weder nachgewiesen noch naheliegend	149
5.5	Quantitative Risikoabschätzung anhand der Daten aus Versuchen mit Ratten	151
5.5.1	Vergleich zwischen den kanzerogenen Wirkungsstärken von GBS im Inhalationstest und Instillationstest	152
5.5.2	Risikoabschätzung auf Basis der 19-Stäube-Studie in Kombination mit Daten aus Inhalationsversuchen	162
5.6	Spezifisch toxische granuläre bio-beständige Stäube	168
5.6.1	Quarzhaltige Stäube	168
5.6.2	Verdachtsmomente bei Aluminiumverbindungen	179
5.6.3	Verdachtsmomente bei hydrophobierender Beschichtung	182
5.7	Zur Risikoakzeptanz	185
5.7.1	Dilemma zwischen Nachweisbarkeit und Akzeptierbarkeit von Krebsrisiken (Betrachtungen zur Power empirischer Studien)	185
5.7.2	Wirkungsschwelle bei fehlendem Nachweis primärer Gentoxizität - ein präventivmedizinisch nicht haltbares „als ob-Axiom“	189
5.7.3	Überlegungen zur Klassifizierung von GBS aller Größen	192
6	Schlussfolgerungen und Ausblick	197
7	Literatur	201
8	A N H A N G (Appendix) Teilweise in Englisch (partly in English)	226
8.1	Gewichtsentwicklung (Body weight gain)	226
8.1.1	Analysis of body weight development - Table	226
8.1.2	Body weight development - Figures	234
8.2	Überlebenszeiten (Survival analysis)	243
8.2.1	Survival analysis - Tables	243
8.2.2	Mortality curves - Figures	247
8.3	Beispiele von Grunddatenblättern (Examples of basic data sheets with survival time, macroscopic tumour findings, microscopic tumour diagnoses of each rat)	258

8.3.1	Explanations and legends to abbreviations used in basic data sheets	258
8.3.2	Examples of basic data sheets	260
8.4	Daten nach intratrachealer Instillation verschiedener Dosen von Quarz DQ12 in Rattenlungen: Quarzretention, Lungen-Frischgewichte und Hydroxyprolinegehalte	268
8.5	Methode der intratrachealen Instillation	273
8.6	Formeln und Parameterwerte zum <i>biologically based</i> Dosis-Zeit-Risikomodell	275
9	Bestimmung von Dichte, spezifischer Oberfläche und Partikelgröße durch o.f.u. GmbH Hamburg	280

Untersuchungen zur krebserzeugenden Wirkung von Nanopartikeln und anderen Stäuben

Kurzreferat

Primäre Ziele der Untersuchungen waren, Unterschiede zwischen der Kanzerogenität von granulären Stäuben in der Rattenlunge nach intratrachealer Instillation zu erkennen, den optimalen Dosismaßstab für ihre Wirkungsstärke zu ermitteln und ihre mögliche Bedeutung für den Menschen zu interpretieren. Für das Experiment wurden 19 Stäube ausgewählt, deren Partikeln sich zumindest in einer der folgenden Eigenschaften wesentlich unterschieden: Chemische Zusammensetzung, Materialdichte, spezifische Oberfläche (gemäß der sogenannten BET-Methode) und mittlere Partikelgröße. Quarz und amorphes SiO₂ wurden als Stäube mit bekannter spezifischer Toxizität in den Test eingeschlossen; über die Toxizität mehrerer Stäube war wenig bekannt; ein hydrophobiertes TiO₂ erwies sich als akut stark toxisch.

16 der 19 Stäube bildeten eine Gruppe, für die keine spezifische Toxizität nachgewiesen wurde, die für ihre Kanzerogenität in diesem Experiment wesentlich gewesen zu sein schien. Diese Stäube wurden daraufhin als *alveolengängige granuläre biobeständige Stäube ohne bekannte signifikante spezifische Toxizität* (Abkürzung: GBS; sie umfasst *alle neun* Worte) im Rahmen dieser Kanzerogenitätsstudie bezeichnet. 12 der 16 GBS wurden den Feinstäuben (GBS-F) zugerechnet (mittlerer Durchmesser 0,09 - 4 µm), 4 den Ultrafeinstäuben bzw. „Nanopartikeln“ (GBS-UF, mittlerer Durchmesser 0,01 - 0,03 µm). Die Ergebnisse legten es nahe, die große Gruppe der GBS-F in zwei Gruppen mit unterschiedlichen Durchmesserbereichen zu unterteilen: die Gruppe der klein-feinen (GBS-KF, mittl. Durchmesser 0,09 - 0,2 µm) und die Gruppe der groß-feinen GBS (GBS-GF, mittl. Durchmesser 1,8 - 4 µm).

Die wichtigsten Ergebnisse und Schlussfolgerungen: Alle 16 GBS erzeugten Lungentumoren, dosisabhängig und viel häufiger als erwartet. Das GBS-Volumen erwies sich in Verbindung mit dem Partikeldurchmesser als der geeignetste Dosismaßstab für die Kanzerogenität der GBS. Die 4 geprüften GBS-UF wirkten ungefähr doppelt so stark wie die 4 „kleinen“ GBS-KF und 5- bis 6-mal stärker als die 8 „großen“ GBS-GF.

Eine Wirkungsschwelle für die Kanzerogenität von GBS im Bereich des Allgemeinen Staubgrenzwertes ist für die Ratte unter Berücksichtigung aller Inhalations- und Instillationsexperimente äußerst unwahrscheinlich. Das zusätzliche Krebsrisiko nach Exposition von Ratten gegenüber GBS-F in Höhe des seit 2001 geltenden Allgemeinen Staubgrenzwerts für alveolengängigen Staub von 3 mg/m³ wurde mit 1 - 3 % berechnet. Viele Argumente sprechen gegen die Hypothese, dass der Mechanismus, der bei der Ratte die staubbedingten Lungentumoren verursacht, beim Menschen nicht existiert. Aus epidemiologischen Untersuchungen ergeben sich Hinweise, nach denen beim Menschen eine ähnliche kanzerogene Potenz möglich ist wie bei der Ratte, bezogen auf die Langzeit-Expositionskonzentration. Die Grenze für ein statistisch „eindeutig“ erhöhtes Risiko liegt allerdings bei Mensch und Ratte bei den allermeisten Untersuchungen sehr hoch (absolutes Exzess-Risiko größer 5 - 10 %). Insgesamt erfüllt der gegenwärtige Kenntnisstand die Kriterien für eine Einstufung von GBS in die Kategorie 2 der krebserzeugenden Stoffe nach EU-Richtlinien.

Schlagwörter: Staub, Nanopartikeln, Lunge, Krebs, Ratte

Research on the carcinogenicity of nanoparticles and other dusts

Abstract

The primary aims of the study were to analyse differences between the carcinogenicity of granular dusts in the rat lung after intratracheal instillation, to find out the optimal dose metric for their carcinogenic potency and to interpret their potential relevance for human health. Nineteen dusts were chosen for the experiment, which differed at least in one of the following properties of their particles: chemical composition, density, specific surface area (according to the so called BET method) and mean particle size. Quartz and amorphous silica were included in the study as dusts with known specific toxicity; little was known about the toxicity of some dusts. Also, coated hydrophobic TiO₂ had been selected that had not been tested before and showed strong acute toxicity.

Sixteen of the 19 dusts formed a group for which no specific toxicity was detected which seemed to be essential for their carcinogenicity in this experiment. Accordingly, these dusts were defined as *respirable granular bio-durable particles without known significant specific toxicity* (GBP, the three letters of the abbreviation are to cover all nine words) in the frame of this carcinogenicity experiment. Regarding the size of the primary particles, 4 of the 16 GBP were clearly *ultrafine dusts* (GBP-UF, mean diameters 0.01 - 0.03 µm); they are also called *nanoparticles*. The other 12 GBP were classified as *fine dusts* (GBP-F, mean diameters 0.09 - 4.0 µm). The results suggested subdividing this large group into two groups with different diameters: 4 *small-fine dusts* (GBP-F-sm, mean diameters 0.09 - 0.2 µm) and 8 *large-fine dusts* (GBP-F-la, mean diameters 1.8 - 4 µm).

All 16 GBP produced lung tumours, many more than expected. The microscopically diagnosed lung tumour incidences were used for non-linear regression analysis. The GBP volume in connection with particle size turned out to be the most adequate dose metric for the carcinogenicity of GBP. The 4 tested GBP-UF were about 2 times more effective than the "small" GBP-F-sm and 5- to 6 times more effective than the "large" GBP-F-la.

An effect threshold of carcinogenicity of GBP in the range of the General Threshold Limit Value for Dust is extremely unlikely for rats, if all inhalation and instillation studies are considered. The additional cancer risk after exposure of rats to GBP-F was calculated as 1 - 3 % for the exposure scenario of the General Threshold Limit Value for respirable dust of 3 mg/m³, which is in force since 2001. Many arguments speak against the hypothesis that the mechanism which causes the dust related lung tumours in rats does not exist in humans. Some epidemiological data indicate that a similar carcinogenic potency may exist for humans and rats related to the long-term (i.e. same proportion of life expectancy) exposure concentration. However, the limit for a statistically "unequivocally" increased risk is very high (absolute excess risk greater than 5 - 10 %) for the most studies both with humans and with rats. Overall, the state of knowledge meets the EU criteria for a classification of GBP into category 2 of carcinogenic substances.

Key words: dust, nanoparticles, lung, cancer, rat

1 Einleitung und Fragestellungen

Der Schwerpunkt der Fragen zur Staubkanzerogenität, die mit einem umfangreichen Kanzerogenitätsversuch beantwortet werden sollten, ergab sich aus dem Sachstand zu Beginn der 90er Jahre*. Dieselruß, dessen Primärteilchen mit einem Durchmesser im Bereich von 0,01 - 0,05 µm als ultrafein bezeichnet werden, und andere sogenannte ultrafeine Stäube (Durchmesserbereich unter etwa 0,1 µm) hatten sich als deutlich Lungentumor erzeugend bei Ratten erwiesen, soweit sie in der Lunge relativ beständig waren. Nicht ultrafeine, d. h. feine, früher als Inertstäube (im Sinne von ohne spezifische toxische Wirkung) bezeichnete Partikeln wurden bezüglich Kanzerogenität als nicht wirksam beurteilt (GREIM, 1997), sofern sie monolithisch oder kompakt vorliegen und nicht als Agglomerate von ultrafeinen Partikeln, die in der Lunge wieder zerfallen können.

Im Zentrum der Fragen stehen somit Stäube, die im Rahmen der Studie als *alveolengängige granuläre bio-beständige Stäube ohne bekannte signifikante spezifische Toxizität* (GBS) bezeichnet wurden. Dabei ist wichtig, dass sich die Abkürzung GBS hier auf alle neun Worte bezieht, die vollständig als AGBS-OBSST abzukürzen wären; wegen der schlechten Praktikabilität dieses langen Begriffs werden als „abgekürzte Abkürzung“ die drei Buchstaben GBS verwendet. In Englisch lautet die Bezeichnung dann: *respirable granular bio-durable particles without known significant specific toxicity* (GBP). Bisher wurde im englischen Sprachraum der Begriff *poorly soluble particles* (PSP) verwendet. PSP wurden definiert als *chemically distinct non-fibrous poorly soluble particles of low acute toxicity* (ILSI, 2000). Der wichtigste Unterschied zwischen diesen beiden Definitionen, der eine neue Definition erfordert, liegt zwischen „low acute toxicity“ und „without known significant specific toxicity“; denn es geht nicht nur um die *akute* Toxizität, die bei den GBS definitionsgemäß nur relativ gering sein darf, um keine individuelle Stoffeinstufung mit niedrigerem Grenzwert zu erfordern. Bezüglich der *chronischen* Toxizität und Kanzerogenität soll bei den GBS die *unspezifische* Kanzerogenität ganz im Vordergrund stehen, die jeder relativ bio-beständige Staub unabhängig von seiner chemischen Zusammensetzung besitzt. Auf diese *unspezifische* Kanzerogenität sollte die Bewertung von GBS abgestellt sein. Eine *spezifische* Toxizität und Kanzerogenität soll *nicht wesentlich* sein, um eine Zuordnung zur Gruppe der GBS zu rechtfertigen. Die Definition von PSP meinte möglicherweise mit der nicht erwähnten chronischen Toxizität die immer vorhandene *unspezifische wesentliche* Kanzerogenität. Die Präzision dieser ILSI-Definition reicht aber nicht aus, weil sie zu Missverständnissen führt, denn

* Die Kanzerogenitätsstudie mit 19 granulären Stäuben an Ratten wurde von F. Pott und M. Roller in der Zeit von Juli 1995 bis Mai 1998 im Medizinischen Institut für Umwelthygiene an der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf durchgeführt (19-Stäube-Studie). Umständehalber, in einer Situation, die letztlich auch zur Schließung des Instituts führte, war es den Autoren zu jener Zeit nicht möglich, die histologische Auswertung des zweiten, größeren Teils der Studie zu betreuen und eine eingehende Beschreibung sowie die Auswertung der Basisdaten zu vollenden. Im Jahre 2003 wurde eine Auswertung des Versuchs auf der Grundlage der bis dahin vorliegenden histologischen Diagnosen sowie der komplett vorliegenden makroskopischen Tumordiagnosen in Form eines sogenannten Kurzberichts über das BAuA-Projekt F1843 auf der Website der BAuA veröffentlicht. Inzwischen ist es gelungen, die histologischen Tumordiagnosen durch die gleiche Arbeitsgruppe zu vervollständigen. Die 2003 noch ausstehenden histologischen Untersuchungen wurden mit Mitteln der BAuA durchgeführt. Eine umfassende Veröffentlichung der 19-Stäube-Studie sowie der Schlussfolgerungen und ihre Erörterung im Datenumfeld finden somit nun in der vorliegenden Form statt.

schwerlösliche Metallverbindungen (Prototyp: Nickeloxid) besitzen zwar akut eine nur geringe Toxizität, sie besitzen aber eine *spezifische* Kanzerogenität, die unabhängig von der GBS-Kanzerogenität besteht und regulatorisch zu berücksichtigen ist. Ab einem gewissen Nickeloxidgehalt in einem Staub muss diese spezifische Kanzerogenität wahrscheinlich als *wesentlich* oder *maßgebend* eingeschätzt werden. Im Unterschied dazu lassen sich mögliche „kleine“ Wirkungsanteile durch bekannte Kanzerogene in einem relativ bio-beständigen Staub als *unwesentlich* beurteilen. Sie sind zwar im Prinzip kanzerogen, wenn sie aber in einem GBS-Staub nur einen abschätzbaren Anteil von - als Vorschlag - etwa 20 % an der Lungenkrebs erzeugenden Wirkung ausmachen, besteht kein ausreichender Grund für eine getrennte Einstufung. Typisches Beispiel hierfür ist Dieselruß. Die Frage, ob es toxische Inhaltsstoffe von GBS gibt, die eine relevante nicht-neoplastische Wirkung haben, die einen individuellen, niedrigeren Grenzwert als für GBS erfordern, ist in jedem Einzelfall zu prüfen. Dies hat sich inzwischen für Aluminiumoxid in weitergehenden Untersuchungen herausgestellt (BELLMANN et al., 2006).

Die Untersuchung an 19 Stäuben schloss auch eine - bei der Staubauswahl nur zum Teil bekannte - Anzahl spezifisch toxischer Stäube ein und umfasst folgende Fragen:

1. Welche der geprüften 19 Stäube können im Rahmen dieser Studie als *alveolengängige granuläre bio-beständige Stäube ohne bekannte signifikante spezifische Toxizität* (GBS) beurteilt werden, obwohl sie sich in ihren chemisch-physikalischen Eigenschaften zum Teil erheblich unterscheiden, und welche der 19 Stäube sind als *spezifisch toxisch* anzusehen, deren unspezifische kanzerogene Wirkung durch die spezifische Toxizität beeinflusst wird?
2. Führen GBS nur im Durchmesserbereich von Ultrafeinstäuben zu Lungentumoren? Oder erzeugen auch Feinstäube mit mittleren Größen zwischen etwa 0,1 und 1 µm und zwischen 1 und 4 µm statistisch signifikant erhöhte Lungentumorhäufigkeiten (das bedeutet: mehr als rund 10 %), und zwar in einem empfindlicheren Prüfmodell als dem Inhalationstest und durch Lungenstaublasten, wie sie bei sehr hoch oder mäßig hoch exponierten Bergleuten gemessen wurden?
3. Wie lässt sich ein durch Exposition am Arbeitsplatz möglicherweise verursachtes, sozialmedizinisch und sozialpolitisch relevantes Lungentumorrisiko* innerhalb des großen, nicht statistisch signifikant erhöhten Bereichs zwischen 0,1 und 10 % schätzen?
4. Mit welcher der Staubeigenschaften Volumen, BET-Oberfläche und Partikeldurchmesser, die alle GBS bei gleicher Masse innerhalb eines breiten Spektrums besitzen, lassen sich ihre kanzerogene Wirkungsstärke und die Dosis-Wirkungsbeziehungen möglicherweise besser beschreiben als durch die Masse?

* Für die amerikanische Arbeitsschutzbehörde (OSHA, 1997) ist nach einer Begründung des Obersten Gerichtshofs (Supreme Court) ein Risiko von 1 zu 1000 *clearly significant*: "The Supreme Court has noted that a reasonable person would consider a fatality risk of 1/1000 to be a significant risk, and would consider a risk of one in one billion to be insignificant. ... So a risk of 1/1000 (10⁻³) represents the uppermost end of a million-fold range suggested by the Supreme Court, somewhere below which the boundary of acceptable versus unacceptable risk must fall." Ein am Arbeitsplatz zumutbares Krebsrisiko sollte demnach nicht oberhalb von 0,1 % liegen. Die Zumutung eines bestimmten Krebsrisikos durch die berufliche Belastung liegt jedoch außerhalb des Kompetenz- und Entscheidungsbereichs der Fachwissenschaftler, denn dabei sind unter anderem die Vorgaben der Verfassung im Rahmen des Rechts auf persönliche Unversehrtheit und des Sozialstaatsprinzips zu beachten.

- Oder: Welche Staubeigenschaft repräsentiert das kanzerogene Agens am besten, ohne es tatsächlich sein zu müssen? - Oder: Welcher Dosismaßstab ist optimal?
5. Wie groß ist der Unterschied zwischen der kanzerogenen Wirkungsstärke von GBS und reinem Quarzstaub DQ 12?
 6. Erhöht der Quarzgehalt von Kohlenrubenstäuben ihre Kanzerogenität im Vergleich zu quarzfreiem Kohlenstaub?
 7. Induziert auch das relativ gut bio-lösliche amorphe Siliziumdioxid (SiO_2) eine persistierende Entzündung, Fibrose und Tumoren?
 8. Ändert die Hydrophobierung eines Staubes seine Wirkung?
 9. Wie verhält sich die Empfindlichkeit des Instillationstests zu der des Inhalationstests?
 10. Wie ist die Übertragbarkeit der Kanzerogenität von GBS bei der Ratte auf den Menschen zu beurteilen?

2 Beschreibung des Tierexperiments

Für das Experiment wurden 19 Stäube ausgewählt, die Vergleiche der Ergebnisse von Stoffpaaren und -gruppen ermöglichen sollten. Die meisten Stäube unterschieden sich voneinander zumindest in einer der folgenden Eigenschaften erheblich: Chemische Zusammensetzung, Dichte, sogenannte BET-Oberfläche (Messung nach BRUNAUER, EMMET und TELLER, 1938), mittlere Partikelgröße, Oberflächenverhalten in Wasser (hydrophil, hydrophob).

Ein breites Dosispektrum zwischen 5 und 120 mg wurde durch intratracheale Instillationen in wöchentlichen Abständen an weibliche Wistar-Ratten verabreicht. Aufgrund von Daten aus veröffentlichten Experimenten wurde die mittlere Staubbelastung der Lungen bei den nicht spezifisch toxischen Stäuben konstant auf zwei Drittel der instillierten Dosis geschätzt, wenngleich dieser Faktor zumindest bei den niedrigeren Dosen zu hoch liegen dürfte (Daten und Diskussion in DRISCOLL et al., 2000, sowie POTT und ROLLER, 2002). Geplante Staubanalysen von je 6 Lungen bei bestimmten Gruppen unterblieben umständehalber; sie würden wahrscheinlich wegen der bekannten großen Streuung der Einzelwerte die Präzision gegenüber der Schätzung mit einem konstanten Faktor nicht deutlich verbessert haben. Unter der durchgängigen Voraussetzung einer längerfristigen, eher zu hoch als zu niedrig geschätzten Retention von zwei Dritteln der instillierten Dosis ergaben sich längerfristige mittlere Lungenstaubvolumenlasten von 1,5 bis 100 μL und eine Stauboberflächenbelastung der Lungen von 0,1 bis 13 m^2 . Die höchsten Staubgehalte der Rattenlungen entsprachen dem Staubgehalt von Kohlenbergleuten nach höchster Exposition von 50 - 100 g pro Bergmannslunge (EINBRODT, 1967; KING et al., 1956; NAGELSCHMIDT, 1960), der niedrigste denjenigen von nicht beruflich gegenüber Staub Exponierten älteren Frauen aus Großstädten in früheren Jahrzehnten im Be-

reich von 2,5 g (EINBRODT und DOHMES, 1967)*. Dieser lag unter der Annahme einer Dichte von 2 - 2,5 g/mL im Bereich des Staubvolumengrenzwertes der MAK-Kommission von 1 µL/g Kontroll-Lunge (GREIM, 1997).

Der Tierversuch wurde im Medizinischen Institut für Umwelthygiene an der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf (MIU) durchgeführt. Das Gesamtexperiment umfasst 2050 Ratten mit 46 Versuchsgruppen, davon 3 Kontrollgruppen; es besteht aus den beiden Teilen Kohlenstaubversuch (POTT et al., 2000), der im Juli 1995 begann, und dem Versuch mit Nicht-Bergbaustäuben, der in zwei Staffeln 8 und 16 Wochen später angesetzt wurde (POTT und ROLLER, 2000). Zweieinhalb Jahre nach Beginn wurden die überlebenden Ratten getötet; der letzte Teil endete im Mai 1998.

Von den histologischen Präparaten, die in der Abteilung für Umweltpathologie des Medizinischen Instituts für Umwelthygiene hergestellt worden waren, konnten von uns 1997/98 nur noch diejenigen aus dem 1. Teil (Kohlenstaubversuch) zur histopathologischen Tumordiagnostik von HE-gefärbten Schnitten an das Fraunhofer-Institut für Toxikologie und Aerosolforschung (ITA) in Hannover übergeben werden (Name ab 2003: Fraunhofer-Institut für Toxikologie und Experimentelle Medizin, ITEM). Sie wurden dort von einem der drei Pathologen Dr. H. Ernst, Frau Priv. Doz. Dr. S. Rittinghausen und Prof. Dr. U. Mohr nach gleichen Kriterien untersucht; schwierige Fälle diagnostizierten alle drei in einem Panel. Die Klassifizierung der Lungentumoren erfolgte nach BOORMAN et al. (1996) und wurde nach den Kriterien der IARC (DUNGWORTH et al., 1992) durchgeführt. Die Ergebnisse der Tumorfrequenzen und Tumortypen in den Versuchsgruppen wurden veröffentlicht (POTT et al., 2000).

Im Jahre 2003 wurde eine Auswertung des Versuchs auf der Grundlage der bis dahin vorliegenden histologischen Diagnosen sowie der komplett vorliegenden makroskopischen Tumordiagnosen in Form eines sogenannten Kurzberichts über das BAuA-Projekt F1843 auf der Website der BAuA veröffentlicht (POTT und ROLLER, 2003). Inzwischen ist es gelungen, die histologischen Tumordiagnosen der Studie durch die gleiche Arbeitsgruppe zu vervollständigen. Der allergrößte Teil der histologischen Untersuchungen, die noch ausstanden, wurde mit Mitteln der BAuA von denselben Pathologen wie beim 1. Teil (Kohlenstaubversuch) durchgeführt und mit den diagnostizierten Tumortypen veröffentlicht (BELLMANN et al., 2005; MOHR et al., 2006). Bei einigen wenigen der höher dosierten Versuchsgruppen, bei denen kein wesentlicher Beitrag zur Information über Dosis-Wirkungsbeziehungen mehr zu erwarten war, wurde aus ökonomischen Gründen auf die Histologie verzichtet. Ergebnisse und Interpretationen unter Zusammenfassung aller vorliegenden Daten wurden in Zeitschriften veröffentlicht (POTT und ROLLER, 2005; ROLLER und POTT, 2006). In den folgenden Abschnitten des vorliegenden Berichts wird auf Einzelheiten der Versuchsdurchführung eingegangen.

* Lungengewichte im Alter von 20-21 Jahren: Männer 953 g, Frauen 793 g (GEIGY, 1968). MAUDERLY (1994) geht nach International Commission on Radiological Protection bei gesunden Lungen von 1200 g am Lebensende aus und einem bis auf das Doppelte erhöhten Lungengewicht bei Bergleuten. Gewicht der Rattenlunge (Stämme Wistar und Fischer 344) im Alter von 8 - 10 Wochen 0,9 - 1,0 g. Infolgedessen kann das Verhältnis der gesunden Lungengewichte von Ratte und Mensch entsprechenden Alters sehr vereinfachend mit 1 zu 1 000 angenommen werden.

2.1 Stäube

Eine Übersicht über die Kenndaten der im ersten Teil der Studie, dem Kohlenstaubversuch, unter dem Begriff *Bergbaustäube* zusammengefassten fünf kohlenhaltigen Stäube mit Quarz als Positivkontrolle gibt Tab. 2.1. Wichtigstes Auswahlkriterium für die Bergbaustäube war der unterschiedliche Quarzgehalt. Bei den beiden gemahlene Kohlearten (Magerkohle, untere Fettkohle) war er nicht messbar, bei den drei Grubenstäuben betrug er 1,3 %, 9,0 % und 16,7 %. Durch diese Unterschiede sind auch Unterschiede in den Begleitmineralien und in der Materialdichte gegeben, während die Korngrößenverteilung von der Staubaufbereitung abhängt.

Da Quarzstaub mit der Kurzbezeichnung DQ 12 in zahlreichen Tier- und Zellversuchen auf seine biologischen Wirkungen geprüft wurde, werden im folgenden zusätzlich zu den Angaben in Tab. 2.1 weitere physikalisch-chemische Eigenschaften beschrieben. Über die Herkunft von den Dörentruper Sand- und Tonwerken GmbH in Dörentrup, Westfalen, und über die Aufbereitung berichtet ROBOCK (1973). Die offizielle Kurzbezeichnung ist *DQ 12 < 5 µm*. Details werden jedoch nicht beschrieben. Offenbar gab es zahlreiche Säcke mit Quarz aus der nicht näher bekannten Mahlung Nr. 12 mit Korngrößen < 60 µm. Daraus wurde durch Windsichtung mit einem Gerät der Walther-Staubtechnik, Köln, eine Fraktion < 5 µm hergestellt. Insofern ist anzunehmen, dass es mehrere Chargen gab bzw. gibt, die sich insbesondere in ihrer Größenverteilung etwas unterscheiden. Der von uns verwendete Quarzstaub stammt aus einem Vorrat, der Ende 1966 oder Anfang 1967 von Herrn Dr. Leiteritz, Hauptstelle für Staub- und Silikosebekämpfung des Steinkohlenbergbauvereins, Essen, aus dem Sack Nr. 17 zur Verfügung gestellt wurde. Sie wurde als 6. Lieferung Nr. 6 genannt und in Veröffentlichungen mitunter so bezeichnet.

Unser *Quarzstaub Nr. 6* wurde von NOLAN et al. (1989) unter anderem elektronenmikroskopisch hinsichtlich seiner Partikelgrößenverteilung untersucht. Dabei ergaben sich folgende Werte: 76,3 % < 1 µm, 23,4 % 1,1 - 3,0 µm, 0,2 % 3,1 - 5,0 µm, 0,1 % 5,1 - 10,0 µm. Diese Daten passen zu der Partikelgrößenverteilung, die von ROBOCK (1973) generell für DQ 12 durch eine Kurve angegeben wurde, deren relatives Maximum bei 0,8 µm liegt. Für die spezifische Oberfläche wurden mit der BET-Methode folgende Ergebnisse ermittelt: 7,4 m²/g (ROBOCK, 1973); 7,9 m²/g für eine Charge von 1961 (Leiteritz, pers. Mitteilung an F. Pott, 1970); unsere Probe 9,4 m²/g (Messergebnis im Fraunhofer-Institut für Toxikologie, Hannover, s. POTT et al., 1994b) und 8,8 m²/g (EICKHOFF, 2001). Im Unterschied zur BET-Oberfläche berechnete Armbruster eine Oberfläche von 3,1 m²/g aus dem Partikelvolumen, das sich aus der Partikelgrößenverteilung unter der Annahme einer Kugeloberfläche ergibt (s. Tab. 2.1). KLOSTERKÖTTER und LEITERITZ (1969) geben für Dörentruper Quarz außerdem an: Kristalliner SiO₂-Anteil 84 Gew.-% (röntgenographisch), 89 Gew.-% (ultraspektroskopisch), Al₂O₃ 0,004 %, TiO₂ 0,05 %, Na₂O 0,006 %, S 0,08 %; Gewichtsverlust bei 800 °C 0,73 %. Nach ROBOCK (1973) liegt der kristalline Anteil bei 87 % (Methode nicht angegeben), der Rest besteht aus amorphem SiO₂ mit geringer Kontamination von Kaolinit.

Die Kenndaten der 13 Stäube des zweiten Teils der Studie (*Nicht-Bergbaustäube*) enthält Tab. 2.2 einschließlich Hinweisen auf die Quellen der Daten. Die wesentlichsten Auswahlkriterien waren Unterschiede der Korngröße, der Dichte und der

Tab. 2.1 Kenndaten^a der 6 Stäube des 1. Teils der Studie (*Bergbaustäube*)

Stoff, Bezeichnung	Herkunft, Liefer- termin	Korngröße ^b [μm]			Part.zahl / mg ^c x 10 ⁹	Dichte [g/mL]	Spez. Oberfl. [m ² /g]	Quarz [%]	Asche [%]
		10 % <	50 % <	90 % <					
Kohle, gemahlene Magerkohle	Niederrhein. Bergwerks- AG ^d	1,6	4,0	7,6	0,27	1,4	4,1 ^e 1,50 ^f	< 0,1	5,1
Kohle, gemahlene untere Fettkohle ^g	DMT 1994	1,0	1,8	3,4	1,7	1,4	9,9 ^e 2,80 ^f	< 0,1	6
Fettkohle, quarzarmer Grubenstaub ^h	DMT 1994	1,5	3,4	6,1	0,54	1,8	6,4 ^e 1,75 ^f	1,3	~40
Gasflammkohle, quarzreicher Grubenstaub ⁱ	DMT 1994	1,0	2,4	4,7	1,5	2,2	10,9 ^e 2,32 ^f	9,0	~60
Gestein, Grubenstaub ^j	DMT 1994	0,8	2,3	4,6	1,2	2,4	17,6 ^e 1,78 ^f	16,7	86
Quarz, Dörentrup Mahlg. Nr. 12	Hauptstelle ^k 1966/67	0,6	1,1	2,3	3,6	2,6	8,8 ^e 3,10 ^f	99,1	

^a Wir danken Herrn Dr. Armbruster, Deutsche Montan Technologie GmbH, Geschäftsbereich Pro Tec, Essen, für die Überlassung von 4 der 6 Stäube sowie der Messdaten.

^b Messung mit dem Coulter Counter. Das Signal dieses Messgerätes ist primär abhängig vom Teilchenvolumen, d. h. mit dieser Methode wird der volumen- bzw. massenäquivalente Kugeldurchmesser von unregelmäßig geformten Partikeln bestimmt; als untere Grenze des Messbereichs wurde ein Äquivalentdurchmesser von 0,6 μm angegeben (ARMBRUSTER et al., 1979). Es ist nicht auszuschließen, dass die Stäube Teilchen mit kleinerem Durchmesser enthalten, die bei der Messung nicht erfasst wurden. Wahrscheinlich wären bei einem elektronenmikroskopischen Messverfahren die 10-, 50- und 90-Perzentile zu niedrigeren Durchmesserwerten hin verschoben.

^c Durch Rückrechnung aus der Korngrößenverteilung ermittelt, keine direkten Messdaten.

^d Über Dr. Weller, ca. 1970; Staub auch im Intraperitonealtest an Ratten und in Inhalationsversuchen an Rhesus-Affen angewendet (WELLER, 1977a).

^e Oberflächenbestimmung durch EICKHOFF (2001) nach der Methode von BRUNAUER, EMMET, und TELLER (1938; Abk. BET). Dieser Wert wurde für weitere Berechnungen verwendet.

^f Spezifische Oberfläche, berechnet aus dem Partikelvolumen, das sich aus der Partikelgrößenverteilung ergibt, und zwar unter der Annahme einer Kugeloberfläche (s. Fußnote b).

^g Gereinigt und gemahlen, Tremonia II.

^h Sammlung aus der Luft unter Tage in den *Bochumer Schichten* mit BAT II-Gerät (BERGBAU-FORSCH., 1989a); Staubprobe auch in anderen Experimenten untersucht (BERGBAU-FORSCH., 1989b; DMT, 1994).

ⁱ Sammlung aus der Luft unter Tage in den *Essener Schichten* mit BAT II-Gerät (BERGBAU-FORSCH., 1989a); Staubprobe auch in anderen Experimenten untersucht (BERGBAU-FORSCH., 1989b; DMT, 1994).

^j Sammlung aus der Luft einer unter Tage führenden Straße, Feinfraktion des Staubes aus einer Filtereinheit. Der hohe Ascheanteil von 86 % setzt einen geringen Kohlegehalt voraus, daher die Bezeichnung *Gesteinsstaub* anstatt *Kohlenstaub*.

^k Hauptstelle für Staub- und Silikosebekämpfung des Steinkohlenbergbauvereins, Essen.

Tab. 2.2 Kenndaten der 13 Stäube des 2. Teils der Studie (*Nicht-Bergbau-stäube*)

Stoff, Bezeichnung	Korngröße Mittelw. ^a [µm]	Dichte [g/mL]	BET-Oberfl. [m ² /g]	Herkunft / Hersteller	Literatur oder nähere Angaben
Flammruß 101	0,095	1,8 - 1,9	20; 18,4 ^b	Degussa	Degussa, 1991, 1994
Furnaceruß Printex 90	0,014	1,85 ^c	300; 337 ^b		
Aluminiumoxid C ^d , > 99,6% Al ₂ O ₃	0,013 ^c 0,020	2,9 3,2 ^{c,e}	100 ± 15 124 ^b	Sigma-Aldrich / Degussa	Degussa, 1983a, 1989
Aluminiumsilikat P 820, 9,6% Al ₂ O ₃ , 82% SiO ₂ , 8% Na ₂ O	0,015 ^f	2,1	100 62,9 ^b	Sigma-Aldrich / Degussa	Degussa, 1982
Kaolin, hydratisiertes Aluminiumsilikat, K 7375 [1332-58-7]	0,1 - 4 ~2 ^c	2,5 ^c	19 ^b	Sigma-Aldrich	Katalog von Sigma-Aldrich
Dieseluß	0,2 ^c (Agglom. + Aggregate)	1,85 ^g	12,9 nativ 34,5 ^{b,h} extrahiert	Dr. Tomingas	siehe Text
TiO ₂ P 25, hydrophil, überwiegend Anatas	0,030/0,021 0,025 ^c	3,8	50 ± 15 52 ^b	Degussa	Deg., 1983a, 1989 Nolan et al., 1989
TiO ₂ P 805 ⁱ , AL 90,003-2, hydrophob ^j	0,021	3,8	45 ± 10 32,5 ^b	Sigma-Aldrich / Degussa ^j	Deg., 1989, 1996 Pott et al., 1998
Test Toner für Kopierer (Polymer mit Rußkern)	3,5 (MMAD 4,0; geo.Stand.-abweich. 1,5)	1,2	3,6 ^b	Xerox	Bellmann et al., '91 Muhle et al., 1990, 1991
TiO ₂ Anatas AL 23,203-3 [1317-70-0], (hydrophil)	0,2 ^c	3,9	9,1 9,9 ^b	Sigma-Aldrich	Nolan et al., 1987 Pott et al., 1994
Zirkon(IV)-oxid, 99% ZrO ₂ AL 23,069-3	< 5 ^k ~2 ^c	5,85 ^m	4,4 ^b	Sigma-Aldrich	Katalog von Sigma-Aldrich
Lungenstaub, Bergmann, Silikose Grad III (336/1)	0,2 ^c	~2 ^c	12,2 ^b	Dr. Brockhaus	siehe Text
Silica fumed, Si S5505 (amorphes SiO ₂)	0,014	2,2 ⁿ	200 ± 25 210 ^b	Sigma-Aldrich	Katalog von Sigma-Aldrich

Fußnoten siehe nächste Seite

Fußnoten zu Tab. 2.2

- ^a Bei Degussa-Stäuben Berechnung des arithmetischen Mittelwerts nach Bestimmung der Durchmesser von 3 000 – 5 000 Teilchen über elektronenmikroskopische Aufnahmen (DEGUSSA, 1983b); zum Teil abweichende Angaben in verschiedenen Veröffentlichungen.
- ^b Oberflächenbestimmung nach dem BET-Verfahren durch EICKHOFF (2001). Dieser Wert wurde für weitere Berechnungen verwendet.
- ^c Für den getesteten Staub liegt kein Messwert oder mehr als eine Information vor. Aufgrund des Datenumfeldes wurde der mit ^c gekennzeichnete Wert als dem korrekten Wert nächstliegend angenommen und weiteren Berechnungen zugrunde gelegt. Im Falle des Kaolin wird der Wert von zirka 2 µm gestützt durch Daten von K. Rödelsperger (persönliche Mitteilungen, 2005, 2006).
- ^d Herstellung hochdispenser Oxide wie Aluminiumoxid C und TiO₂ P 25 durch Hochtemperaturhydrolyse der entsprechenden Chloride (Verfahren 1941 von Degussa entwickelt: AEROSIL[®]-Verfahren). Obwohl Aluminiumoxid C in einer Knallgasflamme entsteht, ist es kristallographisch ausschließlich der δ-Gruppe zuzuordnen. Die Primärteilchen zeigen unter dem Elektronenmikroskop kubische Formen mit abgerundeten Ecken. Sie besitzen ähnlich wie AEROSIL[®] keine innere Oberfläche. Diese Tatsache lässt sich aus der Übereinstimmung der nach der BET-Methode und der durch Auswertung von EM-Aufnahmen ermittelten spezifischen Oberflächen ableiten. Agglomerate, die reproduzierbar gemessen werden können und in DIN 53206 definiert sind, treten bei den pyrogenen Oxiden nicht auf. Die tatsächlich vorliegenden Agglomeratgrößen hängen von der „Vorgeschichte“ und den Verarbeitungsbedingungen ab. (Weitere Charakterisierungen in DEGUSSA, 1989.)
- ^e Bestimmt mit Luftvergleichspyknometer.
- ^f Größe der Primärteilchen bei Silikaten wegen starker Verwachsungen nicht genau bestimmbar.
- ^g Für den elementaren Rußkern in Analogie zum technischen Ruß 1,85 g/mL angenommen (s. oben, Degussa). Entsprechend UBA (1999) wurde davon ausgegangen, dass 50 % der Masse des nativen Dieselrußes von LKW Stoffen zuzurechnen sind, die sich in der Lunge leicht lösen (s. Text). Infolgedessen reduzieren sich z. B. 5 mg Diesel-Gesamtpartikelmasse in der Lunge auf 2,5 mg (= elementarer Rußkern); sie ergeben bei einer Dichte von 1,85 g/mL ein Volumen von 1,35 µL.
- ^h Der Wert von 12,9 m²/g betrifft die Gesamtpartikelmasse, der Wert von 34,5 m²/g betrifft extrahierten Ruß. Beide Werte wurden von EICKHOFF (2001) ermittelt, für die weiteren Berechnungen wurde der Wert des extrahierten Rußes verwendet, da dies eher der in vivo-Situation entsprechen dürfte.
- ⁱ Substanz nicht im Sigma-Aldrich-Katalog verzeichnet, daher Anfrage von uns bei Sigma-Aldrich, ob TiO₂ T 805 von Degussa in kleiner Menge lieferbar sei. Die angefragte Position wurde angeboten, jedoch nur in einer Menge von 40 kg. Lieferung in 2 Behältern mit der Bezeichnung P 805. Der nachdrücklichen Bitte um Klärung kamen weder Sigma-Aldrich noch Degussa nach; daher ist es nicht beweisbar, dass unser P 805 mit T 805 identisch ist.
- ^j Hydrophobierung von P 25 im Falle von T 805 mit Trimethoxyoctyl-Silan (DEGUSSA, 1996).
- ^k Die Partikelgröße wurde von der Lieferfirma mit < 5 µm angegeben. Rödelsperger (persönliche Mitteilung, 2005) fand ein heterogenes Material sowohl mit ultrafeinen Partikeln als auch mit viel größeren Partikeln bis zu 10 µm gemäß Rasterelektronenmikroskopie. Aus der relativ geringen spezifischen Oberfläche (4,4 m²/g) ist aber zu schließen, dass der Staub angemessen der Gruppe der groß-feinen GBS zuzuordnen ist.
- ^m Nach WEAST et al. (1989).
- ⁿ Der Hersteller der Probe ist nicht angegeben, möglicherweise handelt es sich um AEROSIL[®]. In der Tabelle ist die Dichte von AEROSIL[®] genannt (DEGUSSA, 1984); die von Sigma-Aldrich angegebene spezifische Oberfläche von *Silica fumed* ist mit derjenigen von AEROSIL[®] 200 identisch. Die mittlere Primärpartikelgröße von AEROSIL[®] 200 wird mit 0,012 µm angegeben, Teilchenoberfläche glatt und porenfrei.

spezifischen Oberfläche, woraus sich bereits unterschiedliche chemische Zusammensetzungen ergaben. Ein wesentliches Kriterium waren darüber hinaus die Daten über die Kanzerogenität aus früheren Untersuchungen, insbesondere, um die kanzerogene Potenz dieser Stäube im niedrigeren Dosisbereich zu prüfen. Eine Gruppierung der 19 Stäube in drei Größenklassen und Anhaltspunkte für eine grobe Abschätzung der Partikelzahlen pro mg Staub im Zusammenhang mit den übrigen physikalischen Daten gibt Tab. 2.3.

Während für die Bergbaustäube einige Messdaten erhoben wurden und über die für den Handel hergestellten Stäube meist Daten über physikalische und chemische Eigenschaften veröffentlicht wurden, bedarf es über die Gewinnung des Dieselrußes und des Lungenstaubs eines Bergmanns einer genaueren Beschreibung, um die Grundlage für die in Tab. 2.1 angegebenen Schätzergebnisse von Dichte und mittlerer Korngröße zu erläutern. Der Dieselruß ist bereits in einem früheren Kanzerogenitätsversuch verwendet worden und ließ im Vergleich mit einem *lege artis* gesammelten Dieselruß der Firma Daimler-Benz keinen Wirkungsunterschied erkennen (POTT et al., 1994a,b). Er wurde 1986 folgendermaßen gesammelt: Dr. Tomingas (Medizinisches Institut für Umwelthygiene, Düsseldorf) ließ den Ruß durch einen Mittelsmann auf einem LKW-Standplatz mit einem Pinsel von der Wandung der LKW-Auspuffrohre ablösen und in eine Weithalsflasche überführen. Nach diesen Daten aus Veröffentlichungen in den Jahren 1994 - 98 (referiert in UBA, 1999) lässt sich der unlösliche elementare Rußkern auf 60 % der ursprünglichen Gesamtpartikelmasse schätzen. Da die Fahrzeuge, aus denen der in unserem Experiment geprüfte Ruß gewonnen wurde, älter waren, ist eine schlechtere Verbrennung und infolgedessen ein höherer Anteil angelagerter organischer Stoffe zu vermuten. Infolgedessen haben wir für die Berechnung der instillierten Gesamtpartikelmasse als Maß für die Dosis vorausgesetzt, dass 50 % der Gesamtpartikelmasse des instillierten Dieselrußes biobeständig sind und praktisch ganz dem elementaren Rußkern zuzuordnen sind, sodass im Vergleich mit anderen GBS nach einer gewissen Zeit nur mit der Hälfte der sonst in der Lunge retinierten Dosis gerechnet werden kann. Dementsprechend wurde auch für die spezifische Oberfläche der von EICKHOFF (2001) für eine mit Petrolether extrahierte Rußprobe von 34,5 m²/g ermittelte Wert - und nicht der Wert von 12,9 m²/g des nativen Rußes - für die Dosis-Wirkungsanalysen verwendet.

Auch die Korngrößenverteilung des verwendeten Dieselrußes wurde aus dem Datenumfeld erschlossen. KLINGENBERG et al. (1991) beschreiben die *Primärpartikelgröße* von 0,01 - 0,05 µm. Daraus bilden sich Agglomerate und Aggregate. Das Maximum der Partikelgrößenverteilung eines verdünnten Pkw-Dieselabgases lag bei 0,1 µm, der Masseanteil < 0,1 µm ist dementsprechend klein. Bei LKW-Motoren ist das Maximum der Durchmesser leicht nach oben verschoben und wird in UBA (1999) mit ca. 0,2 µm angegeben. Damit ist für den von uns geprüften Dieselruß eine Größe der Partikeln anzunehmen, deren Anzahl und erst recht deren Masse weitgehend oberhalb des Bereichs um 0,1 µm liegt, der als *Feinstaub* definiert ist, zumal da es sich um Ruß handelt, der aus Auspuffrohren gewonnen wurde. Die Zuordnung auch anderer Dieselruße zum Feinstaub ist dann eindeutig, wenn die Grenze zwischen *ultrafein* und *fein* bei 0,05 µm gelegt wird (OBERDÖRSTER et al., 1998). Die emittierten Primärteilchen agglomerieren ohnehin kurz nach der Emission zu größeren Durchmessern oder kettenförmig (CHENG et al., 1984; HEINRICH et

Tab. 2.3 Stäube und einige physikalische Daten aus Tab. 2.1 und 2.2. - Links: Daten von fünf Idealstäuben (einheitliche Partikelgröße, kugelförmig, glatt, Dichte 1 g/mL) mit Teilchendurchmessern absteigend von 2 bis 0,02 μm und den daraus berechneten Partikelzahlen pro mg und spezifischen Partikeloberflächen. - Rechts: Die untersuchten 19 Stäube

„Ideale“ Stäube ^a			Die 19 untersuchten Stäube ^b					
Part.- durch- mess. [μm]	Spezif. Partikel- zahl [$10^9/\text{mg}$]	Spezif. Ober- fläche [m^2/g]	Staub	Spezif. Part.- zahl [$10^9/\text{mg}$]	Mittl. Durch- messer [μm]	Spezif. Oberfl. (BET) [m^2/g]	Dichte [g/mL]	Spez. Vol. [$\mu\text{L}/\text{mg}$]
<i>„Große“ Feinstäube (GF)</i>								
2	0,24	3,0	Magerkohle	0,27	4,0	4,1	1,4	0,71
			Toner		3,5	3,6	1,2	0,83
			Fettkohle	0,54	3,4	6,4	1,8	0,56
			Gasflammkohle	1,5	2,4	10,9	2,2	0,45
			Gestein	1,2	2,3	17,6	2,4	0,42
			ZrO ₂		2,0	4,4	5,85	0,17
			Kaolin		2,0	19	2,5	0,40
			Untere Fettkohle	1,7	1,8	9,9	1,4	0,71
1	1,9	6,0	Quarz	3,6	1,1	8,8	2,6	0,38
<i>„Kleine“ Feinstäube (KF)</i>								
0,2	240	30	TiO ₂		0,2	10	3,9	0,26
			Lungenstaub		0,2	12	2,0	0,50
			Dieseleruß, Lkw		0,2	13	1,85	0,54
0,1	1.900	60	Flammruß 101		0,095	18	1,85	0,54
<i>Ultrafeine Stäube (UF, „Nanopartikeln“)</i>								
0,02	240.000	300	TiO ₂ hydrophil		0,025	52	3,8	0,26
			TiO ₂ hydrophob		0,02	33	3,8	0,26
			Aluminiumsilikat		0,015	63	2,1	0,48
			Furnaceruß Pr. 90		0,014	337	1,85	0,54
			Amorphes SiO ₂		0,014	210	2,2	0,45
			Al ₂ O ₃		0,013	124	2,9	0,34

Fußnoten siehe nächste Seite

Fußnoten zu Tab. 2.3

- ^a Für einen *Idealstaub*, der aus Kugeln mit glatter Oberfläche und gleicher Größe mit der Dichte 1 g/mL besteht, kann das Verhältnis zwischen Durchmesser, spezifischer Oberfläche und Anzahl der Kugeln *pro Masseneinheit* folgendermaßen allgemein beschrieben werden: Wenn der Durchmesser um den Faktor 2 kleiner wird, steigt die Oberfläche mit dem Faktor 2 an und die Anzahl steigt mit dem Faktor $2^3 = 8$.
- ^b Die Anordnung der Stäube abfallend nach ihrem mittleren Durchmesser ist in einigen Fällen möglicherweise nicht korrekt, weil die Bestimmungsmethoden unterschiedlich waren und ein Streubereich der Werte besteht. Zum Beispiel wurden für TiO₂ UF vom Hersteller mittlere Durchmesser von 0,021 und 0,03 µm veröffentlicht und daher von uns ein Wert von 0,025 eingesetzt. Da die Korngrößenverteilungen nicht bekannt sind, sich aber von Fall zu Fall sehr unterschiedlich auf die mit der BET-Methode bestimmten Oberfläche des Gesamtstaubs auswirken können, lassen sich die Ursachen von primär nicht plausiblen Ergebnissen schwer interpretieren. Die gleiche Oberfläche von Kohlengrubenstaub mit geringem Kohleanteil (= Gesteinsstaub) und Kaolin einerseits und Flammruß mit einem mehr als 20-mal kleineren mittleren Durchmesser andererseits lässt sich nur mit einer sehr erklüfteten Oberfläche der größeren Stäube erklären. Flammruß sollte folgerichtig unterhalb des angegebenen mittleren Durchmessers nur ein schmales Korngrößenspektrum aufweisen, oberhalb muss das Spektrum breiter sein; nur so lässt sich erklären, dass die BET-Oberfläche nur ein Drittel des Idealstaubes mit 0,1 µm einheitlichem Kugel-Durchmesser beträgt. Das Gleiche trifft für alle ultrafeinen Stäube zu, die eine erheblich kleinere BET-Oberfläche aufweisen als ein Idealstaub im Bereich der mittleren Durchmesser der realen Stäube. Die relativ geringe Oberfläche des TiO₂ UF im Vergleich zum Ruß UF wird zum Teil durch die hohe Dichte verursacht, zum Teil durch die glatte Oberfläche.

al., 1995). Nach rasterelektronenmikroskopischen Untersuchungen haben die emittierten Teilchen im wesentlichen Kugelgestalt und neigen wenig zur Agglomeration in Ketten (UBA, 1999).

Rödelsperger (schriftl. Mitteilung vom 15.03.2002) extrahierte einen Massenanteil von 6,5 % aus 1,22 g Dieselruß nach einer Standzeit von 3 Tagen bei der ersten und jeweils ca. 6 h bei der zweiten und dritten Behandlung in je ca. 10 mL Toluol, wobei die Suspension bei der dritten Behandlung für 5 Minuten auf 80 °C erhitzt wurde. Ein wesentlich höherer löslicher Anteil erscheint jedoch nach GRIMMER (1979) durch 3 x 3-stündiges Kochen in Toluol oder Xylol bei 140 °C möglich. GRIMMER (1979) weist darauf hin, dass Rußemissionen aus Ottomotoren oder Ölheizungen ohne Schwierigkeiten mit den üblichen Lösungsmitteln wie Aceton, Dimethylformamid etc. erschöpfend extrahierbar sind, während z. B. Ruß, der aus einem mit Voll-Last gefahrenen Dieselmotor emittiert wird, sich mit den genannten Lösungsmitteln überhaupt nicht eluieren lässt. Die Adsorptionsgleichgewichte hängen stark von der Molekülgröße ab, so wird z. B. Fluoranthen zu erheblich höheren Anteilen bereits bei der ersten Xylolextraktion abgelöst als Coronen. Die Wiederauffindungsrate eines zugegebenen inneren Standards (Benzo[b]chrysen) wird nach Extraktion mit Dimethylformamid + Wasser + Phenol (18 + 2 + 1) für 1 Stunde bei 100 °C mit 2 % angegeben. Nach dreistündigem Kochen mit Xylol bei 140 °C lag sie bei 11,2 %, nach der zweiten Extraktion in der gleichen Weise bei 12,3 %, nach der dritten Extraktion bei 10,8 %. Daraus kann geschlossen werden, dass der organische Anteil des im Tierexperiment verabreichten Dieselrußes wahrscheinlich deutlich höher ist als die bisher gemessenen Werte ausweisen und dem zunächst aufgrund von Literaturdaten geschätzten Anteil von 50 % nahe kommt.

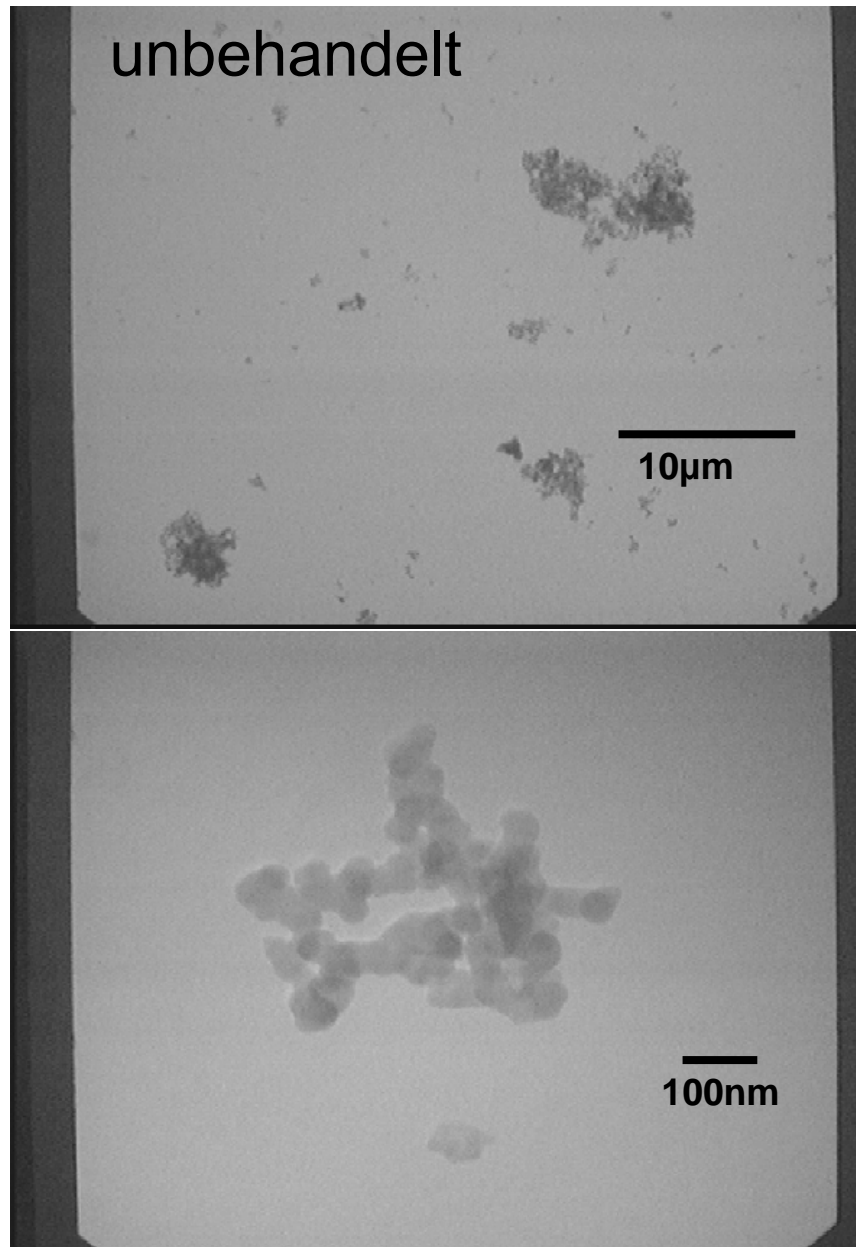


Abb. 2.1a TEM-Aufnahmen bei 2 000-facher (oben) und 80 000-facher Vergrößerung (unten) des Dieselrußes. Extraktion und Aufnahmen: K. Rödelsperger

Elektronenmikroskopisch (TEM) fand Rödelsperger bei 2 000-facher und 80 000-facher Vergrößerung keinen Unterschied zwischen unserem nativen Dieselruß und unserer von ihm extrahierten Probe (Abb. 2.1a, b). Das Material bestand in beiden Fällen ganz überwiegend aus größeren Aggregaten oder davon nicht unterscheidbaren Agglomeraten mit Abmessungen im Mikrometerbereich, die sich überwiegend aus Primärteilchen mit einem Durchmesser $< 0,1 \mu\text{m}$ zusammensetzten.

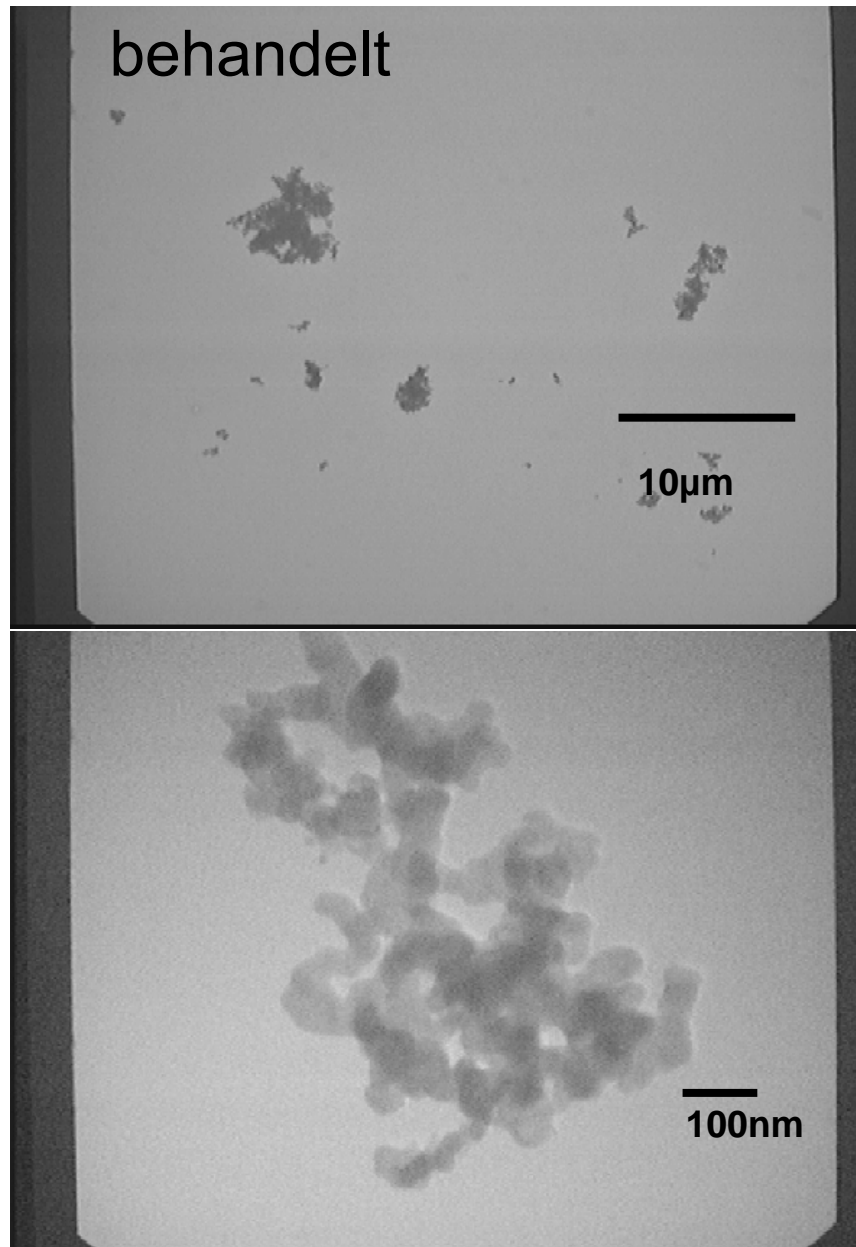


Abb. 2.1b TEM-Aufnahmen bei 2 000-facher (oben) und 80 000-facher Vergrößerung (unten) des extrahierten Dieselrußes. Extraktion und Aufnahmen: K. Rödelsperger

Der verwendete Lungenstaub eines Bergmanns ist zwar in seiner Qualität eher den Bergbaustäuben zuzurechnen, wurde aber innerhalb der Gruppe der Nicht-Bergbaustäube geprüft, weil er nicht zu dem Drittmittelprojekt gehört, das für die Untersuchung der Bergbaustäube durch die Deutsche Montan-Gesellschaft für Forschung und Technologie mbH, Essen, gefördert wurde, die Drittmittel des Ministeriums für Wirtschaft und Mittelstand, Technologie und Verkehr des Landes NRW verwaltete. Der Staub stammt aus der Staubsammlung von Dr. Brockhaus, die bei dessen Eintritt in den Ruhestand an uns übergeben wurde. Die Lungen waren aus dem Institut

für Pathologie der Ruhr-Universität Bochum von Prof. Könn an Dr. Brockhaus gesandt und dort in Ameisensäure aufgelöst worden (BROCKHAUS, 1969), um den anorganischen Staub für weitere Untersuchungen zu gewinnen. Nach den Unterlagen stammt der von uns geprüfte Staub von einem 70-jährigen Bergmann mit einer schweren Silikose, und zwar aus einem Lungenabschnitt, der mit dem Silikosegrad III diagnostiziert worden war (Nr. 336/1). Wir haben die Dichte des Staubes auf 2,0 g/mL geschätzt und diesen Wert für die Berechnung der verabreichten und retinierten Staubvolumina verwendet. Die Korngrößenverteilung wurde nicht gemessen, sie kann allerdings aufgrund der Teilchenmessungen von Stäuben aus den Lungen verstorbener Bergleute geschätzt werden. Die von EINBRODT et al. (1965) angegebenen Korngrößenverteilungen wurden an Lungenstäuben von 6 verstorbenen Bergleuten bestimmt. Es handelte sich um Lungen ohne „nennenswerte“ Silikose; die Bergleute hatten wenigstens 15 Jahre in Zechen des Ruhrgebiets gearbeitet und waren zum Todeszeitpunkt bereits 5 - 10 Jahre nicht mehr gegenüber Staub exponiert. Die Lungenstäube enthielten zwischen 10 und 18 Gew.-% Quarz. Etwa 50 % der Korngrößen lagen nach lichtmikroskopischen Messungen unter 1 µm, elektronenmikroskopisch waren etwa 50 % kleiner als 0,05 µm. Dieser Unterschied war bei drei Grubenpferden nach 8 bis 10 Jahren Einsatz unter Tage deutlich kleiner (~ 50 % < 1,5 µm lichtmikroskopisch; < 0,2 µm elektronenmikroskopisch). NAGELSCHMIDT (1960) berichtet über ähnliche lichtmikroskopisch ermittelte Korngrößenverteilungen und zeigt eine elektronenmikroskopische Aufnahme mit unterschiedlich großen Ansammlungen von etwa 0,1 µm großen Partikeln aus dem Lungenstaub eines Kohlenhauers, der über 50 Jahre unter Tage gearbeitet hatte. Als Ursache vermutet Nagelschmidt den Ruß der Kerzenbeleuchtung aus der langen Tätigkeit. Demzufolge könnte auch der große Unterschied zwischen licht- und elektronenmikroskopischen Medianwerten der Korngrößenverteilung in den Untersuchungen von EINBRODT et al. (1965) auf Rußpartikeln zurückzuführen sein, da der submikroskopische Anteil der Grubenstäube relativ klein ist. Für den von uns untersuchten Lungenstaub haben wir den Medianwert für die Partikelgrößen auf 0,2 µm geschätzt, weil die BET-Oberfläche mit 12 m²/g im Bereich des feinen TiO₂ und des nicht extrahierten Dieselrußes liegt. Infolgedessen ist auch der Lungenstaub in seinem weitaus überwiegenden Massenanteil dem Feinstaub und nicht dem Ultrafeinstaub zuzurechnen.

Da die Namen der Stäube häufig in Tabellen und im Text vorkommen, war es sinnvoll, Kurzbezeichnungen zu verwenden, denen im Hinblick auf die zunächst erwartete Wirkungsrelevanz in der Regel ein Merkmal zugefügt ist, um dem Leser die Orientierung zu erleichtern und das Zurückblättern zu den Tabellen 2.1 und 2.2 weitgehend zu ersparen. Dieses Merkmal betrifft bei den durchweg relativ großkörnigen fünf Bergbaustäuben (mittlerer Durchmesser > 1,5 µm) den Quarzgehalt, bei den Nichtbergbaustäuben meist die Unterscheidung zwischen Größenklassen gemäß den mittleren Korngrößen. Ursprünglich war diesbezüglich eine Unterteilung in die Klassen *fein* (F, größer 0,09 µm) und *ultrafein* (UF, kleiner gleich 0,03 µm) vorgesehen. Verschiedene Überlegungen und statistische Auswertungen haben dazu geführt, dass wir im Hinblick auf die Wirkungsstärke eine Unterscheidung nach drei Partikelgrößenklassen bevorzugen. Dies ist zwar zum Teil erst ein Ergebnis der Auswertung der Daten, um aber nicht durch unterschiedliche Bezeichnungen an verschiedenen Stellen dieses Berichts zu verwirren, wird auf diese drei Größenklassen und auf die Abkürzungen für die Bezeichnungen auch bereits hier hingewiesen: ultrafeine GBS = GBS-UF (mittlerer Durchmesser 0,01 - 0,03 µm); klein-feine GBS = GBS-KF (mittlerer Durchmesser 0,09 - 0,2 µm); groß-feine GBS = GBS-GF (mittlerer

Durchmesser 1,8 - 4 µm). Bei den beiden ultrafeinen Titandioxidproben P 25 und P 805 ist die Hydrophobierung (s. Tab. 2.2) und damit die Benetzbarkeit mit Wasser (hydrophil - hydrophob) das einzige Unterscheidungskriterium.

Eine Bemerkung erscheint auch zu dem Begriff der *Nanopartikeln* angebracht. Zurzeit als die Studie geplant wurde, war der Begriff „Nanopartikeln“ ungebräuchlich. Seit dem Jahr 2000 wird aber das Thema „Nanotechnologie“ verstärkt diskutiert und in diesem Zusammenhang häufig der Begriff Nanopartikeln verwendet. Im Entwurf „Nanotechnologie: Gesundheits- und Umweltrisiken von Nanopartikeln“ zu einer Forschungsstrategie der Bundesoberbehörden BAuA, BfR und UBA findet sich folgende Definition von „Nanopartikel“ (im Jahr 2006 verfügbar auf der Website www.baua.de): *„Unter Nanopartikel werden hier beabsichtigt hergestellte granuläre Partikel, Röhren und Fasern mit einem Durchmesser < 100 nm (inklusive deren Agglomerate und Aggregate) mindestens in einer Dimension verstanden, die in biologischen Systemen eine geringe Löslichkeit zeigen.“* In diesem Sinne sind die in der 19-Stäube-Studie als „ultrafein“ bezeichneten GBS „Nanopartikeln“ (nach dieser Definition kann auch der Flammruß 101, den wir als „klein-fein“ eingeordnet haben, mit seinem nominellen mittleren Durchmesser von 95 nm den Nanopartikeln zugerechnet werden, obwohl die Partikelmasse größtenteils durch die größeren Partikel bestimmt wird). Die entsprechenden GBS aus Ruß, Titandioxid, Aluminiumoxid und Aluminiumsilikat wurden beabsichtigt hergestellt und vom Produzenten werden Durchmesserwerte < 100 nm genannt. Dies sind **Nanopartikeln**. Auch der hydrophobe Titandioxidstaub, den wir wegen seiner Toxizität nicht zu den GBS zählen, entspricht der genannten Definition der Nanopartikeln (beabsichtigt hergestellt, Durchmesser < 100 nm, geringe Löslichkeit). Ob auch das von uns geprüfte amorphe Siliziumdioxid den Nanopartikeln zugerechnet wird, hängt davon ab, welche Bedingungen man an die Biolöslichkeit knüpft, um den Begriff „Nanopartikeln“ im Sinne der o.g. Definition anzuwenden; in Bezug auf die Partikelgröße ist es jedenfalls „Nano“. Die Bedingungen „beabsichtigt hergestellt“ und „geringe Löslichkeit in biologischen Systemen“ werden im Übrigen - bezogen auf die Fachliteratur weltweit - nicht in allen Verwendungen des Begriffs „Nanopartikel“ zugrunde gelegt. Geht man nur von der Größe der Primärpartikel aus, dann enthält selbstverständlich auch Dieselruß Nanopartikeln.

Der Begriff der Nanopartikeln ist zwar relativ neu - die Diskussion erlebte in den Jahren 2005 und 2006 einen vorläufigen Höhepunkt -, Stäube mit mittlerem Durchmesser von deutlich weniger als 50 Nanometern (nm) sind aber bereits seit Jahrzehnten auf dem Markt. Titandioxid P 25 ist auf den Websites des Herstellers im Jahr 2007 dem Geschäftsbereich „Aerosil & Silanes“ zugeordnet, dabei wird von hydrophilen pyrogenen Metalloxiden gesprochen, es heißt z. B.: *„Die Anwendung des AEROSIL®-Verfahrens auf weitere Rohstoffe führt zu pyrogenen Aluminium- und Titanoxiden“* (<http://www.aerosil.com/aerosil/de/solutions/productgroups/fumedmetaloxides>). Für die Herstellung pyrogener Titanoxide wird in der ebenfalls über die Website www.aerosil.com zu beziehenden gedruckten Broschüre „AEROSIL® invented to improve“ das Jahr 1954 angegeben. Der Handelsname AEROSIL® wird auf das Jahr 1942 datiert: *„Im Jahre 1942 wurde eine Idee Realität. Degussa entwickelte die pyrogenen Kieselsäuren als Ersatz für Industrieruße, welche aus Öl gewonnen wurden, um der Verknappung von Ressourcen entgegenzuwirken. Zu dieser Zeit wurde der Handelsname AEROSIL® angemeldet.“* (<http://www.aerosil.com/aerosil/de/about/default>).

Der Ruß Printex 90 - ebenfalls Nanopartikeln im Sinne der o.g. Definition - ist gemäß

Internetangaben dem Geschäftsbereich „Advanced Fillers & Pigments“ zugeordnet (http://www.degussa.de/degussa/de/unternehmen/unternehmensstruktur/technology_specialties/advanced_fillers_pigments).

Als Abschluss des Abschnitts „Stäube“ sei nochmals eine kurze Übersicht über die im weiteren Text benutzten Staubnamen aus Teil 2 (Nicht-Bergbaustäube) gegeben. Es werden in der vorliegenden Schrift geringfügig voneinander abweichende synonyme Bezeichnungen verwendet; dazu einige Beispiele, aufgeteilt in Feinstäube (groß-fein = GF, klein-fein = KF) und Ultrafeinstäube (UF), zugleich Charakterisierung als GBS sowie als „Nanopartikeln“:

• Test Toner	Toner GF	GBS	
• Zirkondioxid	ZrO ₂ GF	GBS	
• Aluminiumsilikat Kaolin	Kaolin GF	GBS	
• Titandioxid Anatas	TiO ₂ KF	GBS	
• Lungenstaub, Bergmann	Lungenstaub KF	GBS	
• Dieselruß	Dieselruß KF	GBS	ganz überwiegend Aggregate v. Nano- partikeln
• Flammruß 101	Ruß KF	GBS	Nanopartikeln
• Furnaceruß Printex 90	Ruß UF	GBS	Nanopartikeln
• Aluminiumoxid C	Al ₂ O ₃ UF	GBS	Nanopartikeln
• Aluminiumsilikat P 820	Al-silikat UF	GBS	Nanopartikeln
• Titandioxid P 25	TiO ₂ hydrophil UF	GBS	Nanopartikeln
• Titandioxid P 805	TiO ₂ hydrophob UF	spezif. tox.	Nanopartikeln
• Amorphes SiO ₂	Siliziumdioxid UF	spezif. tox.	Nanopartikeln

2.2 Versuchstiere und Tierhaltung

Weibliche spezifiziert pathogenfreie (SPF) Wistar-Ratten (HsdCpb:WU) wurden von der Fa. Harlan Winkelmann, 33176 Borcheln, im zertifizierten Alter von 7 Wochen bezogen und durch Zufallsauswahl auf Makrolonkäfige Typ IV verteilt, maximaler Besatz 8 Ratten pro Käfig. Nach Akklimatisierung und Wägung wurden einzelne Tiere zwischen den Käfigen ausgetauscht, um den Versuch mit einer ähnlichen Körpergewichtsverteilung in den verschiedenen Gruppen zu beginnen.

Die Tierhaltung erfolgte in einem abgetrennten Gebäudeteil des Tierhauses, der als SPF-Bereich erbaut und in unserem Versuch zwar mit Barriere und vielen Schutzmaßnahmen zur Vermeidung von Infektionen versehen war, aber im Prinzip doch konventionell betrieben wurde, da kein Duschzwang bestand und nicht alle eingeschleusten Teile autoklaviert werden konnten. Um eventuelle Verwechslungen der Ratten während der langen Versuchszeit kontrollieren und in einem solchen Falle eine korrekte Zuordnung durchführen zu können, wurden die Tiere durch Ohrtätowierungen individuell markiert. Weitere Haltungsbedingungen: Raumtemperatur 23 ± 2 °C, Lichtzyklus 12 h hell/12 h dunkel, Fütterung mit ssniff® R/M-H extrudiert (Alleindiät für Ratten und Mäuse – Haltung) der Fa. ssniff Spezialdiäten GmbH, 59494 Soest, als Einstreu Weichholzgranulat Lignocel® 3-4, Hersteller Rettenmaier & Söhne, 73494 Ellwangen-Holzmühle, Wechsel von Einstreu und Wasser zweimal pro Woche, In-

spektion montags bis freitags zweimal, an den Wochenenden und Feiertagen einmal täglich. Die Ratten des ersten Teils der Studie (Kohlenstaubversuch) wurden in der 92. Versuchswoche in ein anderes Tierhaus mit ähnlichen Haltungsbedingungen überführt, um die Tiere zur Vermeidung von Kannibalismus für den Rest der Versuchszeit auseinandersetzen und einzeln halten zu können.

2.3 Versuchsplan, Durchführung, Verlauf

Das Experiment wurde auf drei Versuchsstaffeln aufgeteilt. Die internen Kurzbezeichnungen lauteten 95/1 (Versuchsbeginn 04.07.1995), 95/5 (Versuchsbeginn 13.09.1995) und 95/6 (Versuchsbeginn 21.11.1995). In der Versuchsstaffel 95/1 wurden die fünf kohlehaltigen Stäube und Quarzstaub geprüft (*Versuchsteil 1* mit Bergbaustäuben, „Kohlenstaubversuch“). Die anderen 13 Stäube wurden auf die Versuchsstaffeln 95/5 und 95/6 aufgeteilt, um die hohe Zahl der Instillationen durchführen zu können. In der Beschreibung sind diese beiden Staffeln daher als *Versuchsteil 2* zusammengefasst (*Nicht-Bergbaustäube*). In beiden Staffeln wurde eine nicht behandelte Kontrollgruppe mitgeführt. Die Tiergruppen des ersten Versuchsteils (= 1. Staffel) und der ersten Hälfte des zweiten Versuchsteils (= 2. Staffel) wurden (außer den drei Quarzgruppen) mit 48 Ratten besetzt; in der zweiten Hälfte des zweiten Versuchsteils (= 3. Staffel) erforderten die durch die behördliche Genehmigung begrenzte Gesamtzahl der Tiere, die Verluste durch die unerwartete Toxizität des hydrophoben TiO₂ und zusätzlich einbezogene Stäube in einigen Gruppen eine Reduzierung der ursprünglich vorgesehenen Gruppengröße von 48 Ratten.

Die Einteilung der Versuchsgruppen mit Tierzahlen, Stäuben, Dosierungen und Anzahl der Instillationen ist aus der Übersichtstabelle 3.1 zu Beginn des Ergebnisteils sowie den nachfolgenden Tabellen ersichtlich. Die dort angegebenen Einzeldosen wurden in jeweils 0,4 mL 0,9%iger mit Phosphat gepufferter Kochsalzlösung unter CO₂-Narkose verabreicht. Die Einwaage der Staubmengen pro Gruppe erfolgte 1 bis 3 Tage vor der intratrachealen Instillation, die Zugabe der Trägerflüssigkeit und Suspendierung mit Ultraschall unmittelbar vor der Instillation. (Die Protokollierung und Ausdrücke der Einwägungen wurden archiviert.) Während des Ablaufs der intratrachealen Verabreichungen an eine Tiergruppe wurden die Stäube in der Trägerflüssigkeit durch einen Magnetrührer so gut wie möglich in einer gleichmäßigen Suspension gehalten. Die hydrophoben Stäube erforderten zur Suspendierung die Zugabe eines Netzmittels zur gepufferten NaCl-Lösung. Wir verwendeten Tween 80[®] (Polyoxyethylen(20)-sorbitanmonooleat; Sigma-Aldrich 27,436-4) für folgende Gruppen: 0,5 % bei der Kontrollgruppe des Kohlenstaubversuchs, bei den vier Kohlenstäuben, beim Dieselruß und den beiden kommerziellen Rußen; Zusatz von 1 % beim hydrophoben Titandioxid P 805 und Toner.

Die angewandte Methode der intratrachealen Instillation ist im Anhang detailliert beschrieben. In der 19-Stäube-Studie wurden alle nahezu 22 000 Instillationen von drei Personen durchgeführt; der Wechsel untereinander war unsystematisch.

Der ursprüngliche Versuchsplan musste für das hydrophobe Titandioxid P 805 geändert und die Einzeldosen auf 0,5 mg reduziert werden, weil die ersten behandelten Ratten nach Instillation der geplanten Einzeldosis von 6 mg innerhalb einer halben Stunde starben (siehe Abschnitte 3.2 und 5.6.3).

Bei den intratrachealen Verabreichungen ereigneten sich folgende Fehler, die in mehreren Tabellen und, wo relevant, auch im Text mit Angaben der Dosen vermerkt sind: Die erste Kohlenstaubgruppe erhielt irrtümlich 11 anstatt 10 intratracheale Instillationen mit je 6 mg gemahlener Magerkohle. Im 2. Versuchsteil geschah am ersten Tag der Instillationsserie der 3. Staffel (28.11.95) folgender Fehler, der am besten bei Betrachtung von Tab. 3.1 mit den Dosisangaben nachvollzogen werden kann: Die Suspensionen, die für die ersten 5 Gruppen der 3. Staffel vorgesehen waren, wurden in der 11. Woche irrtümlich an die ersten 5 Gruppen der 2. Staffel verabreicht. Im Detail: die drei Ruß-Gruppen (fein) erhielten zusätzlich die Suspensionen der drei Dieselrußgruppen, die beiden Ruß-Gruppen (ultrafein) mit der niedrigsten und mittleren Dosis erhielten zusätzlich eine Instillation mit der niedrigsten und mittleren TiO₂-ultrafein-Dosis. Als das Versehen nach Instillation des 21. Tieres der mittleren Dosisgruppe des Furnace-Ruß auffiel, wurde abgebrochen, sodass die noch nicht fehl-instillierten Ratten nur die geplante Dosis erhielten (5 x 3 mg ultrafeiner Ruß). Die mit 95/5 B II bezeichnete Versuchsgruppe (Gruppen-Nummern in Tab. 3.2 und im Anhang) wurde in zwei Untergruppen unterteilt (II a und II b); beide Untergruppen wurden getrennt geführt; wegen der kleinen Tierzahlen in den Untergruppen bei der Auswertung wieder vereint. Die Suspensionen für die planmäßigen Instillationen von Dieselruß und Titandioxid wurden neu angesetzt und gemäß Versuchsplan verabreicht.

Während der Instillationsperiode wurden die Ratten wöchentlich gewogen, anschließend bis zur 39. Woche monatlich, später vierteljährlich. Anhand der Ohrtätowierungen konnten die Gewichte individuell erfasst werden. Die Ratten des ersten Teils der Studie (Kohlenstaubversuch) wurden in der 92. Versuchswoche in ein anderes Tierhaus mit ähnlichen Haltungsbedingungen überführt, um die Tiere zur Vermeidung von Kannibalismus für den Rest der Versuchszeit auseinandersetzen und einzeln halten zu können. Die letzten überlebenden Tiere wurden wegen Personalmangels zum Teil bereits nach 126 Versuchswochen getötet, daher liegen Versuchszeiten von 80 und 100 % der Versuchsgruppen zum Teil nahe beieinander. Die Versuchszeiten der Gruppen sind im Anhang angegeben (Table 8.2), die Lebenszeit jedes einzelnen Tieres nach der ersten Instillation ist in den *Basic data sheets* enthalten (Abschnitt 2.4.5, Beispiele im Anhang 8.3).

Die Tiere starben entweder spontan oder wurden wegen eines auffälligen schweren Gesundheitsschadens mit CO₂ eingeschläfert. Nach dem Tode wurde zunächst eine Kanüle in die Trachea eingeführt, das Tier in eine senkrechte Position gebracht und eine 4 %ige Formaldehyd-Lösung zur Fixierung der Lungen in einer Spritze ohne Kolben auf die Kanüle gesetzt, sodass die Fixierungsflüssigkeit allmählich über die Luftwege in die Lunge eindringen und gegen Luft ausgetauscht werden konnte. Auf diese Weise werden Lungen in ihrem entfalteten Zustand so fixiert, wie sie im Thorax liegen. Vor der Sektion wurde die Identität jedes einzelnen Tieres anhand der Ohrtätowierungen überprüft und die tätowierten Ziffern wurden im Protokoll vermerkt. Bei der Sektion wurden zunächst äußere Auffälligkeiten des Tieres, z. B. subkutane Tumoren protokolliert. Nach Öffnung des Bauch- und Brustraums wurden Veränderungen der Organe beschrieben, Tumoren und tumorverdächtiges Gewebe gesucht und gegebenenfalls für die histopathologische Untersuchung entnommen. Daran schloss sich die Präparation der bereits anfixierten Lungen einschließlich Mediastinum und Herz an. Eine kurze Beschreibung des Zustands der Lunge wurde regelmäßig protokolliert (z. B. vergrößert, verfestigt, Staubablagerungen, Emphysem,

Tumoren), gegebenenfalls als „o. B.“ bezeichnet, wenn keine Veränderungen auftraten. Die Fixierung der zusammenhängenden Thoraxorgane erfolgte ebenfalls in einer 4%igen Formaldehyd-Lösung. Um einen Hinweis auf das Lungengewicht zu erhalten, wurde im Laufe des Versuches eine kleine Anzahl der Lungen nicht *in situ* fixiert, sondern dem Thorax entnommen, nach Abtrennen von den beiden Hauptbronchien gewogen, ihr kollabiertes Volumen durch Wasserverdrängung bestimmt und anschließend fixiert.

Einige Tiere wurden nach fast 2½-jähriger Versuchszeit mit Nembutal getötet und entblutet. Dieses Verfahren ist günstig für bestimmte histologische Untersuchungen des Lungengewebes (Immunhistochemie, *In-situ*-Hybridisierung), wie sie von der Abteilung für Umweltpathologie des MIU geplant waren (Dr. Höhr, Dr. Albrecht). Dazu wurde mit Frau Dr. Höhr vereinbart, einen kleinen Teil der Lunge von je 3 Tieren der Gruppen 95/1 A, EI, FI und GI für immunhistochemische Untersuchungen zu verwenden und die Lungen der entsprechenden Tiere *in situ* mit einem Gemisch aus 3 % Paraformaldehyd und 0,25 % Glutaraldehyd zu fixieren. Mit Frau Dr. Albrecht wurde vereinbart, kleine Teile der Lungen von je 2 Tieren der Gruppen 95/1 A, BI, CI, DI, EI, FI, und GI sowie von je 3 Tieren der Gruppen 95/5 BI, BII und F für Untersuchungen mit *In-situ*-Hybridisierung zu verwenden und die entsprechenden Lungen *in situ* mit 4 % Paraformaldehyd (in gepufferter physiologischer Kochsalzlösung pH 7,4) zu fixieren. Die Entnahme der kleinen Gewebeproben für alle diese Untersuchungen war so geplant, dass die Tumordiagnostik im Hinblick auf das Hauptversuchsziel nicht beeinträchtigt wurde.

Die Bearbeitung nach der in unserer Abteilung begonnenen Fixierung der Lungen und des tumorverdächtigen Gewebes aus dem Abdomen geschah in der Abteilung für Umweltpathologie des MIU unter Leitung von Herrn Prof. Friemann bis zu seinem Ausscheiden Mitte 1997. Die Einbettung der Lungen in Paraffin erfolgte *in toto* nach Möglichkeit 1 Tag nach der Fixierung, die Färbung der Schnitte für die Tumordiagnostik mit Hämatoxylin-Eosin, etwa 10 bis 15 Schnitte pro Lunge. Prof. Friemann verließ das MIU im Sommer 1997. Daraufhin wurde ein Auftrag zur histopathologischen Begutachtung der Schnitte aus dem Kohlenstaubversuch an die Gruppe Prof. Dr. Mohr, Priv.-Doz. Dr. Rittinghausen und Dr. Ernst vergeben, die durch große Erfahrung auf dem Gebiet der histopathologischen Diagnostik der Lungen von Laboragern ausgewiesen ist, auch in Kooperation mit ausländischen Histopathologen (DUNGWORTH et al., 1992, 1994; ERNST et al., 1996; MOHR et al., 1996; RITTINGHAUSEN et al., 1996). Die Arbeitsgruppe begutachtete die Lungen von Laboragern aus zahlreichen Experimenten nach Verabreichung einer Vielzahl von Stoffen; über die Ergebnisse liegen zahlreiche Veröffentlichungen vor. Die Gewebsschnitte aus unserem Versuch begutachtete mindestens einer der drei Histopathologen, schwierige Fälle diagnostizierten alle gemeinsam in einem Panel. Die Klassifizierung der Lungentumoren wurde nach BOORMAN et al. (1996) und den Kriterien der IARC (DUNGWORTH et al., 1992) durchgeführt.

Das Tiermaterial des 2. Versuchsteils (Nicht-Bergbaustäube) verblieb zunächst im MIU und wurde im September 1998 von Dr. Borm als neuem Abteilungsleiter übernommen. Wir verließen das MIU Ende 1998, sodass uns das zunächst anschließende weitere Verfahren mit dem Material nicht genau bekannt ist (es erschienen mehrere Veröffentlichungen über Fragmente der Studie unter Bezug auf histologische Diagnosen eines anderen Pathologen; BORM et al. 2000, 2004; MORFELD et al.,

2006). Im September 2003 wurde auf Veranlassung der BAuA das im MIU vorhandene Material in das Fraunhofer Institut für Toxikologie und experimentelle Medizin (ITEM; bis Ende 2002 Fraunhofer Institut für Toxikologie und Aerosolforschung, ITA), Hannover, gebracht und dort auf Vollständigkeit bzw. Verwendbarkeit für umfassende histologische Untersuchungen geprüft. In der Regel waren 10 - 15 Lungengewebschnitte vorhanden, darüber hinaus zahlreiche Schnitte von tumorverdächtigem Gewebe aus anderen Organen, die zur Unterscheidung zwischen primären Lungentumoren und Lungenmetastasen beitrugen, sowie ungeschnittenes Gewebematerial. Bis auf wenige Versuchsgruppen der höchsten Dosisstufen wurden alle Schnitte nach praktisch denselben Kriterien wie beim ersten Versuchsteil histologisch untersucht (MOHR et al., 2006).

Außer den z. B. in Tab. 3.1 u. a. genannten Versuchsgruppen gab es einige Satellitengruppen, die der Bestimmung des Staubgehalts in den Lungen dienen sollten. Eine Analyse konnten wir jedoch nicht mehr in die Wege leiten. Bei der Abschätzung der in den Lungen retinierten Staubmengen müssen wir uns daher an frühere Analysergebnisse und andere veröffentlichte Daten halten.

Die Studie wurde im Geiste der *Guten Laborpraxis (GLP)* mit aller Sorgfalt durchgeführt. Die Voraussetzungen zur Erfüllung aller formalen Punkte der GLP-Richtlinie konnten von Seiten des MIU nicht zur Verfügung gestellt werden. Das Tierexperiment wurde in der insgesamt fast 3-jährigen Laufzeit (Juli 1995 bis Mai 1998) bis auf die irrtümlich zusätzlichen Instillationen (siehe oben und Tab. 3.1) ohne relevante Störungen des Ablaufs bis zur makroskopischen Befunderhebung und Weiterleitung der Organe zur Weiterbearbeitung für die histologischen Untersuchung durchgeführt.

Die Studie war in erster Linie als Kanzerogenitätsversuch zur Klärung der einleitend genannten Fragestellungen ausgelegt. Darüber hinaus war geplant, anhand von zusätzlichen Lungenschnitten mit Spezialfärbungen nicht neoplastische Lungenveränderungen zu untersuchen und den Fibrosegrad bei einigen Versuchsgruppen morphometrisch zu bestimmen. Aus den Ergebnissen sollte ermittelt werden, wie Tumorfrequenz und Fibrosegrad quantitativ miteinander assoziiert sind. Solche Untersuchungen wurden später in einem gesonderten, von der Vereinigung der Metall-Berufsgenossenschaften, Düsseldorf, finanzierten Projekt an 7 Versuchsgruppen durchgeführt, die mit einem Nanostaub behandelt worden waren (BELLMANN et al., 2006). Die Ergebnisse werden im Rahmen des vorliegenden Berichts nicht detailliert dargestellt, sie werden jedoch im Rahmen der Diskussion (Abschnitt 5.1.1) berücksichtigt. Untersuchungen an weiteren Versuchsgruppen wären von Interesse (z. B. Vergleich zwischen Fein- und Ultrafeinstäuben; Lungenmetastasen von Primärtumoren mit Sitz außerhalb der Lunge insbesondere bei den höchsten Nano-Dosen, z. B. bei Al-oxid, Al-silikat und Ruß), konnten aber aus finanziellen Gründen nicht durchgeführt werden.

2.4 Statistische Auswertung (Basis-Statistik Kanzerogenitätsversuch)

2.4.1 Allgemeines

Im Folgenden sind die Methoden der Routine-Auswertung des Kanzerogenitätstests beschrieben. Zusätzliche statistische Auswertungen wurden durchgeführt und sind im Kapitel 4. dargestellt.

Die planmäßige statistische Auswertung des Kanzerogenitätsversuchs bezieht sich vor allem auf Überlebenszeiten, Gewichtsentwicklung und Tumorhäufigkeiten. Die Überlebenszeit (*survival*) eines Tieres ist der Zeitraum zwischen dem Tag der ersten intratrachealen Instillation und dem Todestag. Die Tumorhäufigkeit (*tumour frequency*) einer Versuchsgruppe ist die Zahl von Tieren mit (mindestens einem) *Tumor im Sinne des Tests* unter der Zahl der *Ratten at risk* oder der entsprechende prozentuale Anteil. Die Auswertung von Überlebenszeiten und Tumorhäufigkeiten stützte sich wesentlich auf ein System, bei dem für jedes einzelne Tier u. a. folgende Information festgehalten wird:

1. Todeszeitpunkt
2. Unterscheidung: Zeitpunkt des *natürlichen / substanzbedingten* Todes bekannt / nicht bekannt
3. Auswertbarkeit für Ermittlung der Tumorhäufigkeit gegeben / nicht gegeben
4. Tumor im Sinne des Tests vorhanden / nicht vorhanden

Diese (und zusätzliche) Information wurde mit Hilfe von Bewertungsziffern (*codes, indicators*) den einzelnen Tieren zugeordnet. Das System der Bewertungsziffern, das die Auswertung mit dem Computer erleichtert, ist weiter unten beschrieben. Die entsprechenden Einzeltierdaten sind im Anhang enthalten.

2.4.2 Überlebenszeiten

Die Angabe von Perzentilen von Überlebenszeiten soll v.a. zur Beurteilung eventueller Substanztoxizität und zur Beurteilung des Erreichens einer für einen Kanzerogenitätstest hinreichenden Beobachtungsdauer dienen. Hierfür haben wir den Begriff des *natürlichen / substanzbedingten* Todes definiert, der so zu verstehen ist, dass das betreffende Tier nicht durch unplanmäßige Einflüsse zu Tode gekommen ist, d. h. durch andere Ursachen als natürlichen Tod oder Folgen der Testsubstanz (oder - als Besonderheit - im Zuge des Tötungstermins am Versuchsende). Als unplanmäßige Einflüsse gelten grundsätzlich: Narkosefolgen, Entlaufen des Tieres (kein Tier in diesem Versuch), Tötung für zusätzliche, unplanmäßige Untersuchungen. Als einfaches deskriptives Maß für jede Gruppe geben wir den Median der Überlebenszeiten der Tiere an, für die der Zeitpunkt des *natürlichen / substanzbedingten* Todes bekannt ist (wegen Kachexie oder aus sonstigen humanen Gründen eingeschläferte Tiere sowie die Tiere des abschließenden Tötungstermins sind definitionsgemäß eingeschlossen). Die Zahl der betreffenden Tiere unterscheidet sich im vorliegenden Versuch nur gering von der Zahl der Ratten zu Versuchsbeginn (*Ratten at start*). Der Anhang enthält außerdem weitere Perzentile der Überlebenszeiten und graphische Darstellungen. Die statistische Prüfung auf Unterschiede zwischen staubbehandelten

Gruppen und Kontrollgruppen erfolgte mit dem Wilcoxon- und dem Log-Rang-Test (zweiseitig) mit Hilfe der Software-Pakete SAS und STATISTICA. Die Daten des Tötungstermins (Versuchsende) wurden dabei als sogenannte zensierte Beobachtung berücksichtigt.

2.4.3 Tumorhäufigkeiten

Die Bezeichnung *auswertbare Tiere* bezieht sich üblicherweise auf die Ratten, die zur Berechnung der Tumorhäufigkeiten verwendet werden können. Die Zahl dieser Tiere, die wir hier als *Ratten at risk* bezeichnen, ist definitionsgemäß nicht identisch mit der Zahl der Tiere, aus denen die Perzentile der Überlebenszeiten berechnet wurden, sie ist gleichwohl *de facto* häufig identisch (die Tiere erfüllen dann die zusätzlichen Bedingungen zur Auswertbarkeit hinsichtlich der Tumorhäufigkeit). Die Bezeichnung *auswertbare Tiere* wird hier vermieden, um Verwechslungen zu vermeiden, und stattdessen der Begriff *Ratten at risk* verwendet.

Folgende Kriterien müssen für die *Ratten at risk* erfüllt sein:

1. Überlebenszeit mindestens 26 Wochen nach der ersten Instillation der Gruppe; für die beiden nicht behandelten Kontrollgruppen gilt der Tag der ersten Instillation der jeweiligen Versuchsstaffel. (Die Wahrscheinlichkeit, bereits vorher Neoplasien zu finden, ist minimal. Ein später gesetzter Zeitpunkt, wie z. B. 1 Jahr von MCCONNELL et al. (1994) erscheint zumindest für den Intratrachealtest zu lang, insbesondere dann, wenn auch Präneoplasien in die Beurteilung einbezogen werden.)
2. Das Vorhandensein oder Fehlen eines *Tumors im Sinne des Tests* ist grundsätzlich beurteilbar. Dies bedeutet: Falls kein primärer Lungentumor festgestellt wird, muss die Lunge vollständig erhalten sein (falls histologisch eindeutig ein primärer Lungentumor festgestellt wird, dürfen Lungenteile fehlen, da kein zusätzlicher Befund vorstellbar ist, der die positive Diagnose aufheben könnte).
3. Lungen sowie Tumoren und tumorverdächtiges Gewebe aus dem Bauchraum wurden histologisch befundet; d. h., z. B. durch Kannibalismus oder Autolyse verlorene Tiere sind in der Zahl der *Ratten at risk* nicht enthalten.

Tumor im Sinne des Tests ist in diesem Versuch ein gut- oder bösartiger primärer Lungentumor. Die Angabe der Tumorhäufigkeit erfolgt als prozentualer Anteil der Ratten mit Tumor (im Sinne des Tests) an der Zahl der *Ratten at risk*. Es wurden 95%-Vertrauensgrenzen anhand der Binomialverteilung berechnet (zweiseitig). Die statistische Prüfung auf Erhöhung der Tumorhäufigkeit einer mit Staub behandelten Gruppe gegenüber der mitlaufenden Kontrollgruppe erfolgte mit Fisher's exact test (einseitig). Ebenso wurde auf eine Erhöhung der Tumorhäufigkeit der höheren Dosisgruppen im Vergleich zu den niedrigeren Dosisgruppen geprüft.

2.4.4 Tiergewichte

Die Einzeltiergewichte wurden von Druckern protokolliert, die an die elektronischen Tierwaagen angeschlossen waren. Mit diesem System wurde auch unmittelbar Mittelwert und Standardabweichung für jede Gruppe berechnet und ausgedruckt. Die Ausdrücke wurden von uns im MIU aufbewahrt, die Daten von Mittelwert und Standardabweichung wurden (von Hand) in PC-Dateien übertragen. Der Gewichtsverlauf

wurde anhand graphischer Darstellungen beobachtet (Graphiken über den Verlauf bis Versuchsende im Anhang). Für die Versuchszeiten 0, ½ Jahr, 1 Jahr und 2 Jahre erfolgte eine prüfende Betrachtung möglicher Unterschiede zwischen den mit Staub behandelten Gruppen und den mitlaufenden Kontrollgruppen mit Student's t-Test (zweiseitig).

2.4.5 Erläuterung zu den Grunddatenblättern (*Basic data sheets*) und Bewertungsziffern (*indicators*) im Anhang - Appendix 8.3

Dem Anhang sind beispielhaft einige Kopien der sogenannten Grunddatenblätter (*Basic data sheets*) beigelegt. Es handelt sich dabei um Ausdrücke von Computerdateien im Format MS EXCEL. Entsprechende Dateien wurden für alle Versuchsgruppen im Hinblick auf die computergestützte Auswertung des Kanzerogenitätstests erstellt. Die Dateien wurden für die Auswertung der Überlebenszeiten aller Gruppen (Anhang 8.2) sowie für die Auswertung der Tumorfrequenzen des ersten Versuchsteils auf Basis histologischer Diagnosen und für die Tumorfrequenzen des zweiten Versuchsteils bis zum Stand des Kurzberichts zum Projekt F1843 (POTT und ROLLER, 2003) benutzt; für die im vorliegenden Bericht enthaltene Auswertung des zweiten Versuchsteils auf Basis histologischer Diagnosen erfolgte die Bewertung als Tier mit *Tumor im Sinne des Tests* und die Aufstellung der „Tumorfrequenzen“ dagegen bei den Pathologen in Hannover, die dabei ein eigenes Computerprogramm verwendeten (BELLMANN et al., 2005).

Die Hauptinformation für die Auswertung des Kanzerogenitätstests besteht in der Überlebenszeit eines jeden Tieres und seiner Bewertung im Hinblick auf Auswertbarkeit und Vorhandensein eines Tumors. Diese Bewertung eines jeden Tieres lässt sich mit einer Bewertungsziffer ausdrücken, die eine statistische Auswertung mit Computerprogrammen ermöglicht. Das System der Bewertungsziffern ist auf das Vorliegen von histologischen Diagnosen ausgerichtet. Systeme von Bewertungsziffern werden auch in kommerzieller Software für die Auswertung von Kanzerogenitätsversuchen und für Überlebenszeitanalyse verwendet. Diese Systeme erlauben jedoch in der Regel keine Unterscheidung nach Tumorarten. Eine solche Unterscheidung ist letztlich für die Auswertung des Kanzerogenitätstests nicht dringend erforderlich, sie bietet jedoch eine Reihe von Vorteilen: sie erleichtert z. B. in dem über Jahre laufenden Versuchs- und Auswertprozess an späteren Zeitpunkten die Identifizierung einzelner Tiere in den Daten-Dateien und die Nachvollziehbarkeit von Bewertungsentscheidungen, sie erleichtert außerdem die Durchführung zusätzlicher Auswertungen, die sich auch auf Häufigkeiten von Tumoren beziehen, die nicht als Tumoren im Sinne des Tests betrachtet werden (besondere Fragestellungen, die oft erst während der Versuchslaufzeit entstehen). Zum Zeitpunkt der Versuchsplanung und -durchführung waren *Tumoren im Sinne des Tests* als *primäre Lungentumoren* definiert. In der neueren Literatur wird die Wanderung von Nanopartikeln aus der Lunge in andere Organe diskutiert. Auf die daraus entstehende Frage, ob Nanopartikeln auch an anderen Lokalisationen Tumoren induzieren können, wird im Rahmen des vorliegenden Projekts nicht eingegangen. Die sorgfältige Entnahme und Begutachtung von tumorverdächtigem Material außerhalb der Lunge geschah vor allem mit dem Ziel einer Differenzierung zwischen primären Lungentumoren und Lungenmetastasen anderer Primärtumoren.

Das hier benutzte System von Bewertungsziffern wurde von uns vor etwa 15 Jahren zur Auswertung von Kanzerogenitätsversuchen mit intraperitonealer Injektion bei weiblichen Wistar-Ratten entwickelt. Dabei ist die Abgrenzung der *Tumoren im Sinne des Tests* von Metastasen von Uterustumoren ein wichtiger Aspekt. Auch Lungenmetastasen von Uterustumoren können bei diesem Tierstamm vorkommen. Deshalb ist die Beibehaltung des Bewertungssystems mit einer besonderen Betrachtung von Uterustumoren auch beim Instillationsversuch sinnvoll. *Tumoren im Sinne des Tests*, das sind hier gutartige und bösartige primäre Lungentumoren, werden mit der Ziffer 3 gekennzeichnet, Uterustumoren werden mit der Ziffer 4 und Tumoren anderer Organe mit der Ziffer 5 bezeichnet. Es ist ausdrücklich darauf hinzuweisen, dass Metastasen von Primärtumoren mit Sitz außerhalb der Lunge als solche nicht als Tumoren im Sinne des Tests gelten und daher auch nicht durch eine Bewertungsziffer gekennzeichnet wurden (aber wir haben sie in die Grunddatenblätter von Teil 1 für jedes Tier mit Diagnose eingetragen). Die Entnahme von makroskopisch tumorverdächtigem Gewebe und seine histologische Untersuchung waren darauf ausgerichtet, primäre Lungentumoren von Lungenmetastasen besser unterscheiden zu können. Denn wir haben großen Wert darauf gelegt, dass zwischen primären Lungentumoren und Metastasen anderer Primärtumoren unterschieden wurde. Dies war nur dadurch möglich, dass bei der Sektion auch außerhalb der Lunge nach Tumoren gesucht, verdächtiges Gewebe entnommen und der histologischen Untersuchung zugeführt wurde.

Die Bewertungsziffern fassen nicht sämtliche in dem Versuch enthaltene Information zusammen. Sie sind ein Hilfsmittel zur statistischen Auswertung der für eine gegebene Fragestellung relevanten Information.

Die Bewertungsziffern beziehen sich daher nur auf primäre Lokalisationen. Tiere mit der Bewertungsziffer 4 z. B. trugen einen Uterustumor; die zusätzliche Information, ob es eine Lungenmetastase von diesem Uterustumor gibt oder nicht, kann der Ziffer nicht entnommen werden. Gleichwohl ist in den Spalten der Grunddatenblätter, die für die Erfassung der einzelnen histologischen Diagnosen vorgesehen sind, eine Spalte für Lungenmetastasen enthalten. Diese Spalten wurden für die Angabe einzelner Lungentumortypen im Hauptteil dieses Berichts „von Hand“ ausgewertet, in die Bewertungsziffer für die „maschinelle“ Auswertung geht im Hinblick auf Lungentumoren nur die Entscheidung ein *Tumor im Sinne des Tests: ja* oder *nein* (= *positiv* oder *negativ*).

Zur Bedeutung von Bewertungsziffern mit der Zahl 7 oder darüber ist die folgende Erläuterung zu geben. Bewertungsziffern größer als 5 kommen durch Addition der Zahlen 3, 4 und 5 zustande. Sie enthalten dementsprechend die Information, dass in dem betreffenden Tier mehr als ein Primärtumor - unabhängig - entstanden war. Tiere mit sowohl primärem Lungentumor als auch primärem Uterustumor erhalten z. B. die Bewertungsziffer 7; an dieser Ziffer ist aber nicht abzulesen, ob in der Lunge zusätzlich eine Lungenmetastase des Uterustumors auftrat oder nicht: diese Information ist für die Auswertung des Kanzerogenitätstests auch ohne Bedeutung. Im Endergebnis des Kanzerogenitätstests haben Tiere mit den Bewertungsziffern 3, 7, 8 und 12 denselben Stellenwert als *positive* Tiere. Dementsprechend haben Tiere mit den Bewertungsziffern 0, 4, 5 und 9 (untereinander) den gleichen Stellenwert als *negative* Tiere. Auf die Verwendung der Bewertungsziffer 9 (Kombination aus 4 und 5) wurde praktisch völlig verzichtet und stattdessen die Ziffer 4 verwendet, da wir für

den Uterustumor grundsätzlich die höchste Metastasierungsneigung annehmen und für eine Unterscheidung zwischen 4 und 9 zu entscheiden wäre, ob es sich bei dem sonstigen Tumor um eine Metastase des Uterustumors handelte - ein Differenzierungsaufwand, der im Hinblick auf die Bedeutungslosigkeit dieser Information für das Gesamtergebnis des Kanzerogenitätsversuchs (in der vorliegenden Fragestellung bezüglich Lungentumoren) nicht gerechtfertigt ist.

Die Bewertungsziffern sind auf histologische Diagnosen ausgerichtet. Beim Stand des Jahres 2003, als der Kurzbericht von POTT und ROLLER (2003) veröffentlicht wurde, lagen uns diese für den Versuchsteil 2 infolge der Situation, die im Zusammenhang mit der Schließung des Medizinischen Instituts für Umwelthygiene (MIU) entstanden war, nicht vor. Die Bewertung der einzelnen Tiere wurde damals anhand der makroskopischen Befundbeschreibungen vorgenommen. Die Entscheidung, ob es sich bei einem mit bloßem Auge erkennbaren Lungentumor vermutlich um einen *Tumor im Sinne des Tests* oder um eine *Metastase* handelte, wurde zunächst nach verschiedenen Kriterien getroffen. Diese Bewertungen sind in den Grunddatenblättern in den drei Spalten macroscop. (1) bis macroscop. (3) auch für den Versuchsteil 1 enthalten und dort den Bewertungen nach der Histologie vorangestellt. In einem Zwischenbericht zu dem Projekt F 1843 der BAuA wurde ein Vergleich der Ergebnisse der Bewertungen nach den drei unterschiedlichen makroskopischen Kriteriendefinitionen mit den histologischen Bewertungen beschrieben (dieser Vergleich wurde mit Hilfe des Computers und der Bewertungsziffern durchgeführt). Nach Definition 1 (macroscop. (1)) wurde jeder Lungentumor als *Tumor im Sinne des Tests* gezählt ohne weitere Einschränkungen. Nach Definition 2 durfte ein Lungentumor nur dann als *Tumor im Sinne des Tests* gezählt werden, wenn beim betreffenden Tier kein Uterustumor zu beobachten war; nach Definition 3 ging Größe und Zahl weiterer Tumoren in Abdomen oder Thorax und damit auch die persönliche Erfahrung des Untersuchers nach früheren Experimenten in die Bewertung ein. 92,5 % der Einzelbewertungen als *Tumor im Sinne des Tests* nach *Definition 3* wurden histologisch als primärer Lungentumor bestätigt. Das Zusammenspiel von Sensitivität und Spezifität wurde bei dieser Definition als am besten eingeschätzt und daher wurde diese Definition eines makroskopisch erkennbaren Tumors im Sinne des Tests für die Angabe der makroskopischen Ergebnisse verwendet. Diese Ergebnisse auf Basis makroskopischer Befunde sind im vorliegenden Bericht in Tab. 3.1 noch enthalten.

Die statistischen Auswertungen der Tumorfrequenzen und der Dosis-Häufigkeitsbeziehungen wurden für den vorliegenden Bericht auf Basis der histologischen Diagnosen durchgeführt. Dabei erfolgte für den zweiten Versuchsteil die Bewertung als Tier mit *Tumor im Sinne des Tests* und die Aufstellung der „Tumorfrequenzen“ bei den Pathologen in Hannover, die dann ein eigenes Computerprogramm verwendeten (BELLMANN et al., 2005). Eine Übertragung dieser Diagnosen in das System der Bewertungsziffern und in die Grunddatenblätter war in der dann bestehenden Gesamtsituation nicht mehr als arbeitsökonomisch anzusehen. Die Bewertungsziffern wurden daher für die Grundstatistik (Überlebenszeiten aller Tiere, unabhängig vom Tumorstatus) sowie für die Tumorstatistik bis zum Stand des Jahres 2003, aber nicht für die statistische Auswertung der Dosis-Häufigkeitsbeziehungen dieses Berichts verwendet.

Im Folgenden ist die Bedeutung der Bewertungsziffern im Einzelnen aufgeführt.

- 1 Zeitpunkt des *natürlichen / substanzbedingten* Todes unsicher (z. B. Tier starb in Narkose oder wurde für Untersuchungen getötet); nicht eingeschlossen in die Auswertung der Tumorfrequenz und die Berechnung der Perzentile der Überlebenszeit der Gruppe
- 0 Zeitpunkt des *natürlichen / substanzbedingten* Todes bekannt; Tier voll auswertbar, kein *Tumor im Sinne des Tests* (= *negativ*)
- 1 Zeitpunkt des *natürlichen / substanzbedingten* Todes bekannt; kein Tumor im Sinne des Tests; Ratte wegen frühen Todes (Überlebenszeit kleiner als 26 Wochen) nicht eingeschlossen in die Auswertung der Tumorfrequenz (keine *Ratte at risk*); jedoch eingeschlossen in die Berechnung der Perzentile der Überlebenszeit der Gruppe
- 2 Zeitpunkt des *natürlichen / substanzbedingten* Todes bekannt; Vorhandensein oder Fehlen eines *Tumors im Sinne des Tests* unsicher (wegen Autolyse oder Kannibalismus), daher Ratte nicht eingeschlossen in die Auswertung der Tumorfrequenz (keine *Ratte at risk*); jedoch eingeschlossen in die Berechnung der Perzentile der Überlebenszeit der Gruppe
- 3 *Tumor im Sinne des Tests* (= *positiv*)
- 4 Zeitpunkt des *natürlichen / substanzbedingten* Todes bekannt; Tier voll auswertbar; (bösartiger) Uterustumor (mit oder ohne Lungenmetastasen), kein *Tumor im Sinne des Tests* (= *negativ*)
- 5 Zeitpunkt des *natürlichen / substanzbedingten* Todes bekannt; Tier voll auswertbar; anderer Tumor als primärer Lungentumor oder Uterustumor in Abdomen oder Thorax (mit oder ohne Lungenmetastasen), kein Tumor im Sinne des Tests (= *negativ*)
- 7 Tumor im Sinne des Tests (= *positiv*) und zusätzlich (bösartiger) Uterustumor (mit oder ohne Lungenmetastasen)
- 8 Tumor im Sinne des Tests (= *positiv*) und zusätzlich anderer Tumor als primärer Lungentumor oder Uterustumor in Abdomen oder Thorax (mit oder ohne Lungenmetastasen)
- 12 Tumor im Sinne des Tests (= *positiv*) und zusätzlich (bösartiger) Uterustumor (mit oder ohne Lungenmetastasen) und zusätzlich anderer Tumor als primärer Lungentumor oder Uterustumor in Abdomen oder Thorax (mit oder ohne Lungenmetastasen)

Zusammengefasst bedeutet dies:

Tiere mit Bewertungsziffern größer oder gleich 0 sind in die Berechnung der Perzentile der Überlebenszeiten eingeschlossen.

Tiere mit den Bewertungsziffern 0 oder 3 bis 12 sind *Ratten at risk*.

Tiere mit den Bewertungsziffern 0, 4 oder 5 sind *negative Ratten (at risk)*.

Tiere mit den Bewertungsziffern 3, 7, 8 oder 12 sind *positive Ratten (at risk)*.

3 Ergebnisse

3.1 Überblick

Die Tabelle 3.1 gibt einen Überblick über die Ergebnisse des gesamten Kanzerogenitätsversuchs. In weiteren Tabellen und im Anhang werden insbesondere folgende Daten im Detail dargestellt.

- *Verabreichungen und Dosisangaben*

Das Maß für die nach Versuchsplan verabreichte Dosis ist die Staubmasse. Dementsprechend wird die Dosis primär als Zahl der regelmäßig im Abstand von einer Woche verabreichten Instillationen in Verbindung mit der Staubmasse pro Instillation angegeben. Außerdem ist das aus instillierter Gesamtstaubmasse und Materialdichte berechnete Staubvolumen angegeben, darüber hinaus die *Staublast pro Lunge* (= retiniertes Staubvolumen). Diese Staublast wurde bei allen als nicht spezifisch toxisch geltenden Stäuben, also bei den 16 GBS, nach Literaturangaben (POTT et al., 1994; DASENBROCK et al., 1996; Übersichtsarbeit von DRISCOLL et al., 2000; POTT und ROLLER, 2002, unveröff. Abschlussbericht für die BAuA) durchgehend mit zwei Dritteln des instillierten Nominalvolumens definiert.

- *Anzahl Ratten bei Versuchsbeginn und für die Auswertung der Kanzerogenität*

Diese beiden Tierzahlen sind in den Tabellen mit den englischen Ausdrücken *at start* und *at risk* wegen deren Kürze so überschrieben. Die Kriterien der *Ratten at risk* finden sich im Methoden-Abschnitt 2.4.3 sowie 2.4.5. Die Bewertung jeder einzelnen Ratte bezüglich ihrer Klassifizierung *at risk* wurde zusammen mit weiteren Befunden in sogenannten Grunddatenblättern erfasst (*Basic data sheets*, Beispiele im Anhang 8.3).

- *Entwicklung des Körpergewichts*

Daten zur Körpergewichtsentwicklung finden sich in Tab. 3.3. Ausführlich ist die Körpergewichtsentwicklung im Anhang dargestellt (8.1). Neben Abbildungen zur Gewichtsentwicklung jeder Gruppe bis zu 2 Jahren nach der ersten Instillation sind dort Tabellen mit Mittelwert und Standardabweichung für die Zeitpunkte 6, 12, 18 und 24 Monate enthalten. Außerdem ist der p-Wert nach Student's t-Test für den Unterschied zur jeweils mitlaufenden Kontrolle angegeben.

- *Überlebenszeiten (ab erster Instillation)*

Wegen seiner Kürze ist in den Tabellen des Ergebnisteils die Überlebenszeit (ab erster Instillation) mit dem englischen Begriff *survival* überschrieben; es ist der Medianwert für jede Gruppe angegeben. In Tabelle 3.3 sind außerdem die Resultate der statistischen Prüfung auf Unterschiede in den Überlebenszeiten kurz vermerkt. In Table 8.2 des Anhangs sind neben den p-Werten der statistischen Tests die Zeiten eingetragen, bis zu denen 20, 50 und 80 % der Ratten gestorben waren, sowie der Zeitpunkt, an dem die letzten Tiere jeder Gruppe getötet wurden. Abbildungen im Anhang (Fig. 8.19 - 8.39) zeigen die Zunahme der Zahl

an gestorbenen Tieren im Verlauf der Versuchszeit für jede Gruppe im Vergleich zur simultan mitgeführten Kontrollgruppe.

- *Lungengewichte*

Die Ergebnisse stichprobenartiger Messungen von Lungengewichten ohne Trachea und von Lungenvolumina nach 28-monatiger Versuchszeit zeigt Tab. 3.4.

- *Lungentumoren*

Die histopathologische Diagnostik der Tumoren wurde von der Arbeitsgruppe Ernst, Rittinghausen und Mohr für beide Versuchsteile gestellt - umständehalber liegt zwischen den Diagnosen des ersten Versuchsteils (Tab. 3.5) und des zweiten Versuchsteils (Tab. 3.6) ein Zeitraum von mehreren Jahren. Die Einzeldiagnosen der in Lungen gefundenen Primärtumoren sowie der Metastasen von Primärtumoren mit Sitz außerhalb der Lunge wurden für jedes einzelne Tier des ersten Versuchsteils in den *Basic data sheets* erfasst (Abschnitt 2.4.5, Beispiele im Anhang 8.3). Die Entscheidung über die Bewertung als „Tier mit Tumor im Sinne des Tests“ wurde für den zweiten Versuchsteil von dem Pathologenteam in Hannover anhand ihrer histologischen Diagnosen vorgenommen.

- *Latenzzeit zwischen erster Instillation bis zum Tod mit Lungentumor*

Kumulative Tumorfrequenzen in Abhängigkeit von der Versuchszeit sind am Beispiel der Bergbaustäube exemplarisch in Abb. 3.1 dargestellt.

- *Statistische Prüfung der Lungentumorfrequenzen*

Für alle histologisch untersuchten Versuchsgruppen wurde die Erhöhung der Lungentumorfrequenz im Vergleich mit der je Versuchsstaffel mitgeführten Kontrollgruppe anhand Fisher's exact test geprüft (Tab. 3.3). Für die meisten Versuchsgruppen wurden außerdem die statistischen 95%-Vertrauensbereiche berechnet (Tab. 3.7). Ferner wurde die Signifikanz einer Erhöhung der Lungentumorfrequenz bei den höheren im Vergleich mit den niedrigeren Dosierungen geprüft (Tab. 3.7, 3.8).

- *Dosis-Häufigkeitsbeziehungen*

Eine ausführliche Analyse von Dosis-Häufigkeitsbeziehungen ist in Kapitel 4. beschrieben.

3.2 Akute Verträglichkeit

Die Tab. 3.2 enthält Informationen zu den Dosierungen und zu deren akuter bis subchronischer Verträglichkeit. Zur Verdeutlichung ist die Staubmassendosis pro Instillation in einer gesonderten Spalte angegeben. Wie im Methodenteil beschrieben, wurden in wenigen Gruppen irrtümlich zusätzliche Instillationen durchgeführt. Dies ist in Tab. 3.2 in einer Spalte mit den geplanten Instillationen pro Tier deutlich gemacht. Als einzigem Staub trat mit ultrafeinem hydrophobiertem Titandioxid eine klare akute Mortalität auf (s. Abschnitt 5.6.3; Anhang, Fig. 8.33). Wenn man deshalb in der Bilanz der Verträglichkeit der übrigen Stäube (von denen die meisten früher als *inert* bezeichnet wurden), dieses Titandioxid ausschließt, dann ist für die Gesamtstudie von einer Gesamtzahl an Instillationen von etwa 21.000 auszugehen. Das heißt, dass auch genauso viele CO₂-Narkosen durchgeführt wurden. In zeitlicher Nähe zu diesen Behandlungen starben 35 Tiere, dies entspricht einer Kurzzeit-Letalität der Behandlung von 0,17 %. In mehreren Fällen war dabei aufgrund der Umstände die Narkose als Ursache offensichtlich (z. B. Tod in Narkose, vor der Instillation). Aufgrund der relativ gleichmäßigen Verteilung der wenigen sonstigen Todesfälle nach Tab. 3.2 und deren augenscheinlicher Unabhängigkeit von der Höhe der Einzeldosis lässt sich diesen Daten kein stichhaltiger Hinweis auf eine akute Toxizität der Stäube entnehmen, mit Ausnahme des hydrophoben TiO₂. Nach Abschluss der Behandlungen starb im Zeitraum bis zu einem halben Jahr nach der ersten Behandlung von 2050 angesetzten Tieren ein Tier aus ungeklärter Ursache.

Folgende Anmerkung ist zu Tab. 3.2 betreffend den allgemeinen Verlauf der Studie zu machen: Bei der Interpretation von Tab. 3.2 ist zu beachten, dass in der Spalte „Gestorbene Tiere“ *alle im betreffenden Zeitraum* zu Tode gekommenen Tiere erfasst sind, unabhängig von der Todesursache. Davon zu unterscheiden sind Gesichtspunkte, die die *gesamte Laufzeit* der Studie, aber *unterschiedliche Todesursachen* betreffen: Für die Gesamtauswertung der Studie unterscheiden wir ja zur Berechnung der Überlebenszeiten und der auswertbaren Tiere auch im Hinblick auf die Langzeit-Verträglichkeit und auf das Ergebnis des Kanzerogenitätstests verschiedene „Kategorien“ von Todesursachen (Abschnitt 2.4.5). In der gesamten Studie mit 2 050 Ratten *at start* sind nur 41 Tiere enthalten, für die der Zeitpunkt des *natürlichen / substanzbedingten* Todes unsicher ist (z. B. Tier starb in Narkose oder wurde für Untersuchungen getötet) und die nicht in die Auswertung der Tumorfrequenz und die Berechnung der Perzentile der Überlebenszeit der Gruppe eingeschlossen sind. Von diesen 41 Tieren betreffen 8 Tiere die Gruppen, die hydrophobes TiO₂ erhielten (restliche Gruppen: 33 Ratten von 2 002 Ratten *at start*). Dagegen sind Tiere in die Berechnung der Überlebenszeiten eingeschlossen, bei denen der Zeitpunkt des *natürlichen / substanzbedingten* Todes bekannt ist, aber das Vorhandensein oder Fehlen eines *Tumors im Sinne des Tests* unsicher (wegen Autolyse oder Kannibalismus) ist. Diese Tiere sind nicht eingeschlossen in die Auswertung der Tumorfrequenz (*keine Ratte at risk*). Eine solche Bewertung wurde bei insgesamt 56 Ratten unter 2050 Ratten *at start* vorgenommen (diese Zahl 56 ist nur zufällig gleich mit der Zahl von 56 im Instillationszeitraum insgesamt zu Tode gekommenen Tieren gemäß Tab. 3.2).

Tab. 3.1 Übersicht über Versuchsgruppen, Staubdosen, Anzahl Ratten, Überlebenszeiten und Lungentumorhäufigkeiten der 19-Stäube-Studie

Staub	Durchm. ^a [µm] GBS ^b Größenkl.	Spez. Ober- fläche ^c (BET) [m ² /g]	Material- dichte [g/mL]	Intratracheal instillierte Dosis		Retiniertes Staub- volumen	
				Anz. wöchentl. Inst. x mg/Inst.	Volum. ^d [µL]	gesamt ^e [µL]	[µL/g Lunge] ^f
<i>Teil 1: Bergbaustäube (Kohlenstaubversuch = 1. Staffel; Beginn 4. Juli 1995)</i>							
Trägerflüssigkeit ^m	–	–	–	20 x 0,4 mL	–	–	–
Magerkohle < 0,1 % SiO ₂	4,0 groß-fein	4,1	1,4	11 x 6	47	31	21
				20 x 6	86	57	38
Untere Fettkohle < 0,1 % SiO ₂	1,8 groß-fein	9,9	1,4	10 x 6	43	29	19
				20 x 6	86	57	38
Fettkohle, gruben- echt, 1,3 % SiO ₂	3,4 groß-fein	6,4	1,8	10 x 6	33	22	15
				20 x 6	67	44	30
Gasflammkohle, gr.echt, 9 % SiO ₂	2,4 groß-fein	10,9	2,2	10 x 6	27	18	12
				20 x 6	55	36	24
Gestein (Kohlen- gr.), 16,7 % SiO ₂	2,3 groß-fein	17,6	2,4	10 x 6	25	17	11
				20 x 6	50	33	22
Quarz DQ12 99,1 % SiO ₂	1,1 (kein GBS)	8,8	2,6	5 x 1 ⁿ	1,9	0,85	0,57
				10 x 1 ⁿ	3,8	1,7	1,1
				10 x 2 ⁿ	7,7	3,4	2,3
<i>Teil 2: Nicht-Bergbaustäube (2. Staffel; Beginn 13. Sept. 1995)</i>							
Ruß, Flammruß 101	0,095 klein-fein	18,4	1,85	5 x 6 ^p	18	11	7,5
				10 x 6 ^q	34	22	15
				20 x 6 ^r	68	44	30
Ruß, Printex 90	0,014 ultrafein	337	1,85	5 x 1,5 ^s	5	3	2,2
				5 x 3 ^t	10	6	4,0
				5 x 3 ^u	8	5	3,3
				5 x 3 ^v	9	5,8	3,9
				5 x 6	16	11	7,2
				10 x 6	32	22	14
Aluminiumoxid C [δ]	0,013 ultrafein	124	3,2	5 x 6	9	6	4
				10 x 6	19	12	8
Aluminiumsilikat P 820	0,015 ultrafein	62,9	2,1	5 x 6	14	10	6
				10 x 6	29	19	13
Kaolin ~Al ₂ Si ₂ O ₅ (OH) ₄	2,0 groß-fein	19	2,5	10 x 6	24	16	11
				20 x 6	48	32	21
Unbehandelt (1)	–	–	–	–	–	–	–

Fußnoten siehe Tabellenteile 3 und 4

Tab. 3.1 Fortsetzung

Staub GBS-Größen- klasse^b	Retin. Staub- volumen [µL/g Lunge]^f	Anzahl Ratten at start / at risk^g	50 %^h survival [Wo.]	% Rat- ten mit prim. Lu.-tu. makro.ⁱ	Ratten mit mind. 1 primären Lungentumor^j (Anz. nur benigne + Anz. maligne = % d. Tiere at risk)	Tumorh. pro µL ret. GBS- Volumen [%/µL]^k	% Lungen mit Meta- stasen von anderen Lokalisa- tionen
<i>Teil 1: Bergbaustäube (Kohlenstaubversuch = 1. Staffel; Beginn 4. Juli 1995)</i>							
Trägerflüssigkeit	–	48 / 47	110	2,1	0 + 0 = 0,0 %	–	17,0
Magerkohle GBS-GF	21	48 / 47	109	34,0	4 + 23 = 57,4 %	1,8	17,0
	38	48 / 48	101	39,6	1 + 30 = 64,6 %	1,1	20,8
Untere Fettkohle GBS-GF	19	48 / 48	108	25,0	10 + 16 = 54,2 %	1,9	10,4
	38	48 / 44	106	61,4	2 + 32 = 77,3 %	1,4	13,6
Fettkohle GBS-GF	15	48 / 48	106	43,8	5 + 22 = 56,3 %	2,5	14,6
	30	48 / 45	99	44,4	10 + 26 = 80,0 %	1,8	24,4
Gasflammkohle GBS-GF	12	48 / 43	108	32,6	5 + 26 = 72,1 %	4,0	14,0
	24	48 / 45	95	53,3	8 + 30 = 84,4 %	2,3	8,9
Gestein GBS-GF	11	48 / 47	102	19,1	3 + 13 = 34,0 %	2,0	17,0
	22	48 / 45	105	37,8	5 + 21 = 57,8 %	1,7	15,6
Quarz DQ12 kein GBS	0,57	38 / 35	103	51,4	6 + 17 = 65,7 %	> 51 ⁿ	22,9
	1,1	38 / 35	106	54,3	5 + 20 = 71,4 %	> 28 ⁿ	11,4
	2,3	38 / 36 ^o	100	64,9	8 + 20 = 77,8 %	> 15 ⁿ	5,6
<i>Teil 2: Nicht-Bergbaustäube (2. Staffel; Beginn 13. Sept. 1995)</i>							
Ruß GBS-KF	7,5	48 / 45	106	35,6	15 + 12 = 60,0 %	5,5	15,6
	15	48 / 46	104	45,7	12 + 17 = 63,0 %	2,9	10,9
	30	48 / 47	108	53,2	ohne Histologie	–	–
Ruß GBS-UF	2,2	48 / 46	110	45,7	14 + 17 = 67,4 %	22,5	13,0
	4,0	21 / 18	112	83,3	4 + 12 = 88,9 %	14,8	11,1
	3,3	27 / 27	107	48,1	6 + 15 = 77,8 %	15,6	22,2
	3,9	48 / 45			10 + 27 = 82,2 %	14,9	17,8
	7,2	48 / 48	108	62,5	7 + 33 = 83,3 %	7,6	10,4
	14	48 / 47	100	57,4	ohne Histologie	–	–
Aluminiumoxid GBS-UF	4	48 / 44	111	63,6	7 + 29 = 81,8 %	13,6	15,9
	8	48 / 47	97	55,3	12 + 22 = 72,3 %	6,0	10,6
Aluminiumsilikat GBS-UF	6	48 / 47	107	48,9	10 + 18 = 59,6 %	6,0	23,4
	13	48 / 45	108	48,9	15 + 19 = 75,6 %	4,0	22,2
Kaolin GBS-GF	11	48 / 48	115	29,2	8 + 12 = 41,7 %	2,6	8,3
	21	48 / 47	121	51,1	7 + 28 = 74,5 %	2,3	4,3
Unbehandelt (1)	–	48 / 46	124	0,0	1 + 0 = 2,2 %	–	4,3

Fußnoten siehe Tabellenteile 3 und 4

Tab. 3.1 Fortsetzung

Staub	Durchm. ^a [µm] GBS- ^b Größenkl.	Spez. Ober- fläche ^c (BET) [m ² /g]	Material- dichte [g/mL]	Intratracheal instillierte Dosis		Retiniertes Staub- volumen	
				Anz. wöchentl. Inst. x mg/Inst.	Volum. ^d [µL]	gesamt ^e [µL]	[µL/g Lunge] ^f
<i>Teil 2: Nicht-Bergbaustäube (3. Staffel; Beginn 21. Nov. 1995)</i>							
Dieselruß, Lkw	0,2 klein-fein	12,9 nativ 34,5 ^w extrahiert	1,85 ^x	3 x 2,5	> 4,1	1,4 ^y	0,9
				5 x 3	> 8,1	2,7	1,8
				5 x 6	> 16,2	5,4	3,6
TiO ₂ , P 25, hydrophil	0,025 ultrafein	52	3,8	5 x 3	3,9	2,6	1,7
				5 x 6	7,9	5,3	3,5
				10 x 6	16	11	7,0
TiO ₂ , P 805, hydrophob	0,021 (kein GBS)	32,5	3,8	15 x 0,5	2,0	"gering" (lipophil)	
				30 x 0,5	3,9	"gering" (lipophil)	
Test Toner	3,5 groß-fein	3,6	1,2	10 x 6	50	33	22
				20 x 6	100	67	44
TiO ₂ , Anatas	0,2 klein-fein	9,9	3,9	10 x 6	15	10	6,8
				20 x 6	31	21	14
ZrO ₂	< 5; ~2 ^z groß-fein	4,4	5,85	10 x 6	10	6,8	4,6
Lungenstaub, Berg- mann, Silikose III	0,2 klein-fein	12,2	~ 2	10 x 6	30	20	13
				20 x 6	60	40	27
SiO ₂ amorph (sil- ica fumed)	0,014 (kein GBS)	210	2,2	5 x 3			
				10 x 3			
Unbehandelt (2)	–	–	–	–	–	–	–

^a Meist durchschnittlicher oder mittlerer Durchmesser der Primärpartikeln. Im Falle von Dieselruß haben die Ergebnisse der Partikelgrößenmessungen (KLINGENBERG et al., 1991; RÖDELSPERGER et al., 2002) zu der Schlussfolgerung geführt, dass die durchschnittliche Größe der meist aggregierten ultrafeinen Primärpartikeln in die Größenklasse von 0,09 bis 0,2 µm fällt. Das wird durch weitere Auswertungen gestützt (UBA, 1999). Die Bio-Beständigkeit von Dieselruß-Agglomeraten ist unbekannt.

^b GBS = alveolengängige granuläre bio-beständige Stäube ohne bekannte signifikante spezifische Toxizität. Die Abfolge der Versuchsgruppen in der Tabelle entspricht dem Design des Tierversuchs. Bei der statistischen Analyse der kanzerogenen Potenz wurden die geprüften GBS nach drei Partikelgrößenklassen unterschieden: ultrafeine GBS = GBS-UF (mittlerer Durchmesser 0,01 - 0,03 µm); klein-feine GBS = GBS-KF (mittlerer Durchmesser 0,09 - 0,2 µm); groß-feine GBS = GBS-GF (mittlerer Durchmesser 1,8 - 4 µm).

^c Gemäß EICKHOFF (2001). Diese Werte wurden für die weiteren Berechnungen verwendet.

^d Berechnet aus Staubmasse und Materialdichte.

^e Mit der Ausnahme von Quarz (s. Fußnote i), Dieselruß (s. Fußnote v), hydrophobem TiO₂ und amorphem SiO₂ wurde der Anteil des langfristig in der Lunge retinierten Staubes durchgängig mit 2/3 der instillierten Dosis im Mittel einer Gruppe angenommen; dies ist eher im oberen Bereich veröffentlichter Daten (POTT und ROLLER, 2005; DRISCOLL et al., 2000).

Tab. 3.1 Fortsetzung

Staub GBS-Größenklasse ^b	Retin. Staubvolumen [$\mu\text{L/g}$ Lunge] ^f	Anzahl Ratten <i>at start</i> / <i>at risk</i> ^g	50 % ^h <i>survival</i> [Wo.]	% Ratten mit prim. Lu.-tu. _{makro.} ⁱ	Ratten mit mind. 1 primären Lungentumor ^j (Anz. nur benigne + Anz. maligne = % d. Tiere <i>at risk</i>)	Tumorh. pro μL ret. GBS-Volumen [%/ μL] ^k	% Lungen mit Metastasen von anderen Lokalisationen
<i>Teil 2: Nicht-Bergbaustäube (3. Staffel; Beginn 21. Nov. 1995)</i>							
Dieselruß GBS-KF	0,9	48 / 45	117	4,4	1 + 1 = 4,4 %	3,1	20,0
	1,8	48 / 47	115	12,8	7 + 5 = 25,5 %	9,4	21,3
	3,6	48 / 45	108	31,1	12 + 6 = 40,0 %	7,4	22,2
TiO ₂ GBS-UF	1,7	48 / 42	114	35,7	9 + 13 = 52,4 %	20,2	14,3
	3,5	48 / 46	114	47,8	8 + 23 = 67,4 %	12,7	15,2
	7,0	48 / 46	104	43,5	11 + 21 = 69,6 %	6,3	15,2
TiO ₂ , hydrophob, kein GBS		24 / 11	86	0,0	0 + 0 = 0,0 %		9,1
		24 / 15	114	20,0	1 + 0 = 6,7 %		6,7
Test Toner GBS-GF	22	24 / 24	111	41,7	6 + 7 = 54,2 %	1,6	0,0
	44	24 / 24	101	62,5	7 + 14 = 87,5 %	1,3	16,7
TiO ₂ GBS-KF	6,8	48 / 44	108	22,7	7 + 6 = 29,5 %	3,0	11,4
	14	48 / 44	113	36,4	17 + 11 = 63,6 %	3,0	2,3
ZrO ₂ GBS-GF	4,6	48 / 47	115	12,8	4 + 0 = 8,5 %	1,3	10,6
Lungenstaub GBS-KF	13	40 / 40	117	57,5	5 + 27 = 80,0 %	4,0	20,0
	27	40 / 34	107	47,1	ohne Histologie	–	–
SiO ₂ amorph, kein GBS		40 / 37	113	8,1	ohne Histologie	–	–
		40 / 35	112	0,0	2 + 0 = 5,7 %		14,3
Unbehandelt (2)	–	48 / 46	113	0,0	0 + 0 = 0,0 %	–	13,0

^f Berechnet unter der Bedingung, dass das Lungen-Frischgewicht der Kontrolltiere 1,5 g beträgt. Gemäß GREIM (1997) wurde der Allgemeine Staubgrenzwert unter Bezug auf eine Staubvolumenbelastung in Höhe von 1 μL pro g Lunge ermittelt.

^g Ratten *at risk* = für Tumorfrequenz auswertbare Ratten (Definition in Abschnitt 2.4.3; wesentliche Kriterien: Überlebenszeit mind. 26 Wochen, Lunge hinreichend untersucht).

^h Zeit nach der ersten intratrachealen Instillation, bis zu der 50 % der Gruppe (abzüglich der im Anschluss an die Narkose zur Instillation gestorbenen Tiere) starben (siehe Abschnitt 2.4.2).

ⁱ Ratten mit einem oder mehreren makroskopisch gefundenen Lungentumoren; aufgrund des makroskopischen Gesamtbefundes des Tieres wurde ein primärer Sitz in der Lunge als sehr wahrscheinlich erachtet (Erläuterungen in Abschnitt 2.4.5).

^j Ratten mit einem oder mehreren histologisch bestätigten primären Lungentumoren. Die erste Zahl jeder Zeile gibt die Anzahl an Tieren an, bei denen nur ein oder mehrere benigne primäre Lungentumoren gefunden wurden, die zweite Zahl gibt die Anzahl an Tieren an, bei denen allein oder zusätzlich zu einem benignen Tumor mindestens ein maligner primärer Lungentumor gefunden wurde. Die Summe dieser Zahlen ist die Zahl von Ratten mit Tumor im Sinne des Tests, sie ist nach dem Gleichheitszeichen als Prozentsatz bezogen auf die Zahl an Ratten *at risk* angegeben.

Fortsetzung Fußnoten zu Tab. 3.1 nächste Seite

Fortsetzung Fußnoten zu Tab. 3.1:

- ^k Verhältnis der beobachteten Tumorfrequenz zur Dosis, diese ausgedrückt als in der Lunge retiniertes Staubvolumen. Maß der kanzerogenen Potenz des Staubs in der jeweiligen Gruppe zum Vergleich mit anderen Gruppen des Versuchs.
- ^m 0,9%ige, phosphatgepufferte NaCl-Lösung; bei einigen Gruppen Zugabe von Tween 80: 0,5 % bei der Kontrollgruppe, bei den Kohlenstäuben, Dieselruß und Rußen; 1 % beim hydrophoben TiO₂ und beim Toner.
- ⁿ Wegen einer besonderen Tendenz von Quarzstaub, in die Lymphknoten zu gelangen, ist zu erwarten, dass der langfristig in der Lunge retinierte Anteil von Quarzstaub in der Lunge geringer ist als bei den GBS. In früheren Instillationsversuchen mit Quarz DQ12 führten bronchiale Clearance und der „Lymphotropismus“ zu einem retinierten SiO₂-Gehalt von rund 1/3 der instillierten Masse nach 10 Monaten (Brockhaus, A., Pott, F., 1968/69, unveröffentlicht; Ergebnisse im Anhang, Abschnitt 8.4). Dies stimmt ungefähr mit Retentionsdaten des Inhalationsversuchs von BELLMANN et al. (1991) überein. Deshalb wurde für DQ12 ein zusätzlicher Reduktionsfaktor von 2/3 angenommen (abgeschätzte Retention = instillierte DQ12-Dosis x 2/3 x 2/3). Beispiel: Instillation von 10 mg Quarz mit einer Dichte von 2,6 g/mL führt zu einem langfristig retinierten Staubvolumen von 1,7 µL. Der kursiv angegebene Wert in der Spalte „Tumorf. pro µL ret. GBS-Volumen [%/µL]“ ist aber so berechnet, als läge auch der Quarzgehalt pro Lunge wie bei den GBS langfristig bei 2/3 der instillierten Menge; diesem Wert ist das Zeichen „>“ vorangestellt, um auf die besonderen Verhältnisse hinzuweisen.
- ^o 37 Tiere nach makroskopischem Befund (1 Tier nicht histologisch untersucht).
- ^{p-t} Irrtümlich 1 zusätzliche Instillation: diese Instillationen sind in den Fußnoten p bis t im Detail benannt. Das dadurch zusätzlich instillierte Staubvolumen wurde bei der Berechnung des instillierten Gesamtvolumens berücksichtigt.
- ^p 1 x 2,5 mg Dieselruß.
- ^q 1 x 3 mg Dieselruß.
- ^r 1 x 6 mg Dieselruß.
- ^s 1 x 3 mg TiO₂-UF hydrophil.
- ^t Erste Untergruppe der 15mg-Gruppe: 1 x 6 mg TiO₂-UF hydrophil.
- ^u Zweite Untergruppe der 15mg-Gruppe: keine zusätzliche Instillation.
- ^v Die Ergebnisse der beiden Untergruppen der 15mg-Gruppe sind in dieser Zeile zusammengefasst; diese Daten sind die Basis für weitere Berechnungen.
- ^w Die spezifische Oberfläche von extrahiertem Dieselruß wurde für die statistischen Berechnungen verwendet.
- ^x Dichtewert für den Kohlenstoffkern von Dieselruß, verwendet in Analogie zu technisch hergestelltem Ruß. Wegen der geringeren Dichte der organischen Stoffe ist das Volumen der instillierten Dosis höher als aus der instillierten Masse und der Dichte von elementarem Kohlenstoff berechnet.
- ^y Gemäß UBA (1999) ist anzunehmen, dass 50 % der Masse des nativen Dieselrußes aus Lkws aus organischen Stoffen bestehen und dass sich diese in der Lunge lösen. Daher reduzieren sich 7,5 mg instillierter Gesamtpartikelmasse in der Lunge infolge von zwei Mechanismen: 2/3 dieser Masse (5 mg bzw. 2,7 µL) würden gemäß Fußnote e voraussichtlich langfristig in der Lunge retiniert werden, es ist aber anzunehmen, dass sich dieser Anteil durch das Lösen organischer Stoffe weiter um 50 % auf 2,5 mg bzw. 1,35 µL reduziert.
- ^z Die Partikelgröße wurde von der Lieferfirma mit < 5 µm angegeben. Rödelsperger (persönliche Mitteilung) fand ein heterogenes Material sowohl mit ultrafeinen Partikeln als auch mit viel größeren Partikeln bis zu 10 µm gemäß Rasterelektronenmikroskopie. Aus der relativ geringen spezifischen Oberfläche (4,4 m²/g) ist aber zu schließen, dass der Staub angemessen der Gruppe der groß-feinen GBS zuzuordnen ist.

3.3 Langzeit-Verträglichkeit und Ergebnis des Kanzerogenitätstests

In der Tab. 3.3 sind die Informationen über die Langzeit-Verträglichkeit der Stäube in Form von Kenngrößen der Überlebenszeiten und der Körpergewichtsentwicklung zusammengefasst (Details s. Anhang, 8.1 und 8.2). Als Grundregel wurde die Überlebenskurve jeder behandelten Gruppe anhand von Wilcoxon- und Log-Rang-Test mit den Kontrollgruppen der jeweiligen Versuchsstaffel verglichen, d. h. bei Staffel 95/1 mit der Vehikelkontrolle 95/1 A und bei den Staffeln 95/5 und 95/6 mit den jeweiligen unbehandelten Kontrollgruppen 95/5 F und 95/6 K. Nach diesen Vergleichen traten in den Staffeln 95/1 und 95/6 fast keine signifikanten Unterschiede auf, in der Staffel 95/5 jedoch zahlreiche (s. Anhang, Table 8.2). Die unbehandelte Gruppe F von Staffel 95/5 zeigte - auch im Vergleich mit der unbehandelten Gruppe K von 95/6 - eine ungewöhnlich hohe Überlebenszeit (Fig. 8.39). Daher wurden die Gruppen von 95/5 zusätzlich mit den Vehikelkontrollen von 95/1 verglichen und die statistisch signifikanten Unterschiede im Vergleich zu der unbehandelten Gruppe 95/5 F werden nicht als ein Effekt der Stäube angesehen, zumal da eine entsprechende Signifikanz in Staffel 95/6 nicht auftrat.

Die Tab. 3.3 enthält in kurzer Form auch die prozentualen Tumorhäufigkeiten und die Ergebnisse ihrer statistischen Prüfung für die einzelnen Staubgruppen gegenüber den mitlaufenden Kontrollen. Details der Tumorhäufigkeiten enthalten außerdem die Abschnitte 3.5 bis 3.7. Im Hinblick auf das Ergebnis der Kanzerogenitätsprüfung unter Berücksichtigung des Gesichtspunktes der maximal verträglichen Dosis im herkömmlichen Sinn lässt sich folgendermaßen zusammenfassen:

Als einzigem Staub wurde mit der geplanten Einzeldosis von 6 mg hydrophobem TiO_2 *ultrafein* eine unerwartete akute Mortalität beobachtet, in anschließenden Untersuchungen wurde eine LD_{50} von fast 1 mg bei jungen Ratten ermittelt (s. Abschnitt 5.6.3). Damit ist auf eine erheblich höhere Toxizität, als diejenige von amorphem SiO_2 zu schließen, das aufgrund von Vorversuchen mit Einzeldosen von 3 mg verabreicht wurde.

Die Befunde bei den anderen Versuchsgruppen lassen sich folgendermaßen zusammenfassen: Es waren keine Zeichen feststellbar, die auf eine akute Toxizität hinwiesen. Die subchronische bis chronische Verträglichkeit war mit Ausnahme von Quarz sowie den Aluminium-Stäuben gut. Die mediane Überlebenszeit der Gruppe betrug bei mindestens einer Dosis eines jeden Staubes mindestens 104 Wochen, bei zahlreichen mit Staub behandelten Gruppen betrug sie mehr als 110 Wochen (das war die mediane Überlebenszeit der Vehikelkontrollgruppe). Der Verlauf der Überlebenszeiten der mit Staub behandelten Gruppen war nur in wenigen Fällen statistisch signifikant erniedrigt gegenüber der Vehikelkontrollgruppe, bei jedem Staub war er bei mindestens einer Dosis - in der Regel bei zwei oder mehr Dosierungen - nicht signifikant verändert. Bei keiner mit irgendeinem Staub behandelten Tiergruppe war das mittlere Körpergewicht der Versuchstiere zum Zeitpunkt $\frac{1}{2}$ Jahr oder 1 Jahr um 10 % oder mehr gegenüber der mitlaufenden Kontrollgruppe verringert. Nach dem empfindlichen Student's t-Test ergab sich für diese Einzelzeitpunkte nur in wenigen Fällen ein signifikantes Ergebnis: Die stärkste Körpergewichtsverringering betrug

Tab. 3.2 Versuchsgruppen, Dosierung und Auswertung der Mortalität im Zeitraum der Instillationen (mit Ausnahme von hydrophobem TiO₂: max. 20 Wochen) und bis zu 26 Wochen (mögliche Ursachen: Narkosetod, akute bis subchronische Toxizität, noch kein Tumorverdacht)

Gruppen- nummer	Staub	Tiere zu Beginn (at start)	mg pro Inst. u. Wo.	Anzahl der Instillationen		Gestorbene Tiere	
				pro Tier, n. Plan	pro Gruppe, ausgeführt	im Inst.- zeitraum ≤ 26 Wo.	nach Inst.
<i>Teil 1: Bergbaustäube (Kohlenstaubversuch = 1. Staffel)</i>							
95/1 A	Vehikel 0,4 mL ^a	48	0	20	956	1	0
95/1 BI	Magerkohle	48	6	10 ^b	528	0	0
95/1 BII	< 0,1 % SiO ₂	48	6	20	960	0	0
95/1 EI	Untere Fettkohle	48	6	10	480	0	0
95/1 EII	< 0,1 % SiO ₂	48	6	20	941	3	0
95/1 DI	Fettkohle,	48	6	10	480	0	0
95/1 DII	1,3 % SiO ₂	48	6	20	944	2	0
95/1 CI	Gasflammkohle	48	6	10	479	1	0
95/1 CII	9,0 % SiO ₂	48	6	20	955	2	0
95/1 FI	Gestein	48	6	10	480	0	0
95/1 FII	16,7 % SiO ₂	48	6	20	960	0	0
95/1 GI	Quarz,	38	1	5	190	0	0
95/1 GII	99,1 % SiO ₂	38	1	10	366	2	0
95/1 GIII		38	2	10	378	1	0
<i>Teil 2: Nicht-Bergbaustäube (2. Staffel)</i>							
95/5 A I	Ruß, fein	48	6	5	238	2	0
	+ Dieselruß ^c		2,5	0	48		
95/5 A II	Ruß, fein	48	6	10	468	2	0
	+ Dieselruß ^c		3	0	48		
95/5 A III	Ruß, fein	48	6	20	956	1	0
	+ Dieselruß ^c		6	0	48		
95/5 B I	Ruß, ultrafein	48	1,5	5	240	0	0
	+ TiO ₂ P 25 ^c		3	0	48		
95/5 B IIa	Ruß, ultrafein	21	3	5	105	0	0
	+ TiO ₂ P 25 ^c		6	0	21		
95/5 B IIb	Ruß, ultrafein	27	3	5	135	0	0
95/5 B III		48	6	5	240	0	0
95/5 B IV		48	6	10	479	1	0
95/5 C I	Al-oxid,	48	6	5	240	2	0
95/5 C II	ultrafein	48	6	10	480	0	0
95/5 D I	Al-silikat,	48	6	5	240	0	0
95/5 D II	ultrafein	48	6	10	480	0	0
95/5 E I	Kaolin, fein	48	6	10	480	0	0
95/5 E II		48	6	20	960	0	0
95/5 F	unbehandelt (1)	48	0	0	0	0	0

Tab. 3.2 Fortsetzung

Gruppen- nummer	Staub	Tiere zu Beginn (at start)	mg pro Inst. u. Wo.	Anzahl der Instillationen		Gestorbene Tiere	
				pro Tier, n. Plan	pro Gruppe, ausgeführt	im Inst.- zeitraum	nach Inst. ≤26 Wo.
<i>Teil 2: Nicht-Bergbaustäube (3. Staffel)</i>							
95/6 AI	Dieseleruß	48	2,5	3	144	0	0
95/6 AII		48	3	5	240	0	0
95/6 AIII		48	6	5	240	1	0
95/6 BI	TiO ₂ , ultrafein,	48	3	5	240	1	0
95/6 BII	hydrophil (P 25)	48	6	5	240	0	0
95/6 BIII		48	6	10	472	1	0
95/6 CI	TiO ₂ , ultrafein,	24	0,5 ^d	15	228	13	0
95/6 CII	hydrophob (P 805)	24	0,5 ^d	30	594	8	0
95/6 DI	Toner, mittl.	24	6	10	240	0	0
95/6 DII	D. 3,5 µm	24	6	20	480	0	0
95/6 EI	TiO ₂ , fein	48	6	10	474	2	1 ^e
95/6 EII		48	6	20	955	2	0
95/6 F	ZrO ₂	48	6	10	480	0	0
95/6 GI	Lungenstaub	40	6	10	400	0	0
95/6 GII		40	6	20	772	6	0
95/6 HI	SiO ₂ , amorph	40	3	5	200	0	0
95/6 HII		40	3	10	382	2	3 ^f
95/6 K	unbehandelt (2)	48	0	0	0	0	1 ^g
Gesamt		2050			21832	56	5
Gesamt, ohne P 805		2002			21010	35 ^h	5

^a Trägerflüssigkeit phosphatgepufferte 0,9 %ige NaCl-Lösung; Zusatz von 0,5 % Tween 80 in der Kontrollgruppe des Kohlenstaubversuchs, bei den vier Kohlenstäuben und den beiden technisch hergestellten Rußstäuben; 1 % Tween 80 bei TiO₂ P 805 und Toner.

^b Irrtümlich 11mal instilliert, dadurch Gesamtdosis 66 mg.

^c Irrtümlich in der 11. Versuchswoche verabreicht, dadurch pro Tier 1 Instillation mehr als geplant (s. auch Abschnitt 2.3 und Tab. 3.1). Unterscheidung der Gruppen 95/5 BIIa und BIIb dementsprechend nachträglich (Entdeckung des Fehlers nach dem 21. Tier der ursprünglichen Gruppe 95/5 BII).

^d Geplante Einzeldosis 6 mg; wegen unerwarteter akuter Toxizität (POTT et al., 1998) war eine Reduzierung der Einzeldosis bis auf 0,5 mg pro Woche erforderlich.

^e Todesursache ungeklärt, Abdomen ausgefressen.

^f Tiere zur Staubansicht und histologischen Untersuchung von Frühreaktionen getötet.

^g Tier wegen Hämaturie getötet.

^h Letalität pro Instillation = 0,17 %

Tab. 3.3 Langfristige Verträglichkeit der Stäube und Ergebnis des Kanzerogenitätstests

Staub	Instillationen x mg/Inst.	Anzahl Ratten		50 % ^b survival [Wo.]	Mittleres Körpergewicht [g] und % Unterschied zur Kontrolle ^c			% ^d Lu.-Tu.	p-Wert Fisher exact test	
		at start	at ^a risk		½ Jahr	1 Jahr				
<i>Teil 1: Bergbaustäube (Kohlenstaubversuch), Versuchsstaffel 95/1</i>										
Trägerflüssigk.	20 x 0	48	47	110	260	–	296	–	0,0	–
Magerkohle GF	11 x 6	48	47	109	254	-2,1	285	-3,7	57,4	0,0000
	20 x 6	48	48	101	255	-1,9	292	-1,6	64,6	0,0000
Untere Fettkohle GF	10 x 6	48	48	108	256	-1,2	285	-3,9	54,2	0,0000
	20 x 6	48	44	106	260	+0,2	297	+0,3	77,3	0,0000
Fettkohle GF	10 x 6	48	48	106	258	-0,7	293	-1,0	56,3	0,0000
	20 x 6	48	45	99	249	-4,1*	276	-6,8*	80,0	0,0000
Gasflamkohle GF	10 x 6	48	43	108	256	-1,4	283	-4,4	72,1	0,0000
	20 x 6	48	45	95	257	-1,2	289	-2,6	84,4	0,0000
Gestein GF	10 x 6	48	47	102	256	-1,5	282	-4,8	34,0	0,0000
	20 x 6	48	45	105	254	-2,2	275	-7,1*	57,8	0,0000
Quarz	5 x 1	38	35	103	258	-0,5	286	-3,5	65,7	0,0000
	10 x 1	38	35	106	250	-3,8	280	-5,5	71,4	0,0000
	10 x 2	38	36	100**	250	-3,6	277	-6,6*	77,8	0,0000
<i>Teil 2: Nicht-Bergbaustäube, Versuchsstaffel 95/5</i>										
Ruß KF	5 x 6 ^f	48	45	106	257	+0,1	284	-0,3	60,0	0,0000
	10 x 6 ^f	48	46	104	254	-1,4	278	-2,4	63,0	0,0000
	20 x 6 ^f	48	47	108	259	+0,9	280	-1,8	- ^e	–
Ruß UF	5 x 1,5 ^f	48	46	110	259	+0,9	284	-0,5	67,4	0,0000
	5 x 3 ^f	21	18	112	254	-1,3	275	-3,5	88,9	0,0000
	5 x 3	27	27	107	254	-1,3	275	-3,5	77,8	0,0000
	5 x 6	48	48	108	257	±0,0	277	-2,8	82,2	0,0000
	10 x 6	48	47	100	260	+0,9	276	-3,2	83,3	0,0000
Al-oxid UF	5 x 6	48	44	111	249	-3,3*	271	-4,8*	- ^e	–
	10 x 6	48	47	97***	250	-2,7	265	-6,9**	81,8	0,0000

Tab. 3.3 Fortsetzung

Staub	Instillati- onen x mg/Inst.	Anzahl Ratten		50 % ^b survival [Wo.]	Mittleres Körpergewicht [g] und % Unterschied zur Kontrolle ^c				% ^d Lu.- Tu.	p-Wert Fisher exact test
		at start	at ^a risk		½ Jahr		1 Jahr			
Al-silikat UF	5 x 6	48	47	107	252	-2,2	273	-4,1*	59,6	0,0000
	10 x 6	48	45	108	249	-3,2	269	-5,5**	75,6	0,0000
Kaolin GF	10 x 6	48	48	115	246	-4,5**	270	-5,4**	41,7	0,0000
	20 x 6	48	47	121	248	-3,4*	270	-5,2**	74,5	0,0000
unbeh. (1)	-	48	46	124	257	-	285	-	2,2	-
<i>Teil 2: Nicht-Bergbaustäube, Versuchsstaffel 95/6</i>										
Dieselruß KF	3 x 2,5	48	45	117	251	-0,9	279	-2,4	4,4	0,24
	5 x 3	48	47	115	256	+0,8	287	+0,6	25,5	0,0001
	5 x 6	48	45	108	257	+1,4	288	+0,6	40,0	0,0000
TiO ₂ UF	5 x 3	48	42	114	245	-3,3	270	-5,4*	52,4	0,0000
	5 x 6	48	46	114	251	-1,2	280	-2,0	67,4	0,0000
	10 x 6	48	46	104***	254	+0,3	283	-0,9	69,6	0,0000
TiO ₂ hydro- phob	15 x 0,5	24	11	86 (*)	265	+4,6	302	+5,6	0,0	-
	30 x 0,5	24	15	114	259	+2,1	289	+1,0	6,7	0,25
Toner GF	10 x 6	24	24	111	256	+0,9	288	+0,8	54,2	0,0000
	20 x 6	24	24	101	259	+2,2	293	+2,6	87,5	0,0000
TiO ₂ KF	10 x 6	48	44	108*	255	+0,4	288	+0,7	29,5	0,0000
	20 x 6	48	44	113	258	+1,9	290	+1,6	63,6	0,0000
ZrO ₂ GF	10 x 6	48	47	115	252	-0,8	284	-0,7	8,5	0,061
Lungenstaub KF	10 x 6	40	40	117	255	+0,5	285	-0,4	80,0	0,0000
	20 x 6	40	34	107	250	-1,6	275	-3,6	- ^e	-
SiO ₂ amorph	5 x 3	40	37	113	250	-1,3	279	-2,3	- ^e	-
	10 x 3	40	35	112	257	+1,1	293	+2,5	5,7	0,18
unbeh. (2)	-	48	46	113	254	-	286	-	0,0	-

Fußnoten siehe nächste Seite

Fußnoten zu Tab. 3.3:

- ^a Ratten *at risk* = für Tumorfähigkeit auswertbare Ratten; Definition s. Abschnitt 2.4.3.
- ^b Zeit nach der ersten intratrachealen Instillation, bis zu der 50 % der Gruppe (bezogen auf alle Tiere mit Ausnahme offensichtlicher Narkosefolgen und mit Ausnahme von Tieren, die für besondere Untersuchungen getötet wurden (d. h. insgesamt ausgenommen 41 Tiere von 2050 am Beginn) starben (s. Abschnitt 2.4.2). Die Sternchensymbole geben bei den Versuchsstaffeln 95/1 und 95/6 die statistische Signifikanz einer Veränderung der Überlebenszeiten im Vergleich zur mitlaufenden Kontrollgruppe nach dem jeweils empfindlicheren von Wilcoxon- und Log-Rang-Test wieder (diese Tests prüfen den Verlauf der Überlebenszeiten und nicht nur den Median). Bei Versuch 95/5 bezieht sich die Angabe auf die Vehikelkontrollgruppe von Staffel 95/1 (s. Text):
kein Stern: $p > 0,05$; *: $p < 0,05$; **: $p < 0,01$; ***: $p < 0,001$.
Bei Titandioxid *hydrophob* waren mehrere Todesfälle ganz augenscheinlich auf Substanztoxizität zurückzuführen, der statistische Test bezieht sich hier auf die Langzeit-Überlebenschancen.
- ^c Die Zahlen mit Plus/Minus-Zeichen geben den Unterschied zur Kontrolle in Prozent des mittleren Körpergewichts der Kontrolle an. Die Sternchensymbole beziehen sich auf die statistische Signifikanz einer Veränderung der Körpergewichte im Vergleich zur aktuellen Kontrollgruppe nach Student's t-Test. Symbole siehe Fußnote b.
- ^d Prozentualer Anteil der Ratten mit mindestens einem histologisch diagnostizierten primären Lungentumor an der Anzahl der Ratten *at risk*. Die p-Werte gemäß Fisher's exact test der nächsten Spalte beziehen sich auf den Vergleich der einzelnen Gruppen mit der mitlaufenden Kontrolle der jeweiligen Versuchsstaffel (Trägerflüssigkeit bzw. unbehandelte Tiere). Die Spontanrate bei den historischen Kontrollen des Rattenstamms und bei den drei Kontrollgruppen dieses Versuchs ist extrem niedrig, ein Zusammenfassen der drei Kontrollgruppen ist daher nicht abwegig. Im Vergleich zur kombinierten Tumorfähigkeit von 1 / 139 der drei Kontrollgruppen ist die Tumorfähigkeit von 4 / 47 bei dem ZrO_2 -Staub mit einem p-Wert von 0,015 signifikant.
- ^e Für diese Versuchsgruppen wurde im Rahmen dieser Studie keine systematische histologische Untersuchung der Lungen durchgeführt.
- ^f Irrtümlich 1 zusätzliche Instillation (s. Abschnitt 2.3 sowie Tab. 3.1, 3.2).

dabei 7,1 % (höhere Dosis Gesteinsstaub). Auffällige Körpergewichtsveränderungen - lediglich im Bereich von etwa 5 %, jedoch bei mehreren Dosen - wurden nur bei Quarz sowie bei den Aluminium-Stäuben beobachtet.

Mit Quarz und allen GBS traten auffällig erhöhte Lungentumorfähigkeiten auf. In der Regel war die Erhöhung der Häufigkeiten histologisch bestätigter primärer Lungentumoren bei *mehr als einer Dosis* gegenüber der mitlaufenden Kontrolle *statistisch signifikant*. Zirkondioxid wurde nur in *einer Dosis* geprüft, die Lungentumorfähigkeit in dieser Gruppe betrug 4 / 47, dies ist zwar im Vergleich zur mitlaufenden Kontrollgruppe mit einem p-Wert von 0,061 formal statistisch nicht signifikant, es erscheint aber im Vergleich mit der niedrigen Lungentumorraten der historischen Kontrollen und der drei Kontrollgruppen des Versuchs (1 / 139 = 0,72 %) signifikant und die Tumorfähigkeit von 8,5 % beim ZrO_2 ist daher als wahrscheinlich substanzbedingt erhöht anzusehen. Der Staub der Bergmannslunge führte in beiden Dosen gemäß makroskopischem Befund zu deutlich erhöhten Lungentumorfähigkeiten, es wurde aber nur eine der beiden Versuchsgruppen histologisch untersucht. Gemäß der hohen, histologisch bestätigten Lungentumorfähigkeit von 80 % bei der niedrigeren Dosis und den makroskopischen Befunden bei beiden Dosen ist von einem Effekt bei beiden Dosierungen auszugehen. Beim hydrophoben Titandioxid, das gemäß unserer Definition nicht zu den GBS zu zählen ist, verblieben nach der akuten Toxizität zu

wenig Tiere im Langzeitversuch, um aussagekräftig im Hinblick auf einen kanzerogenen Effekt ausgewertet werden zu können. Bei der niedrigsten Dieselrußdosis (GBS) sowie bei der höheren Dosis des amorphen Siliziumdioxids (kein GBS) wurden in jeweils 2 Lungen histologisch primäre Lungentumoren gefunden. Die entsprechenden prozentualen Tumorhäufigkeiten von 4,4 bzw. 5,7 % sind nicht statistisch signifikant, in Anbetracht der niedrigen Lungentumorrate der historischen Kontrollen und der drei Kontrollgruppen des Versuchs ist aber auch in diesen Gruppen ein substanzbedingter Effekt in Erwägung zu ziehen, der im Falle des amorphen SiO₂ mit positivem Ergebnis überprüft wurde (ERNST et al., 2005).

Tab. 3.4 Lungengewichte (ohne Trachea) und Lungenvolumina nach mindestens 28-monatiger Versuchszeit (Kohlenstaubversuch)

Behandlung i.tr.	Lungengewicht [g] Mittelw. ± Std.abw. (Stichprobenumfang)	Lungenvolumen [mL] Mittelw. ± Std.abw. (Stichprobenumfang)
20 x 0,4 mL Trägerflüssigk.	1,8 ± 0,3 (5)	2,3 ± 0,6 (3)
60 mg Staub ^a	3,3 ± 1,1 (24) (Tiere ohne größeren Tu. ^b : 3,0 ± 0,6 (21))	4,2 ± 0,8 (11)
120 mg Staub ^a	4,6 ± 1,5 (26) (Tiere ohne größeren Tu. ^b : 4,3 ± 1,5 (18))	5,7 ± 2,0 (10)
5 mg Quarz	5,9 ± 0,1 (2) (Tiere ohne größeren Tu. ^b : –)	7,0 (1)
10 mg Quarz	6,2 ± 2,6 (2) (Tiere ohne größeren Tu. ^b : 4,3 (1))	–
20 mg Quarz	6,9 ± 0,8 (3) (Tiere ohne größeren Tu. ^b : 6,9 ± 1,1 (2))	7,9 ± 0,6 (3)

^a Kohlen- und Grubenstäube

^b Nur die Tiere berücksichtigt, bei denen nach makroskopischem Befund keine Lungentumoren festgestellt worden waren, für die sich eine Summe der Durchmesser von 2 cm oder größer ergab (bei der Dosis 120 mg Staub ist außerdem ein Messwert von 9,3 g als offensichtlicher Ausreißer nicht berücksichtigt).

3.4 Makroskopisches Erscheinungsbild der Lungen, Lungengewichte und -volumina

Die Protokollierung der makroskopischen Befunde liegt vor, wurde aber nur bezüglich der tumorösen Veränderungen systematisch ausgewertet. Darüber hinaus lässt sich allgemein feststellen, dass nach Instillation von Stäuben mit deutlicher Eigenfarbe die Verteilung in der Lunge sich auf der Lungenoberfläche abbildet. Typische Veränderungen aufgrund der Staubinstillationen sind vergrößerte Lungenlappen, unregelmäßige Oberflächen, elfenbeinfarbene Flecken, unter denen das Gewebe verfestigt ist. Emphysem und abszedierende Bezirke waren auch nach hohen Staubdosen selten. Die beschriebenen Veränderungen sind selbstverständlich im Mittel dosisabhängig, aber doch mit deutlichen interindividuellen Unterschieden. Im Mittel über die jeweilige Gruppe betrachtet, erscheinen die nicht-tumorösen Lungenveränderungen selbst bei der hohen Dosis von 120 mg Kohlenstaub geringer als bei der niedrigsten Quarzdosis von 5 mg. Zusätzlich zu diesen Veränderungen waren in vielen Fällen deutlich Tumoren als stecknadelkopf- bis über kirschkernegroße, rundliche, umschriebene Hervorhebungen auf der Lungenoberfläche zu erkennen. In anderen Fällen hatte der Tumor ganze Lungenlappen verformt. Am Versuchsende wurden viele Lungentumoren in der Größe von 1 bis 2 cm gefunden.

In einzelnen Gruppen trat ein besonderes Erscheinungsbild der Lungen hervor. Dabei war das Organ nicht wie nach Quarzgabe verhärtet und vergrößert, sondern die Volumenänderung war nur gering und die verfestigte Konsistenz des Organs ließ sich am ehesten mit dem Begriff *gummiartig* charakterisieren. Diese Veränderung fiel vor allem bei den Aluminiumoxid- und Aluminiumsilikat-Stäuben ins Auge. Eine gezielte Durchsichtung der Sektionsprotokolle ergab, dass der Begriff gummiartig dort für die Lungen von 31 Tieren verwendet wurde (bei maximal 6 Tieren pro Gruppe). Darunter sind 20 Tiere, die mit Aluminiumoxid- oder Aluminiumsilikat (bzw. Kaolin) behandelt worden waren. Für keine der anderen Gruppen wurde der Begriff bei mehr als 2 Tieren protokolliert.

Tab. 3.4 enthält die Daten zu Lungengewichten und -volumina, die am Versuchsende des Kohlenstaubversuchs stichprobenartig bei einigen Tieren gemessen wurden.

3.5 Histologische Diagnosen der Lungentumoren

In den Tabellen 3.5 und 3.6 ist die Zahl der einzelnen Typen von Lungentumoren der beiden Versuchsteile nach histologischer Diagnose getrennt aufgeführt. Die in den Spalten unter den histologischen Typen angegebenen Zahlen nennen die Zahl der Tiere mit mindestens einem Tumor des jeweiligen Typs, dabei können je Tier auch mehrere einzelne Tumoren desselben histologischen Typs aufgetreten sein. Eine Übersicht über die Zahl von Tieren mit einem und mehreren Tumoren ist für den ersten Versuchsteil bei POTT und ROLLER (2003) enthalten. Diese Zahlen sind aber im Rahmen der Fragestellung nicht weiter von größerer Bedeutung, eine solche

Tab. 3.5 Histopathologische Diagnosen der Lungentumoren des Teils 1 (Kohlenstaubversuch), Anzahl der Ratten pro Versuchsgruppe mit dem jeweils bezeichneten Tumor. (Diagnosen von H. Ernst, S. Rittinghausen und U. Mohr in POTT et al., 2000)

Staub	Instillat. x mg	Tiere at risk ^a	Br.alv.		Ad. ple. Ca	Ple.Ca			Epith.		> 1 Typ	Metast. ^b
			Ad	ACa		ni.k	z.k	k	ni.k	z.k		
Trägerflüssigkeit	20 x 0,4 mL	47	0	0	0	0	0		0	0	0	8
Magerkohle	11 x 6	47	3	16	1	1	7	7	0	12	9	8
	20 x 6	48	6	26	3	1	10	3	1	12	10	10
Untere Fettkohle	10 x 6	48	12	12	1	0	4	1	3	7	2	5
	20 x 6	44	3	23	3	4	12	4	1	14	12	6
Fettkohle	10 x 6	48	8	17	0	2	6	4	3	7	7	7
	20 x 6	45	9	18	1	4	8	8	0	17	11	11
Gasflammkohle	10 x 6	43	8	20	1	2	10	2	0	12	8	6
	20 x 6	45	6	20	0	4	8	5	0	18	6	4
Gestein	10 x 6	47	3	7	0	1	6	3	1	3	3	8
	20 x 6	45	5	11	0	2	5	6	1	6	3	7
Quarz	5 x 1	35	4	12	1	0	10	4	0	16	8	8
	10 x 1	35	7	16	0	1	8	2	0	16	6	4
	10 x 2	36	6	14	0	0	7	4	0	24	5	2
Summen ^c :		613	80	212	11	22	101	53	10	164		94

Abkürzungen der histopathologischen Tumordiagnosen in der Kopfzeile:

Br.alv. = bronchiolo-alveolärer Tumor

Ad = Adenom (gutartig)

ACa = Adenokarzinom (bösaartig), gleichbedeutend mit dem Terminus bronchiolo-alveoläres Karzinom. In den histopathologischen Befunden, die in die *Basis data sheets* (8.3) übertragen wurden, kommen beide Bezeichnungen vor; die Zahlen wurden für diese Tabelle zusammengefasst

Ad.ple.Ca = epithelialer Misch tumor mit Anteilen eines Adenokarzinoms und eines Plattenepithelkarzinoms (bösaartig)

Ple.Ca = Plattenepithelkarzinom (bösaartig)

Epith. = Epitheliom (gutartig)

ni.k = nicht keratinisierend

z.k = zystisch keratinisierend

k = keratinisierend

^a Ratten *at risk* = für Tumorfähigkeit auswertbare Ratten; Definition s. Abschnitt 2.4.3. (wesentliche Kriterien: Überlebenszeit mind. 26 Wochen, Lunge hinreichend untersucht).

^b Anzahl Ratten mit Lungenmetastase(n) eines Tumors mit primärem Sitz außerhalb der Lunge.

^c Von 613 auswertbaren Ratten (Ratten *at risk*) wurden bei 368 Tieren gut- und/oder bösaartige primäre Lungentumoren diagnostiziert, davon häufig mehr als 1 Tumor pro Lunge (siehe Tab. 3.6 und Text). In den dort genannten 368 Lungen wurden 653 Tumoren registriert; bei diesen 653 registrierten Tumoren fehlen die gutartigen derjenigen Lungen, in denen mehr als 1 gutartiger Tumor gefunden wurde, sodass im Mittel mehr als zwei Tumoren pro Lunge vorlagen.

Abkürzungen der histopathologischen Tumordiagnosen in der Kopfzeile von Tab. 3.6: siehe Tab. 3.5
Fußnoten zu Tab. 3.6:

- ^a Ratten *at risk* = für Tumorfrequenz auswertbare Ratten; Definition s. Abschnitt 2.4.3 (wesentliche Kriterien: Überlebenszeit mind. 26 Wochen, Lunge hinreichend untersucht).
- ^b Anzahl Ratten mit Lungenmetastase(n) eines Tumors mit primärem Sitz außerhalb der Lunge.
- ^{c-g} Irrtümlich 1 zusätzliche Instillation: diese Instillationen sind in den Fußnoten c bis g im Detail benannt. Das dadurch zusätzlich instillierte Staubvolumen wurde bei der Berechnung des instillierten Gesamtvolumens berücksichtigt.
- ^c 1 x 2,5 mg Dieselruß.
- ^d 1 x 3 mg Dieselruß.
- ^e 1 x 6 mg Dieselruß.
- ^f 1 x 3 mg TiO₂-UF hydrophil.
- ^g Erste Untergruppe der 15-mg-Gruppe: 1 x 6 mg TiO₂-UF hydrophil.
- ^h Zweite Untergruppe der 15-mg-Gruppe: keine zusätzliche Instillation.
- ⁱ Die Ergebnisse der beiden Untergruppen der 15mg-Gruppe sind in dieser Zeile zusammengefasst; diese Daten sind die Basis für weitere Berechnungen.
- ^j Anzahl auswertbarer Tiere durch akute Toxizität des hydrophoben TiO₂ P 805 stark verringert.

Differenzierung ist auch nach internationalen Standards für die Daten von Kanzerogenitätsversuchen nicht üblich, daher wurde hier auf eine solche Differenzierung verzichtet. Es ist lediglich eine gesonderte Spalte in den Tabellen 3.5 und 3.6 enthalten, die angibt, bei wie vielen Tieren mehr als 1 histologischer Tumortyp auftrat.

3.6 Zeitlicher Verlauf des Auftretens der Lungentumoren

Die zunehmende Zahl der GBS-behandelten Tiere mit primärem Lungentumor im Verlauf der Versuchszeit während des ersten Versuchsteils veranschaulicht Abb. 3.1. In den sich aus den Todeszeitpunkten der einzelnen Tiere ergebenden Kurven sind für die jeweiligen Dosen von 60 und 120 mg alle fünf kohlehaltigen Stäube zusammengefasst. Im ersten Versuchsjahr wurde kein Tier mit Lungentumor gefunden, die Mehrzahl der Tiere mit Lungentumor starb im Zeitraum zwischen zwei und zweieinhalb Jahren.

3.7 Vertrauensbereiche und statistische Vergleiche der Tumorfrequenzen in Abhängigkeit von der Dosis

Die Tab. 3.7 enthält die Ergebnisse einiger statistischer Auswertungen zu den Tumorfrequenzen. Als Grundinformation sind in der Tabelle zunächst für die meisten Versuchsgruppen die 95%-Vertrauensbereiche der Tumorfrequenzen gemäß der Binomialverteilung angegeben. In die Tab. 3.7 wurden nicht alle Versuchsgruppen aufgenommen, da die Tabelle vor allem einem ersten Ansatz der Frage nach Dosis-Frequenzbeziehungen dient. In Kanzerogenitätsversuchen besteht in der Regel die Frage, ob die Tumorfrequenzen in einzelnen Versuchsgruppen *gegenüber der Kontrollgruppe* erhöht sind. Diese Frage ist bereits in Tab. 3.3 beantwortet,

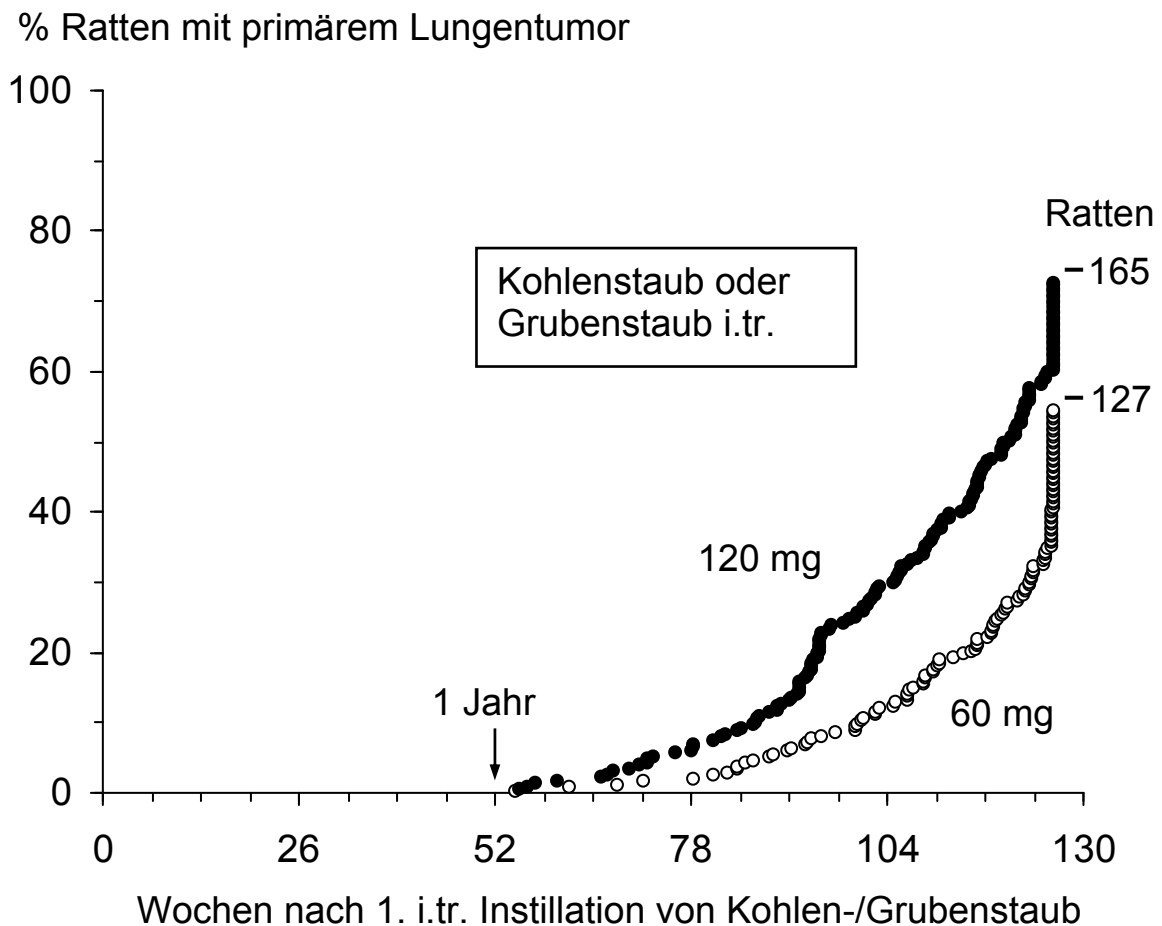


Abb. 3.1 Überlebenszeiten von Ratten mit histologisch diagnostiziertem primärem Lungentumor aus dem Kohlenstaubversuch in Prozent aller Ratten *at risk* in Abhängigkeit von der Staubdosis (jeweils alle 5 getesteten Kohlen- und Grubenstäube zusammengefasst). Von den im ersten Versuchsjahr gestorbenen wurde kein Tier mit Lungentumor gefunden; die Mehrzahl der Ratten mit Lungentumor starb im Zeitraum zwischen zwei und zweieinhalb Jahren, insbesondere nach Verabreichung der niedrigeren Dosis.

bei fast allen GBS-Versuchsgruppen sind die Tumorzahlfrequenzen statistisch signifikant gegenüber den Kontrollen erhöht. In Kanzerogenitätsversuchen wird dagegen in der Regel die Frage nicht untersucht, ob die Tumorzahlfrequenz bei einer höheren Dosis gegenüber einer kleineren Dosis erhöht ist, insbesondere wenn bereits die Tumorzahlfrequenz bei der kleineren Dosis signifikant ist. Der Versuch ist in einem solchen Fall „positiv“ und weitere Signifikanzvergleiche erübrigen sich dann in der Regel. Die Chancen sind auch relativ gering, gegenüber einer bereits signifikanten Tumorzahlfrequenz von vielleicht 30 % mit Tierzahlen von zirka 50 je Gruppe gemäß dem Fisher-Test eine Signifikanz einer weiteren Erhöhung auf z. B. 45 % nachzuweisen. Eine solche Analyse ist daher nur in besonderen Situationen angezeigt.

Bei der Diskussion der GBS liegt insofern eine besondere Situation vor, als bereits relativ früh nach dem Vorliegen der ersten Tumorergebnisse noch in den 1990er Jahren die Vermutung geäußert wurde, es handle sich um einen Überladungseffekt,

der unterhalb einer bestimmten Dosis überhaupt nicht, aber oberhalb dieser Dosis gewissermaßen schlagartig mit dann sehr hohen und im einzelnen nicht mehr dosisabhängigen Tumorfrequenzen auftreten. Wir sind daher für die Tabellen 3.7 und 3.8 der Frage nachgegangen, ob sich zwischen den Tumorfrequenzen niedrigerer und höherer Dosierungen Unterschiede finden lassen, die gemäß Fisher-Test als signifikant zu bezeichnen sind (d. h. p-Wert kleiner als 0,05). Auf Berechnungen mit dem empfindlicheren Cochran-Armitage-Trendtest haben wir verzichtet, da uns Ergebnisse des Fisher-Tests besser kommunizierbar schienen. Bei einigen der Stäube haben wir zwei Dosen verwendet, bei manchen Stäuben mehr als zwei Dosen. Für Tab. 3.7 sind einheitlich je Staub nur maximal zwei Dosen berücksichtigt: die „kleine“ Dosis ist daher entweder die niedrigere von zweien oder eben die niedrigste, die „große“ Dosis ist die höhere von zweien oder eben die höchste. Für ZrO_2 und Lungenstaub lassen sich die Vergleiche in Tab. 3.7 nicht vornehmen, da dort nur eine Dosis verwendet wurde bzw. nur die Lungen einer Dosisstufe histologisch untersucht wurden.

Die Tab. 3.7 zeigt, dass mit einer einzigen Ausnahme die Lungentumorfrequenzen bei den „großen“ Dosen höher sind als bei den „kleinen“ Dosen. Bereits dies spricht gegen die Annahme eines von der genauen Dosis unabhängigen Überladungseffektes. Die Ausnahme ist das ultrafeine Aluminiumoxid, bei dem bereits die niedrigere von zwei Dosen zu einer Tumorfrequenz von 82 % geführt hat. In mehreren Fällen ist gemäß Tab. 3.7 die höhere Tumorfrequenz bei der größeren Dosis signifikant höher als die niedrigere Tumorfrequenz bei der kleineren Dosis. Außerdem ist bei drei Gruppen der p-Wert relativ nahe an der Signifikanzgrenze, ohne formal statistische Signifikanz zu erreichen ($p = 0,059$ bis $0,079$). Da - wie oben gesagt - die Tierzahlen für solche Fragestellungen relativ klein sind, kann gefragt werden, ob durch angemessenes Zusammenfassen von Gruppen die statistische Power ausreichend erhöht wird. Die Tab. 3.8 bezieht sich auf diese Frage. Für Tab. 3.8 wurden jeweils die kleineren und die größeren Dosen von GBS, die gemäß ihrer mittleren Partikelgröße als ähnlich zu betrachten sind, zusammengefasst. Es ergibt sich dabei, dass sich die Bereiche der retinierten Staubdosen der einzelnen zusammengefassten Gruppen nicht wesentlich überlappen, wobei der Lungenstaub, von dem nur eine Dosis histologisch untersucht wurde, unberücksichtigt blieb. Das heißt.: die niedrigsten retinierten Volumendosen der vier ultrafeinen GBS reichen von 1,4 bis 6 $\mu\text{L/g}$ Lunge, die höchsten von 7 bis 13 $\mu\text{L/g}$ Lunge, diese Dosisbereiche überlappen sich also nicht. Bei den klein-feinen GBS haben wir den Dieselruß gesondert betrachtet, da die große Dosis dort im Bereich der kleinen Dosis der übrigen klein-feinen GBS einzuordnen wäre. Bei den groß-feinen GBS ergibt sich bei rund 21-22 $\mu\text{L/g}$ Lunge eine geringfügige Überschneidung der Dosisbereiche, die wir nicht als wesentlich erachten (wenn man die entsprechenden Gruppen herauslässt, werden die Unterschiede noch deutlicher bzw. es ändert sich an den Schlussfolgerungen nichts). Unter diesen, nach sachlogischen Überlegungen vorgenommenen Zusammenfassungen ergeben sich für alle Vergleiche der Tab. 3.8 statistisch signifikante Erhöhungen der Tumorfrequenzen bei der großen im Vergleich mit der kleinen Dosis, wobei in der Regel gleichzeitig die Tumorfrequenz bei der kleinen Dosis statistisch signifikant gegenüber den - ebenfalls zusammengefassten - Kontrollen erhöht ist. Ein klarerer Beleg für das Vorliegen von Dosis-Wirkungsbeziehungen bzw. Dosis-Häufigkeitsbeziehungen ist kaum zu fordern. Eine detaillierte Analyse der Dosis-Häufigkeitsbeziehungen mit Hilfe von Regressionsmodellen ist in Kapitel 4 beschrieben.

Tab. 3.7 Statistik zu Tumorfrequenzen in Abhängigkeit von der Dosis (s. Text)

Staub	Retin. Volumen [$\mu\text{L/g}$]	Ratten <i>at risk</i>	Ratten m. prim. Lu.-tu.	Tumorfrequenz		p-Wert gr. - kl. Dosis
				%	95%-Vertrauens- bereich [%]	
Trägerflüssigkeit	0	47	0	0	0 - 7,6	--
Magerkohle, GBS-GF	21	47	27	57,4	42,2 - 71,7	0,31
	38	48	31	64,6	49,5 - 77,8	
Untere Fettkohle, GBS-GF	19	48	26	54,2	39,2 - 68,6	0,017
	38	44	34	77,3	62,2 - 88,5	
Fettkohle, GBS-GF	15	48	27	56,3	41,2 - 70,5	0,012
	30	45	36	80,0	65,4 - 90,4	
Gasflammkohle, GBS-GF	12	43	31	72,1	56,3 - 84,7	0,13
	24	45	38	84,4	70,5 - 93,5	
Gestein, GBS-GF	11	47	16	34,0	20,9 - 49,3	0,019
	22	45	26	57,8	42,2 - 72,3	
Quarz, kein GBS	0,57	35	23	65,7	47,8 - 80,9	0,19
	2,3	36	28	77,8	60,9 - 89,9	
Ruß, GBS-KF	7,5	45	27	60,0	44,3 - 74,3	0,47
	15	46	29	63,0	47,6 - 76,8	
Ruß, GBS-UF	2,2	46	31	67,4	52,0 - 80,5	0,059
	7,2	48	40	83,3	69,8 - 92,5	
Aluminiumoxid, GBS- UF	4	44	36	81,8	67,3 - 91,8	--
	8	47	34	72,3	57,4 - 84,4	
Aluminiumsilikat, GBS-UF	6	47	28	59,6	44,3 - 73,6	0,079
	13	45	34	75,6	60,5 - 87,1	
Kaolin, GBS-GF	11	48	20	41,7	27,6 - 56,8	0,001
	21	47	35	74,5	59,7 - 86,1	
Unbehandelt (1)	–	46	1	2,2	0,06 - 11,5	--
Dieselruß, GBS-KF	0,9	45	2	4,4	0,54 - 15,1	0,000
	3,6	45	18	40,0	25,7 - 55,7	
TiO ₂ , GBS-UF	1,7	42	22	52,4	36,4 - 68,0	0,076
	7,0	46	32	69,6	54,2 - 82,3	
Test Toner, GBS-GF	22	24	13	54,2	32,8 - 74,4	0,012
	44	24	21	87,5	67,6 - 97,3	
TiO ₂ , GBS-KF	6,8	44	13	29,5	16,8 - 45,2	0,001
	14	44	28	63,6	47,8 - 77,6	
ZrO ₂ , GBS-GF	4,6	47	4	8,5	2,4 - 20,4	--
Lungenstb. GBS-KF	13	40	32	80,0	64,4 - 90,9	--
SiO ₂ amph. kein GBS	-	35	2	5,7	0,70 - 19,2	--
Unbehandelt (2)	–	46	0	0,0	0,0 - 7,7	--

Tab. 3.8 Ergänzende Statistik zu den Tumorhäufigkeiten in Abhängigkeit von der Dosis (siehe Text)

Staubgruppe	Retin. Volumen [µL/g]	Ratten at risk	Ratten m. prim. Lu.-tu.	% Tumorfrequenz	p-Wert (Fisher's exact test)
Kontrollen	0	139	1	0,72	--
GBS-GF „kleine Dosis“: Magerkohle, Untere Fettkohle, Fettkohle, Gasflammkohle, Gestein, Kaolin, Test Toner, ZrO ₂	4,6 - 22	352	164	46,6	kleine Dosis versus Kontr.: 0,0000
GBS-GF „große Dosis“: Magerkohle, Untere Fettkohle, Fettkohle, Gasflammkohle, Gestein, Kaolin, Test Toner	21 - 44	298	221	74,2	große versus kleine Dosis: 0,0000
GBS-KF „kleine Dosis“: Ruß, TiO ₂	6,8 - 7,5	89	40	44,9	kleine Dosis versus Kontr.: 0,0000
GBS-KF „große Dosis“: Ruß, TiO ₂	14 - 15	90	57	63,3	große versus kleine Dosis: 0,010
GBS-KF Dieselruß „kleine Dosis“	0,9	45	2	4,4	kleine Dosis versus Kontr.: 0,15
GBS-KF Dieselruß „große Dosis“	3,6	45	18	40,0	große versus kleine Dosis: 0,0000
GBS-UF „kleine Dosis“: Ruß, TiO ₂ , Aluminiumoxid, Aluminiumsilikat	1,7 - 6	179	117	65,4	kleine Dosis versus Kontr.: 0,0000
GBS-UF „große Dosis“: Ruß, TiO ₂ , Aluminiumoxid, Aluminiumsilikat	7,0 - 13	186	140	75,3	große versus kleine Dosis: 0,025

4 Statistische Auswertungen der Dosis-Häufigkeitsbeziehungen

4.1 Dosis-Häufigkeitsbeziehungen bei den einzelnen Stäuben

Alle in diesem Kapitel beschriebenen statistischen Auswertungen beziehen sich auf die Häufigkeiten von Tieren mit histologisch bestätigten primären Lungentumoren. In ähnlicher Weise, überwiegend gekürzt, sind die Auswertungen auch bei POTT und ROLLER (2005) beschrieben. Die insgesamt umfangreichen Analysen von Dosis-Häufigkeitsbeziehungen lassen sich in mehreren Ansätzen oder Schritten darstellen. Der erste Schritt bestand in einer Anpassung des Multistage-Modells in der Variante und mit Hilfe der US EPA BenchMark Dose Software (BMDS) Version 1.3.2 (US EPA, 2003a). Wegen der akuten Toxizität des hydrophoben Titandioxids sind die Ergebnisse mit diesem Staub nicht für eine Auswertung der Beziehungen zwischen Dosis und Tumorfrequenz geeignet. Diese Daten wurden daher bereits bei diesem ersten Schritt aus der statistischen Analyse ausgeschlossen. An die Daten aller anderen Stäube der 19-Stäube-Studie (bei denen histologische Diagnosen für mehr als eine Dosis vorlagen), auch an die Daten von Quarz DQ12, wurde das Multistage-Modell angepasst, und zwar getrennt für jeden einzelnen Staub. Die Abbildungen 4.1 und 4.2 zeigen die Dosis-Häufigkeitsbeziehungen der GBS. Als Dosismaß ist in den Abbildungen das geschätzte langfristig retinierte Staubvolumen verwendet. Für diese Analyse der einzelnen Stäube ist das Dosismaß aber ohne Bedeutung für den Kurvenverlauf, da innerhalb eines Staubes die Spreizung der Dosis mit jedem Dosismaß dieselbe ist (konstanter Faktor zwischen Staubmasse, -volumen und -oberfläche bei jeder Dosisstufe).

Aufgrund seiner Struktur kann das Multistage-Modell der BMDS sogenannte quantal-lineare und sublineare (im Ganzen S-förmige) Dosis-Wirkungskurven abbilden, aber keine sogenannten super- oder hyperlinearen (bei denen der „Buckel“ stärker gekrümmt ist als beim Onehit-Modell oder quantal-linearen Modell). Die Abb. 4.1 und 4.2 zeigen, dass sich die Dosis-Häufigkeitsbeziehungen bei den einzelnen GBS vernünftig mit quantal-linearen (z. B. Bergbaustäube) oder leicht sublinearen Kurven (z. B. Dieselruß, Titandioxid KF) beschreiben lassen. Nach dem χ^2 -Test ist die Abweichung des Multistage-Modells von den Daten in den meisten Fällen nicht signifikant (p größer als 0,1), d. h. die Anpassung ist gut.

Im Falle von Quarz DQ12, Ruß KF, Ruß UF, Al-oxid UF sowie Titandioxid UF ist die Abweichung des Multistage-Modells von den Daten aber signifikant. Die Abbildungen zeigen, dass bei diesen Stäuben die höchste Dosis nicht zu einer höheren Tumorfrequenz als die vorausgegangene geführt hat oder sogar zu einer niedrigeren. Dabei befindet sich die Tumorfrequenz bereits auf einem hohen Niveau. Rein formal könnte man einen Kurvenverlauf, der durch diese Datenlage nahegelegt wird, als hyperlinear bezeichnen. Wir sehen jedoch keine sachlogischen Gründe, die einen hyperlinearen Dosis-Risikoverlauf bei GBS vermuten lassen, und die Mehrzahl der einzelnen empirischen Dosis-Häufigkeitskurven des Versuchs deutet - wie gesagt - nicht auf einen hyperlinearen Verlauf hin. Es ist daher plausibel, dass in den betreffenden Fällen eine Art von Sättigung erreicht ist. Eine solche „Sättigung“ der empirischen

risch erreichbaren prozentualen Tumorfrequenz kann z. B. durch eine Verringerung der Überlebenszeit der ganzen Gruppe aus anderen Gründen als der Tumorbildung - und damit fehlender Zeit für die Tumorentwicklung - bedingt sein. Insgesamt traten bei der 19-Stäube-Studie nur relativ geringe Unterschiede in den Überlebenszeiten der Gruppen auf, eine vergleichsweise niedrige mediane Überlebenszeit der Gruppe von 97 Wochen trat aber bei der höchsten Dosis des Al-oxid UF auf, im Vergleich zu 111 Wochen bei der niedrigeren Dosis. Möglicherweise erklärt dies in diesem Falle die etwas niedrigere (gleichwohl hohe) Tumorfrequenz bei der höheren Dosis.

Die Beziehungen zwischen Dosis, Überlebenszeit und altersspezifischen Tumorraten bzw. Tumorfrequenz während der gesamten Versuchszeit können grundsätzlich mit besonderen statistischen Methoden analysiert werden. Zu Beginn der frühen statistischen Auswertungen der 19-Stäube-Studie (im Jahre 1997) haben wir es in Betracht gezogen, solche Dosis-Zeit-Risikoanalysen durchzuführen. Wegen des großen Umfangs der Studie wären solche Auswertungen aber sehr aufwendig. Außerdem sollte für die volle statistische Aussagekraft dieser Art der Analyse unterschieden werden zwischen Tumoren, die bei einem aus anderen Gründen gestorbenen Tier gefunden wurden, und Tumoren, die zum Tode des Tiers geführt haben. Dies ist im Einzelfall schwierig. Gerade für die Art von Tumoren (*occult tumours, observed in an incidental context*), die am ehesten in der Studie zu vermuten sind, ist es nicht trivial, die optimale statistische Modellanpassung und statistische Prüfung vorzunehmen (GART et al., 1986). Die Zeiten, die dabei eigentlich auszuwerten wären, sind die Zeiten bis Auftreten eines diagnostizierbaren Tumors. Die Lungentumoren, zum Teil gutartig, führen aber wohl meist nicht rasch zum Tode, sodass sie möglicherweise bereits seit längerem in dem Tier vorhanden waren, bevor dieses aus einem anderen Grunde stirbt. Die Überlebenszeit wird dann mit dem Auftreten des Tumors assoziiert, obwohl bereits eine kürzere oder längere Zeitspanne verstrichen sein kann, seit der Tumor entstanden ist. Die Problematik sei an einem einfachen fiktiven Beispiel verdeutlicht: Es sei angenommen, in zwei Versuchsgruppen seien gleich viele Tumoren aufgetreten und sie seien auch jeweils zum selben Zeitpunkt aufgetreten, zwischen der kanzerogenen Wirkungsstärke der beiden Substanzen bestehe kein Unterschied. Falls nun aber die Todesfälle in einer der beiden Gruppen früher auftreten als in der anderen, z. B. wegen sonstiger Toxizität der Substanz, dann würden in der statistischen Analyse von Dosis-Zeit-Risikobeziehungen die Überlebenszeiten als Surrogat für das Auftreten der Tumoren benutzt. Da die Überlebenszeiten unterschiedlich waren, würde wahrscheinlich auf einen Unterschied in der Kanzerogenität der Substanzen geschlossen, obwohl die Tumoren jeweils genau zum selben Zeitpunkt auftraten, was aber unbekannt ist. Wenn dagegen einfach die Tierzahlen je Gruppe (Tiere mit Tumor, Tiere at risk) zur Dosis-Risikoanalyse verwendet würden, dann ergäbe sich hier das richtige Ergebnis, dass in beiden Gruppen gleichviele Tiere mit Tumor auftraten. Im Grunde müssten in einer Dosis-Zeitanalyse nicht nur einfach die Überlebenszeiten berücksichtigt werden, sondern es müssten die Größe und der Malignitätsgrad des Tumors (Wachstumsgeschwindigkeit) und damit die Zeit seit erstem Auftreten des Tumors geschätzt werden.

% Ratten mit prim. Lungentumor(en)

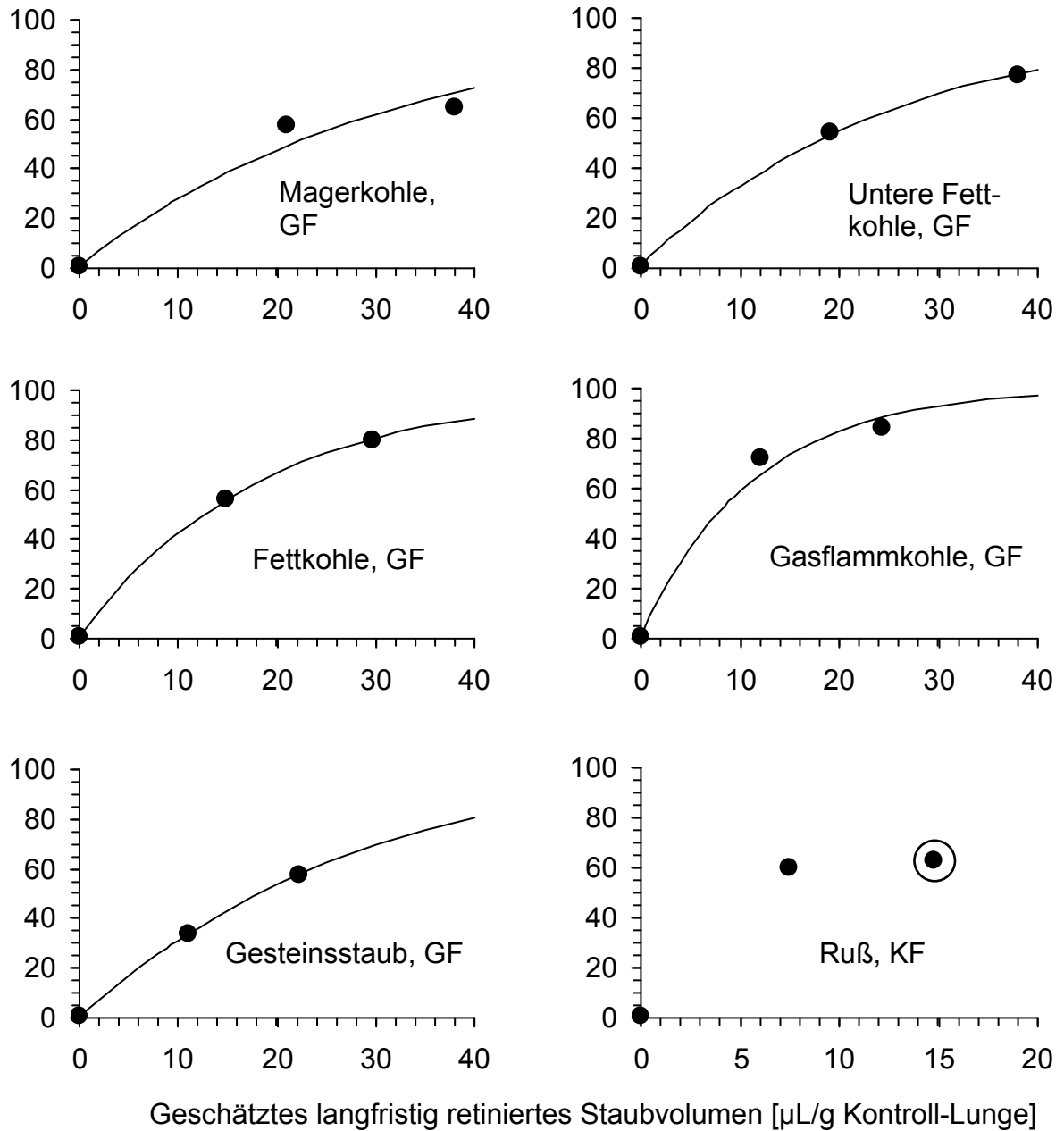
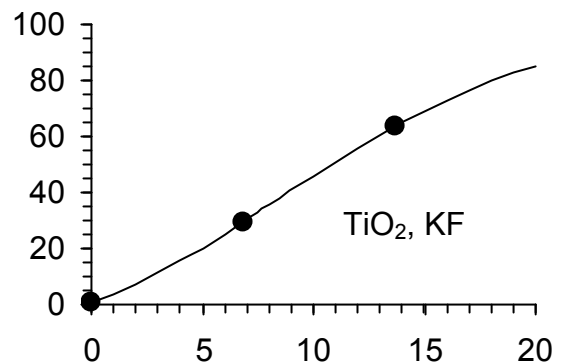
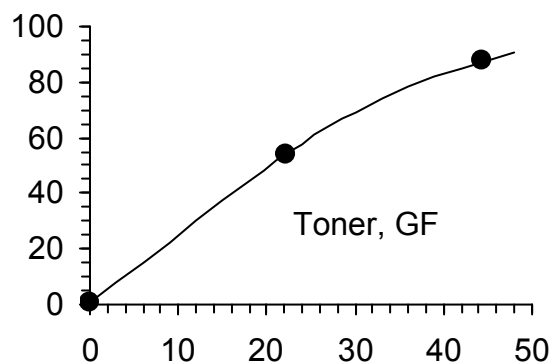
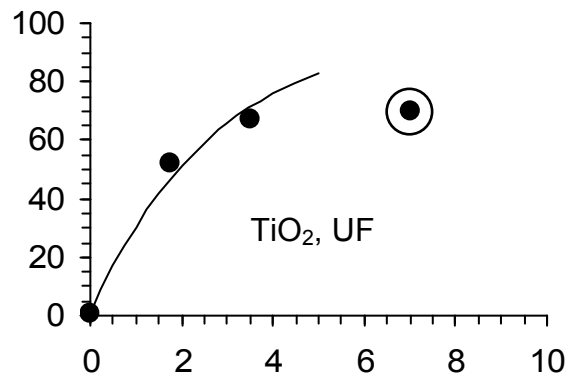
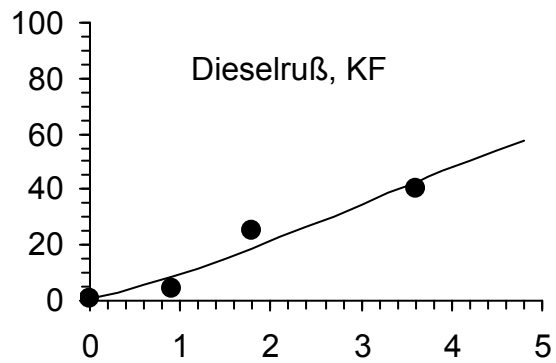
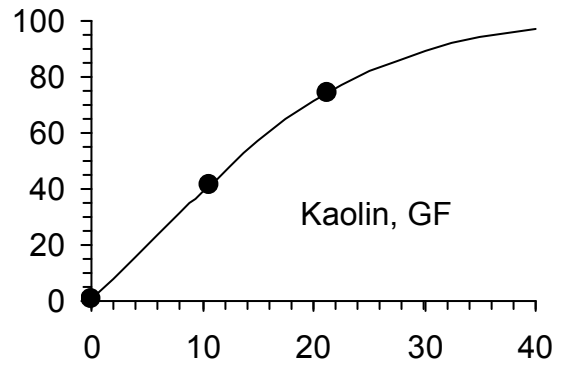
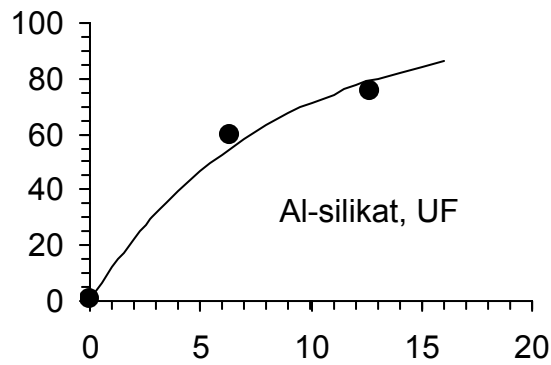
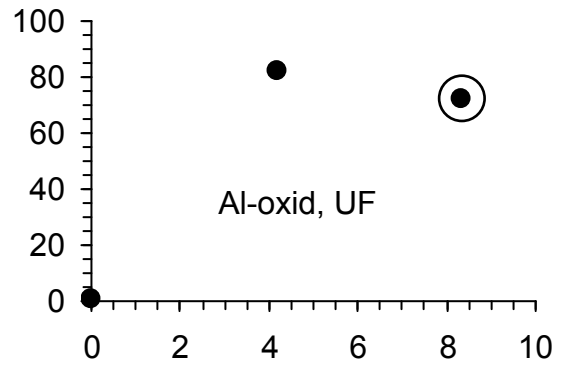
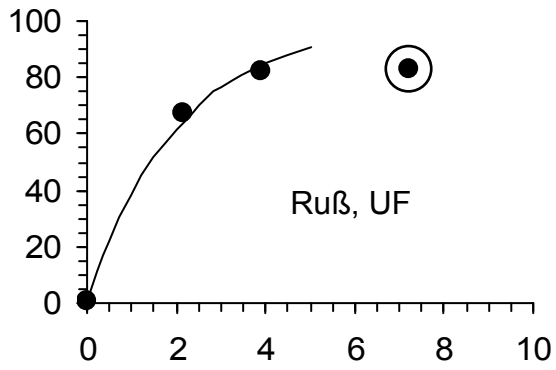


Abb. 4.1 Dosis-Tumorhäufigkeitsbeziehungen bei einzelnen GBS. Soweit das Multistage-Modell gemäß der BMD-Software nicht signifikant von den Daten abweicht, ist die Kurve des Modells eingezeichnet. Der zusätzliche Kreis um den Punkt bei der höheren Dosis von Ruß KF markiert den Ausschluss dieses Punktes von den weiteren statistischen Analysen (s. Text).

% Ratten mit prim. Lungentumor(en)



Geschätztes langfristigt retiniertes Staubvolumen [$\mu\text{L/g}$ Kontroll-Lunge]

Abb. 4.2 Dosis-Tumorhäufigkeitsbeziehungen bei einzelnen GBS; Kurve des Multistage-Modells und Markierung auszuschließender Daten mit Kreisen um die Punkte (s. Text)

Umgekehrt kann die Beschränkung auf die Tierzahl je Gruppe dann ein Problem sein, wenn Tumoren relativ spät auftreten, die Überlebenszeit in einer Gruppe, z. B. durch Substanztoxizität aber so stark verkürzt ist, dass die Chance zur Entwicklung und Entdeckung eines Tumors dadurch eingeschränkt ist. Wenn z. B. die Überlebenszeiten einer Gruppe mit einer höheren Dosis wesentlich kürzer sind als bei der kleineren Dosis und dabei gleichzeitig die beobachtete Tumorfrequenz bei der höheren Dosis niedriger ist als bei der unteren Dosis, dann liegt die Vermutung nahe, dass hier eine Verzerrung der Risikoschätzung vorliegt, weil in der oberen Dosisgruppe nicht ausreichend Zeit zur Verfügung stand, dass sich die dem wahren Risiko entsprechende Tumorzahl entwickeln konnte. Wenn dagegen die Überlebenszeiten in allen Gruppen ähnlich sind, dann ist es unwahrscheinlich, dass die (übliche) Verwendung der Tierzahlen je Gruppe für Dosis-Risikoanalysen zu verzerrten Ergebnissen führt. Diese Schlussfolgerung ist im Einklang mit den IARC-Richtlinien zu Design und Auswertung von Kanzerogenitätsversuchen, in denen detailliert auf Dosis-Risikoanalysen und Dosis-Zeitmodelle eingegangen wird (GART et al., 1986).

Insgesamt stellte sich daher die Frage, ob mit der Durchführung von Dosis-Zeit-Risikoanalysen ein wesentlicher zusätzlicher Informationsgewinn bzw. überhaupt eine Verbesserung der Interpretation zu erwarten war. Nach Abschluss des eigentlichen Experiments war offensichtlich, dass die Unterschiede in der Lebenserwartung der Gruppen gering waren (mediane Überlebenszeiten Tab. 3.1; Details der Survival-Analyse im Anhang). Es waren auch keine systematischen Unterschiede zwischen den Stäuben in der Verteilung der tumortragenden Tiere auf die Versuchszeit besonders auffällig. Von der Anwendung von Dosis-Zeit-Risikomodellen, in die die Überlebenszeit jedes Individuums eingeht, ist daher im Hinblick auf die nachfolgend in diesem Kapitel beschriebenen Gesichtspunkte des optimalen Dosismaßes und der Verlaufsform der Dosis-Risiko-Beziehung keine wesentliche zusätzliche Information zu erwarten. Im Hinblick auf Fragen des Wirkungsmechanismus haben wir gesondert einige Analysen mit sogenannten *biologically based models*, bei denen es sich um Dosis-Zeit-Risikomodelle handelt, anhand weniger Beispieldatensätze durchgeführt. Dies ist kurz in Abschnitt 4.4 beschrieben, die Ergebnisse widersprechen den übrigen Analysen nicht.

Weil von Dosis-Zeit-Risikomodellen keine wesentliche zusätzliche Information zu erwarten ist, weil aber die höchsten Dosen der Stäube von DQ12, Ruß KF, Ruß UF, Aloxid UF sowie Titandioxid UF sehr wahrscheinlich zu einer gewissen Verzerrung der Dosis-Häufigkeitsbeziehungen führen, erscheint es angemessen und am einfachsten, diese Dosisgruppen bei einer umfassenden multivariaten Analyse, in der Einflüsse verschiedener Partikeleigenschaften und die Frage des optimalen Dosismaßes untersucht werden, nicht zu berücksichtigen. Werden diese jeweils höchsten Dosen ausgeschlossen, dann findet sich auch mit dem Multistage-Modell keine signifikante Abweichung bei den verbleibenden Dosisstufen. Dieses Verfahren des schrittweisen Ausschlusses oberer Dosisgruppen ist ein in der quantitativen Risikoabschätzung gebräuchliches Vorgehen. Die entsprechenden Datenpunkte sind in den Abb. 4.1 und 4.2 mit zusätzlichen Kreisen markiert.

4.2 Multivariate logistische Regression

Im zweiten Auswerteschritt wurden so viele Dosisgruppen wie vernünftigerweise möglich gemeinsam in eine logistische Regressionsanalyse einbezogen. Dies bedeutet, dass die fünf oben genannten Dosisgruppen, die Gruppen ohne histologische Diagnosen sowie der akut toxische hydrophobe Titandioxidstaub ausgeschlossen wurden und die Analyse somit 35 Gruppen umfasst. Die Kontrollgruppen wurden zusammengefasst, da kein Tumor in der Vehikelkontrolle auftrat und nur ein einziges Tier mit Tumor unter 92 unbehandelten Ratten. Für die multivariate logistische Regression wurde die kommerzielle Software STATISTICA (Version 5.5; STATSOFT, 2000) verwendet. Ziel der Analysen war es insbesondere zu untersuchen, welche Partikeleigenschaften am besten mit der kanzerogenen Wirkungsstärke assoziiert sind. Die Frage nach der maßgeblichen Partikeleigenschaft lässt sich auch als Frage nach dem relevanten Dosismaß stellen. Dies bedeutet z. B., dass das Staubvolumen als bedeutendes Dosismaß angesehen werden kann, wenn sich ergibt, dass die Materialdichte einen signifikanten Einfluss auf die Tumorfrequenz ausübt, sofern die Dosis in Form der instillierten bzw. retinierten Staubmasse berücksichtigt ist.

In einem allgemeinen Ansatz kann zunächst ein Modell formuliert werden, in dem sehr viele mögliche Einflussgrößen enthalten sind. Als Eingabedaten für die logistische Regression sind dabei die Daten in der Form zu verwenden, wie sie - ohne Umrechnungen - als Mess- bzw. Nennwerte vorliegen. Die Dosierung wurde ursprünglich als instillierte Staubmasse festgelegt, über Einwaage vorgenommen und dementsprechend ist die Dosis primär als Masse bekannt. Die Massendosis wird hier mit dem Logarithmus ihres Zahlenwerts verwendet. Dies ist im Bereich der logistischen Regression nicht unüblich; in probenhalber durchgeführten Rechnungen mit den unlogarithmierten Werten hat sich außerdem gezeigt, dass sich dann unrealistisch hohe Werte für die Spontanumorraten ergeben. Mit den logarithmierten Dosiswerten war dies nicht der Fall. Für die kombinierten Kontrollgruppen wurde ein Dosiswert von einem Hundertstel der kleinsten Massendosis eingesetzt (d. h. 0,05 mg, um einen nicht definierten Logarithmus von Null zu vermeiden); für die anderen Kovariablen der Kontrollgruppe wurde die Programmoption *durch Mittelwert ersetzen* gewählt. Das Grundmodell - in der Schreibweise mit sogenannter Logit-Transformation - lässt sich folgendermaßen formulieren:

$$\text{Logit}(P) = \beta_0 + \beta_1 \cdot \ln M + \beta_2 \cdot Q + \beta_3 \cdot L + \beta_4 \cdot \rho + \beta_5 \cdot A + \beta_6 \cdot d + \beta_7 \cdot U + \beta_8 \cdot S$$

Dabei bedeutet:

Logit(P): $\ln(P / (1-P))$

P: Anteil Tiere mit Tumor im Sinne des Tests an der Zahl der Ratten *at risk*

M: Instillierte Staubmasse/mg

Q: Kennung „reiner Quarz“ (0/1)

L: Kennung „relativ gute Löslichkeit“ (0/1)

ρ : Materialdichte/(g/cm³)

A: Spezifische Oberfläche/(m²/g)

d: Mittlerer (bzw. typischer) Partikeldurchmesser/ μm

U: Kennung „ultrafeine Partikel (0,01 - 0,03 μm)“ (0/1)

S: Kennung „klein-feine (*small-fine*) Partikel (0,09 - 0,2 μm)“ (0/1)

$\beta_0, \beta_1, \dots, \beta_8$ sind (statistisch-mathematisch) zu schätzende Modell-Parameter

In die Auswahl der berücksichtigten Einflussvariablen sind mehrere Überlegungen eingegangen. So ist z. B. bereits das in den Abschnitten 3.1 - 3.3 dargestellte Ergebnis enthalten, dass der Quarzgehalt der verwendeten Bergbaustäube nur insofern einen Einfluss auf die Tumorfrequenz zeigte, als der reine Quarz DQ12 eine höhere Wirkungsstärke als die anderen Stäube aufwies. Es ist daher keine stetige Variable *Quarzgehalt* aufgenommen, sondern lediglich die (dichotome) Kennung „reiner Quarz: Ja/Nein“.

Weiterhin ist eine Kennung „relativ gute Löslichkeit“ für den amorphen Siliziumdioxidstaub verwendet. Eine alternative Möglichkeit zur Verwendung der Kennungen „Quarz“ und „Löslichkeit“ wäre es, von vornherein die entsprechenden Stäube (Quarz bzw. amorphes SiO_2) nicht in die Berechnungen einzubeziehen und die Rechnung nur mit den Daten der übrigen Stäube ohne die Kennungsvariablen durchzuführen. Es erschien uns aber als der wissenschaftlich interessantere Weg, die Information möglichst aller Stäube zu nutzen, da dann im Prinzip auch die Eigenschaften „Durchmesser“ und „Spezifische Oberfläche“ des DQ12 zur Regressionsrechnung beitragen. Der einzige Staub, der sich auf diese Weise nicht heranziehen ließ, war das toxische, hydrophobe TiO_2 , dessen akute Toxizität und ihr Einfluss auf die Überlebenschancen der Tiere sich nicht in einer Variable in der allgemeinen Dosis-Tumorfrequenzbeziehung ausdrücken lässt.

Hinsichtlich des exakten Partikeldurchmessers liegen für einen Großteil der Stäube nur Messwerte mit begrenzter Aussagekraft vor. Um die vorhandene Information jedoch nicht ungenutzt zu lassen, ist in dem logistischen Regressionsmodell auch eine stetige Variable für den Durchmesser enthalten. Sicherer ist die Information, die in der „dichotomen“ Variablen U steckt und die aussagt, ob der Staub wesentlich jene Partikel enthält, die mit der Bezeichnung „ultrafein“ belegt sind. Die Grenze ist dabei deutlich unterhalb von 100 nm festgelegt; die höchste Angabe für den mittleren Partikeldurchmesser eines ultrafeinen Staubes betrug 30 nm, der kleinste für einen „nicht-ultrafeinen“ Staub betrug 95 nm, insofern erübrigt sich hier die exakte Definition einer scharfen Trennlinie dazwischen, und die Zuteilung der Stäube Ruß Printex 90, Titandioxid P 25, Aluminiumoxid C und Aluminiumsilikat P 820 zur Gruppe der „ultrafeinen“ ist trotzdem relativ sicher. Für diese Stäube liegen Herstellerangaben zum Durchmesser vor, für den Ruß und das Titandioxid bestehen auch Daten aus anderen Versuchen, bei denen diese Stäube verwendet wurden (HEINRICH et al., 1995). Eine dichotome Variable „ultrafein“ wurde auch im Hinblick auf die Möglichkeit benutzt, dass es biologisch keinen fließenden Übergang der Wirkungsstärke unterschiedlich großer (bzw. kleiner) Partikeln geben könnte, sondern dass tatsächlich die Eigenschaft „ultrafein“ eine besondere Qualität darstellen könnte, z. B. wegen einer Durchlässigkeitsschranke von Gewebswänden. Zusätzlich wurde außerdem eine Variable S „Partikelgröße zwischen 0,09 und 2,0 μm “ eingeführt. Diese Variable soll die Möglichkeit berücksichtigen, dass die Grenze zur Eigenschaft „besonders klein“ höher als 90 nm liegen könnte. Mit dieser Kategorie wird auch der Dieselruß erfasst, der üblicherweise als Paradebeispiel des ultrafeinen Aerosols gilt, der aber aufgrund des mittleren Partikeldurchmessers der Agglomerate und Aggregate von ca. 0,2 μm in dieser Analyse nicht zu den ultrafeinen Stäuben zu zählen ist. Ultrafeine Primärpartikel dürften einen verschwindend kleinen Massenanteil ausmachen. Zu den Dif-

ferenzierungsmöglichkeiten zwischen den Alternativen des Beitrags des Partikeldurchmessers ist weiter unten ausgeführt.

Werte über die Materialdichte liegen für fast alle Stäube vor. Soweit keine genauen Angaben bekannt waren, haben wir Werte aufgrund sonstiger verfügbarer Information abgeschätzt, z. B. für das Kaolin. Die Unsicherheit dieser Abschätzungen erschien uns für den Zweck der Regressionsrechnungen tolerierbar, da sie nur wenige Stäube betrifft, da aus natürlichen Gründen die Schwankung der Größe „Materialdichte“ nur einen relativ kleinen Bereich umfassen kann und da sich die Unsicherheiten dieser Datenpunkte im Gesamtzusammenhang der statistischen Korrelationen relativieren. Während des laufenden Projektes wurden im Auftrag der BAuA zusätzliche Messungen physikalischer Eigenschaften an den Stäuben durchgeführt (Gesellschaft für Oberflächen- und Festkörperuntersuchung mbH, Hamburg: ofu). Diese Messungen betrafen auch einige fehlende Angaben zur Materialdichte. Diese einzelnen Daten bestätigten im Prinzip die zunächst eingesetzten Werte. Die Messungen betrafen außerdem die BET-Oberfläche. Soweit bereits Herstellerangaben oder sonstige frühere Informationen vorlagen, wurden auch diese durch die ofu-Messungen im Prinzip bestätigt. Für die Kohlen-/Grubenstäube waren zunächst keine BET-Werte vorhanden. In Form der neuen Daten lagen nun einheitlich gemessene Daten für alle Stäube vor, daher verwendeten wir die BET-Messwerte von ofu für die Regressionsrechnung einheitlich für alle Stäube.

Im Übrigen betreffen folgende Details die vorliegende logistische Regression. Die „Modellanpassung“ erfolgt anhand der Maximum-Likelihood-Methode. Eingabedaten hinsichtlich der Tumorfrequenzen sind je Gruppe die Zahl der Ratten *at risk* ohne bzw. mit Tumor im Sinne des Tests (primärer Lungentumor). Die wegen Fehlern bei der Instillation nicht völlig einheitlich behandelte Gruppe, für die die Instillation von 15 mg ultrafeinem Ruß vorgesehen war, wurde als *eine* Gruppe behandelt, da die versehentliche zusätzliche Instillation von einmalig 6 mg ultrafeinem Titandioxid keine qualitative Bedeutung haben dürfte. Als Dosis für diese Gruppe wurde der mittlere Wert entsprechend den tatsächlich durchgeführten Instillationen verwendet. Als Dichtewerte bzw. als Werte für die spezifische Oberfläche wurden für die Gruppen, die (versehentlich) verschiedene Stäube erhalten hatten, gewichtete Mittelwerte gemäß den Dichten bzw. spezifischen Oberflächen und Massendosen der Einzelstäube eingesetzt.

Die Tab. 4.1 zeigt die Ergebnisse der Analyse. Ergebnisse logistischer Regression werden gerne in Form der Odds Ratio (OR) angegeben. Das OR pro Einheit (der jeweiligen Variable) steht mit dem Parameterwert β in folgendem Zusammenhang: $OR = e^{\beta}$. Es ist hier ein Maß des relativen Risikos, um welches das Tumorrisiko je Einheit der Variable erhöht oder erniedrigt ist. Der Tab. 4.1 lässt sich z. B. entnehmen, dass je logarithmischer Dosiseneinheit der instillierten Massedosis das Tumorrisiko - bei ansonsten gleichen Staubeigenschaften - um ungefähr das 3-Fache zunimmt. Reiner Quarz hat - bei ansonsten gleichen Partikeleigenschaften (Durchmesser, spezifische Oberfläche usw.) - eine ungefähr 30-mal höhere kanzerogene Potenz als ein Staub, der nicht aus reinem Quarz besteht. Für das amorphe Siliziumdioxid ergibt sich nur ein Hundertstel ($OR = 0,01$) der kanzerogenen Potenz eines bio-beständigen Staubes gleicher Partikelgröße.

Die p-Werte in Tab. 4.1 geben an, ob die entsprechende Variable „signifikant“ zur Regression beiträgt, d. h. ob der Parameterschätzwert signifikant von Null bzw. das OR signifikant von 1 verschieden ist. Die deutlichsten Signifikanzen finden sich für die Massendosis, die Dichte, die Eigenschaft „ultrafein“ sowie die Eigenschaften „Quarz“ und „Löslichkeit“. Die p-Werte sind in all diesen Fällen kleiner als 0,00005. Bei „Quarz“ und „Löslichkeit“ überraschen diese erheblichen Unterschiede nicht weiter, dabei handelt es sich einfach nicht um GBS. Insofern soll hier der Unterschiedsfaktor von rund 30 für die Quarzwirkung festgehalten werden, aber diese Stäube sollen bei den folgenden Analysen nicht mehr berücksichtigt werden (man beachte außerdem: der Quarztyp DQ12 hat eine beträchtlich stärkere Kanzerogenität als andere Quarztypen, z. B. Sikron F600 und Min-U-Sil 15; POTT und ROLLER; 1994). Es überrascht ferner nicht, dass eine höhere instillierte Massendosis zu einem höheren Tumorrisiko führt. **Bemerkenswert ist der deutliche Einfluss der Materialdichte. Ganz unzweifelhaft kommt auch der Partikelgröße eine Bedeutung zu.** In der vorliegenden Analyse kommt dies in einer besonders klaren statistischen Signifikanz der Variable „ultrafein“ zum Ausdruck. Auch für die Variable „Spezifische Oberfläche“ findet sich in Tab. 4.1 formal statistische Signifikanz, zwar weniger deutlich als bei den oben genannten Variablen, aber gemessen an einem Signifikanzniveau von 5 % scheinbar sehr klar. Zur Einordnung dieses Befundes sind jedoch weitere Überlegungen und Analysen erforderlich.

Tab. 4.1 Ergebnisse multivariater logistischer Regression mit 35 Dosisgruppen der 19-Stäube-Studie (siehe Text; VB = Vertrauensbereich)

Variable	Parameter-Schätzwert	p-Wert	Odds Ratio	
			pro Einheit (95%-VB)	Bereich
ln(Masse/mg) ^a	1,15	0,0000	3,17 (2,49-4,03)	7873,7
Quarz	3,39	0,0000	29,7 (12,5-70,5)	29,7
Löslichkeit	-4,53	0,0000	0,011 (0,002-0,047)	0,011
Dichte	-0,44	0,0000	0,64 (0,55-0,74)	0,13
Spez. Oberfl.	0,0041	0,007	1,004 (1,001-1,007)	3,31
Durchmesser	-0,04	0,723	0,96 (0,77-1,20)	0,85
Ultrafein	1,60	0,0000	4,97 (2,43-10,19)	4,97
Klein-fein	0,30	0,352	1,35 (0,72-2,53)	1,35

^a Logarithmus naturalis des Zahlenwerts der instillierten Massendosis in Milligramm; Erläuterung dieser und der anderen Variablen siehe Text.

Bei der Interpretation der Ergebnisse der logistischen Regression sind einige Gesichtspunkte zu bedenken. Dies sind zunächst die Zusammenhänge zwischen Masse, Dichte, Volumen, Partikelgröße, Oberfläche und spezifischer Partikelzahl von Stäuben. Wir haben einen signifikanten Einfluss von Staubmasse und Dichte gefunden, dies lässt sich auch so interpretieren, dass das Staubvolumen von Bedeutung ist, wegen des Zusammenhangs:

Staubvolumen = Staubmasse / Materialdichte

Entsprechend gilt:

Partikeloberfläche = Staubmasse x spezifische Partikeloberfläche

Ferner ist zu beachten, dass die Variablen, die den Durchmesser und die spezifische Oberfläche betreffen, nicht voneinander unabhängig sind, sondern mehr oder weniger stark zusammenhängen. Bei den Variablen D (Durchmesser als stetige Größe), U („ultrafein“) und S („klein-fein“) ist dies offensichtlich, aber auch die spezifische Oberfläche ist abhängig vom Partikeldurchmesser. Für ideal kugelförmige Partikeln gilt folgende einfache Beziehung:

Spezifische Oberfläche = $6 / (\text{Dichte} \times \text{Durchmesser})$

In diesem Zusammenhang ist noch auf eine weitere Größe hinzuweisen, die wir in unseren Analysen nicht quantitativ berücksichtigt haben (s. aber Abschnitt 5.1.3): in den Diskussionen wird gelegentlich die Partikelanzahl als entscheidende Dosisgröße vermutet. Auch die Partikelanzahl hängt ganz ähnlich wie die Oberfläche von der Dichte und dem Durchmesser der Partikeln ab. Für den Gehalt an kugelförmigen Partikeln in der Staubmasse gilt folgender Zusammenhang:

Spezifischer Partikelgehalt = $6 / (\pi \times \text{Dichte} \times \text{Durchmesser}^3)$

Wegen der gegenseitigen Abhängigkeit von Partikelgröße, Stauboberfläche und spezifischer Partikelzahl ist es nicht einfach, anhand einer logistischen Regression mit vielen Variablen die tatsächliche Bedeutung der einzelnen Größen heraus zu arbeiten. Jedenfalls ist es möglich, dass der Partikeldurchmesser als stetige Größe gemäß Tab. 4.1 deshalb keinen signifikanten Einfluss hat, weil gleichzeitig die Partikelgröße bereits in Form der Indikatorvariablen „ultrafein“ enthalten ist.

Die logistische Regression hat manche Vorteile: Es ist eine verbreitete und anerkannte Methode, Dosis-Häufigkeitsbeziehungen zu analysieren und die gleichzeitig möglichen Einflüsse mehrerer „Dosismerkmale“ zu beurteilen. So konnten wir damit z. B. deutliche Unterschiede zwischen den kanzerogenen Potenzen von GBS, Quarz DQ12 und amorphem Siliziumdioxid quantitativ herausarbeiten. Es gibt jedoch auch gravierende Nachteile bei der Methode. Wie weiter oben angesprochen, muss zunächst eine Entscheidung darüber getroffen werden, ob eine Dosisgröße unmittelbar oder in Form eines logarithmierten Zahlenwertes in die Rechnung eingeht. In einer frühen, vorläufigen Analyse haben wir die instillierte Staubmasse unlogarithmiert als Dosisgröße verwendet. Die Regressionsanalyse führte dabei zu einem Schätzwert für die Tumorzahlfrequenz der Kontrollen in Höhe von 27 %. Dieser Wert ist für das „spontane“ Lungentumorrisiko von Wistar-Ratten völlig unrealistisch. Die Schätzung

kam offenbar dadurch zustande, dass das Modell eine gewisse Hyperlinearität durch eine hohe Schätzung der Spontanrate kompensierte. Die Verwendung logarithmierter Zahlenwerte der instillierten Dosis führten zwar zu realistischen Schätzungen des Spontanrisikos, dabei ergeben sich aber andere Probleme. So ist eben der Logarithmus der Dosis „Null“ nicht definiert und daher muss ein - letztlich willkürlicher - sehr kleiner Zahlenwert für die Dosis der Kontrollgruppen angenommen werden, falls man auf die Information dieser Gruppen nicht gänzlich verzichten will. Wir konnten auch gewisse Einflüsse der Wahl dieser Zahlenwerte (z. B. 0,1 mg im Vergleich mit 0,001 mg) auf das Ergebnis feststellen, wodurch also eine zusätzliche Unsicherheit eingeführt wird.

Weiterhin ist es schwierig, bei logarithmiertem Dosismaß die tatsächliche Kurvenform der Abhängigkeit des Risikos von der „eigentlichen“ (d. h. nicht-logarithmierten) Dosis zu erkennen. Das Modell kann dabei sowohl eine sublineare als auch hyperlineare Abhängigkeit des Risikos abbilden. Ohne mathematische Beschränkungen der Parameter (d. h. in der üblichen Anwendung) ist es daher möglich, dass sich formal gute Anpassungen und signifikante Einflüsse einzelner Variablen ergeben, dass dies aber mit Parameterschätzwerten verbunden ist, die einer stark hyperlinearen Dosis-Häufigkeitsbeziehung entsprechen, die biologisch nicht plausibel ist. Es ist zwar möglich, aber beim logistischen Modell etwas umständlich, diesen Gesichtspunkt zu berücksichtigen; andere Modelle, insbesondere das sogenannte Weibull-Modell, eignen sich besser für Analysen unter diesem Gesichtspunkt.

Schließlich haben Regressionsanalysen mit einer großen Zahl von Variablen den Nachteil, dass eine anschauliche grafische Präsentation der Ergebnisse problematisch ist. Bei einer Effektvariablen und zwei Einflussvariablen lassen sich die Ergebnisse noch mit einem „dreidimensionalen“ Koordinatensystem mit x-, y- und z-Achse darstellen, bei mehr als zwei Einflussvariablen wird es aber schwierig. Zwar kann man sich dann mit Zusammenfassen von mehreren Variablen zu einer „neuen“ mathematischen Größe behelfen, darunter kann aber die Transparenz leiden (s. Abschnitt „5.1.4 Die Kombination mehrerer Größen (Volumen, Oberfläche, Partikelzahl) zu einem komplexen Dosismaß bringt keine Vorteile“).

Wir haben daher weitere Analysen durchgeführt, bei denen wir die Dosismaße „Staubvolumen in Verbindung mit der Partikelgröße“ sowie „Stauboberfläche“ untersucht haben.

4.3 Multivariate Analysen des Dosismaßes mit dem Weibull- und Multistage-Modell

Für eine deutliche Unterscheidung der Kurvenformen „sublinear - quantal-linear - hyperlinear“ ist das Weibull-Modell besonders geeignet. Speziell für quantitative Risikoabschätzungen anhand von Kanzerogenitätsversuchen entwickelt wurde das Multistage-Modell in der Version der BMD-Software, das auf biologisch-basierte Modelle und die Mehrstufentheorie der Krebsentstehung zurückgeht. Die BMD-Software ist jedoch nur für „univariate“ Analysen geeignet. Wir haben daher auf der dritten Stufe unserer Auswertungen der Dosis-Häufigkeitsbeziehungen Berechnungen mit dem Weibull-Modell und dem Multistage-Modell durchgeführt, indem wir solche Modelle in dem dafür geeigneten Modul von STATISTICA implementiert haben. Dazu wurden

im Modul „Nichtlineare Regression“ die Modellgleichungen als benutzerdefinierte Funktion eingegeben. Um Maximum-Likelihood-Schätzwerte zu erhalten, wurde als sogenannte Verlustfunktion folgende Gleichung eingegeben: $-(X \cdot \log(\text{PRED}) + (N - X) \cdot \log(1 - \text{PRED}))$, wobei X die Zahl von Ratten mit Tumor je Dosisgruppe ist, N ist die Zahl der Ratten *at risk* je Dosisgruppe, PRED sind die vom Programm berechneten Risikoschätzungen gemäß Modell und log ist der natürliche Logarithmus.

Diese Analysen wurden nur für GBS durchgeführt, d. h. Quarz DQ12 und amorphes Siliziumdioxid wurden hier nicht einbezogen. Die Analysen beruhen somit auf den Datensätzen von insgesamt (einschließlich Kontrollgruppen) 32 Gruppen. Da die 3 Kontrollgruppen (wie weiter oben erläutert) zusammengefasst wurden, ergeben sich in den Abbildungen 29 GBS-Datenpunkte plus 1 Datenpunkt bei der Dosis „Null“. Der Klarheit wegen sei die verwendete Gruppenszahl in Form einer Übersicht dargestellt:

Alle Gruppen der 19-Stäube-Studie:	46
davon hydrophobes TiO ₂ :	2
verbleiben:	44
davon ohne Histologie:	4
verbleiben:	40
davon hohe Dosisgruppen, die signifikante Abweichung des Multistage-Modells von der Datenlage verursachen (s. Abschnitt 4.1)	5
verbleiben (für eine „umfassende“ logistische Regressionsanalyse einschließlich Quarz, amorphem SiO ₂ , Oberflächenmaß usw.)	35
davon nicht GBS (Quarz, amorphes SiO ₂)	3
verbleiben (für eine Regressionsanalyse der GBS mit dem Weibull-Modell bzw. Multistage-Modell)	32
davon Kontrollgruppen:	3
verbleiben als GBS-Punkte in den Abbildungen:	29

Aufgrund einer Reihe von Auswertungen, die zum Teil bereits auf der Basis der makroskopischen Tumordiagnosen durchgeführt worden waren, sowie aufgrund der oben beschriebenen logistischen Regression war klar, dass das Staubvolumen - d. h. die Kombination von Staubmasse und Materialdichte - sowie die Partikelgröße eine Bedeutung für die kanzerogene Potenz von GBS haben. Hinsichtlich der statistischen Assoziationen der Stauboberfläche verblieben Fragen. In der Literatur sind Hypothesen veröffentlicht, die man nur so verstehen kann, dass die höhere kanzerogene Potenz ultrafeiner GBS (bezogen auf die Masse) im Vergleich mit feinen GBS dadurch bedingt sei, dass die ultrafeinen GBS eine größere Oberfläche haben und dass sich somit die Oberfläche als universelles Dosismaß für Dosis-Risikoanalysen von GBS eigne (OBERDÖRSTER und YU, 1990; OBERDÖRSTER, 1996; 2002, DRISCOLL, 1996; TRAN et al., 2000; GREIM et al., 2001; BORM et al., 2004). Das heißt, wenn die Oberfläche als Dosismaß verwendet wird, dann sollte es nicht notwendig sein, die Partikelgröße weiter zu berücksichtigen, unterschiedliche Partikelgrößen wirken sich dann ja bereits über die größere Oberfläche aus. Wir formulierten daher das folgende Weibull-Modell für die Abhängigkeit des Anteils von Ratten mit primärem Lungentumor (P) von der in der Rattenlunge retinierten Stauboberfläche (A_{ret}) folgendermaßen (mit den zu schätzenden Parametern α_0 , α_1 und α_2):

$$P = 1 - \exp\left(-\alpha_0 - \alpha_1 A_{ret}^{\alpha_2}\right)$$

In diesem Modell gibt der Parameter α_2 die Kurvenform an (ROLLER, 1998). Falls α_2 größer ist als 1, dann ist die Kurve sub- oder hypolinear, falls α_2 kleiner ist als 1, dann ist die Kurve als super- oder hyperlinear zu bezeichnen, falls α_2 gleich 1 ist, dann kann man von einer quantal-linearen Beziehung sprechen. Der Maximum-Likelihood-Schätzwert für α_2 war 0,42 in dem oben stehenden Modell mit der retinierten Stauboberfläche. Dies bedeutet, dass die Kurve extrem hyperlinear ist, mit einem steilen Anstieg im unteren Bereich und einem Abflachen zu einem fast horizontalen Verlauf bei höheren Dosiswerten. Ein solcher Verlauf bedeutet auch, dass die kanzerogene Potenz (d. h. das Verhältnis Risiko / Dosis) von der Dosis abhängig ist, wobei niedrigere Dosen eine höhere kanzerogene Potenz aufweisen. Wir haben ein ähnliches Modell auch für das retinierte Staubvolumen in Verbindung mit der Partikelgröße verwendet; die Regression ergab dabei ebenfalls eine hyperlineare Kurvenform, allerdings weniger stark ausgeprägt als mit der Stauboberfläche ($\alpha_2 = 0,65$). Wir haben keine biologische Erklärung für eine extrem hyperlineare Dosis-Risikobeziehung bei GBS. Für die weiteren Analysen haben wir deshalb den Parameter α_2 auf den Wert 1 beschränkt. Dieses Modell heißt dann in der Terminologie der BMD-Software „quantal-linear“. Formuliert man ein Multistage-Modell, d. h. führt außer dem linearen Term weitere quadratische, kubische usw. Terme mit, dann werden die Parameter der weiteren Terme hier mit Null geschätzt. Das quantal-lineare Modell ist hier also gleichzeitig das Ergebnis aus der Anwendung des Multistage-Modells und ein besonderer Fall des Multistage-Modells, d. h. es ist das Ergebnis der Auswertung der Datenlage und nicht etwa eine willkürliche Entscheidung.

Da wir Werte für α_2 kleiner als 1 nicht zugelassen haben, kann es bei Daten, die einen eher hyperlinearen Kurvenverlauf nahelegen, bei der Regressionsrechnung geschehen, dass die Hyperlinearität durch einen hohen Schätzwert des Risikos der Kontrollgruppen kompensiert wird. In der Regel war der Anteil an Tieren mit primärem Lungentumor bei den historischen Kontrollen unserer Wistar-Ratten gleich null. Es ist deshalb unwahrscheinlich, dass das wahre Hintergrundrisiko von solchen Ratten höher ist als die kombinierte Tumorfrequenz von 0,72 % in der 19-Stäube-Studie. Daher haben wir bei den folgenden Modellen als festen Wert für den Hintergrundparameter 0,0072 (= 0,72 %) eingesetzt. Weiterhin haben wir durch Überlegen und Probieren insbesondere untersucht, in welcher Art und Weise die Partikelgröße bei einem Dosis-Risikomodell mit dem Staubvolumen als Dosismaß zu berücksichtigen ist. Dabei haben wir mehrere Möglichkeiten gefunden, die zu ähnlich guter Vereinbarkeit von mathematischem Modell und beobachteten Tumorfrequenzen führen. Nachfolgend sind vier solcher Modelle formuliert. Dabei ist - wie beschrieben - der Wert für das Hintergrundrisiko fest vorgegeben, die Zahl 7 in Modell (2) ist ein aus rechentechnischen Gründen mehr oder weniger willkürlich eingesetzter Zahlenwert (Verhinderung eines Wechsels von negativen und positiven Zahlenwerten in dem Term), die übrigen Zahlenwerte sind die Parameterschätzwerte als Ergebnis der nichtlinearen Regression nach der Maximum-Likelihood-Methode.

$$P = 1 - \exp\left(-0,0072 - \left(\frac{0,0459 + 0,0497 S + 0,213 U}{\mu L/g \text{ Kontroll} - \text{Lunge}}\right) V_{ret}\right) \quad \text{Modell (1)}$$

$$P = 1 - \exp\left(-0,0072 - \left(-0,0682 + \frac{0,908}{\ln d + 7}\right) \frac{V_{ret}}{\mu L/g \text{ K.L.}}\right) \quad \text{Modell (2)}$$

$$P = 1 - \exp\left(-0,0072 - (0,0211 + 0,0376 \cdot d^{-0,44}) \frac{V_{ret}}{\mu L/g K.L.}\right) \quad \text{Modell (3)}$$

$$P = 1 - \exp\left(-0,0072 - \left(0,0279 + \frac{0,0292}{\sqrt{d}}\right) \frac{V_{ret}}{\mu L/g K.L.}\right) \quad \text{Modell (4)}$$

Das Symbol V_{ret} bezeichnet das abgeschätzte langfristig retinierte Staubvolumen bezogen auf die Masse der Lunge eines unbehandelten Kontrolltieres (Einheit: μL Staub pro g K.L.; K.L. = Kontroll-Lunge). Die Symbole d , S und U haben dieselbe Bedeutung wie oben bei der logistischen Regression, nämlich:

- d : Mittlerer (bzw. typischer) Partikeldurchmesser/ μm
($\ln d$ ist der natürliche Logarithmus des Zahlenwerts des Durchmessers in μm)
- U : Kennung „ultrafeine Partikel (0,01 - 0,03 μm)“ (0/1)
- S : Kennung „klein-feine (*small-fine*) Partikel (0,09 - 0,2 μm)“ (0/1)

Als fünftes Modell sei hier nochmals ein Modell für die Stauboberfläche formuliert, ebenfalls mit den Bedingungen „nicht-hyperlinear, Hintergrundrisiko = 0,72 %“:

$$P = 1 - \exp\left(-0,0072 - 0,0179 \frac{A_{ret}}{100 cm^2/g K.L.}\right) \quad \text{Modell (5)}$$

Abb. 4.3 zeigt ein Schaubild mit den Daten und den Kurven von Modell (1). Das Modell enthält als stetige Einflussvariable das Staubvolumen und es enthält weiterhin zwei Indikatorvariablen (S und U), die je nachdem, ob es sich bei einem Staub um einen ultrafeinen, klein-feinen oder groß-feinen Partikeltyp handelt, die Werte 0 oder 1 annehmen (bei groß-feinen Partikeln gilt: $S = 0$, $U = 0$). Damit kann mit dem Modell in Form von drei Kurven das Tumorrisiko jeweils in Abhängigkeit vom Staubvolumen beschrieben werden. Die Datenpunkte in Abb. 4.3 sind die Tumorfrequenzen in Beziehung zum retinierten Staubvolumen gemäß Tab. 3.1. Unabhängig von mehr oder weniger komplizierter Mathematik kann in Abb. 4.3 nachvollzogen werden, dass die drei Kurven im Rahmen der bei biologischen Experimenten unvermeidbaren Streuung plausibel mit den beobachteten Tumorfrequenzen übereinstimmen.

Auch die Zahlenwerte in der obigen Gleichung von Modell (1) können relativ einfach nachvollzogen werden: Bei groß-feinen Partikeln ($S = 0$, $U = 0$) verbleibt als Steigungswert ein Zahlenwert von rund 0,046 (= 4,6 %), d. h. die Gleichung sagt aus, dass pro 1 μL retiniertem Staubvolumen pro g Lunge das Lungentumorrisiko um den Wert von rund 4,6 % zunimmt. Auf der Kurve für die groß-feinen Partikeln in Abb. 4.3 kann genau dies im unteren Kurvenbereich abgelesen werden. Zu höheren Dosen

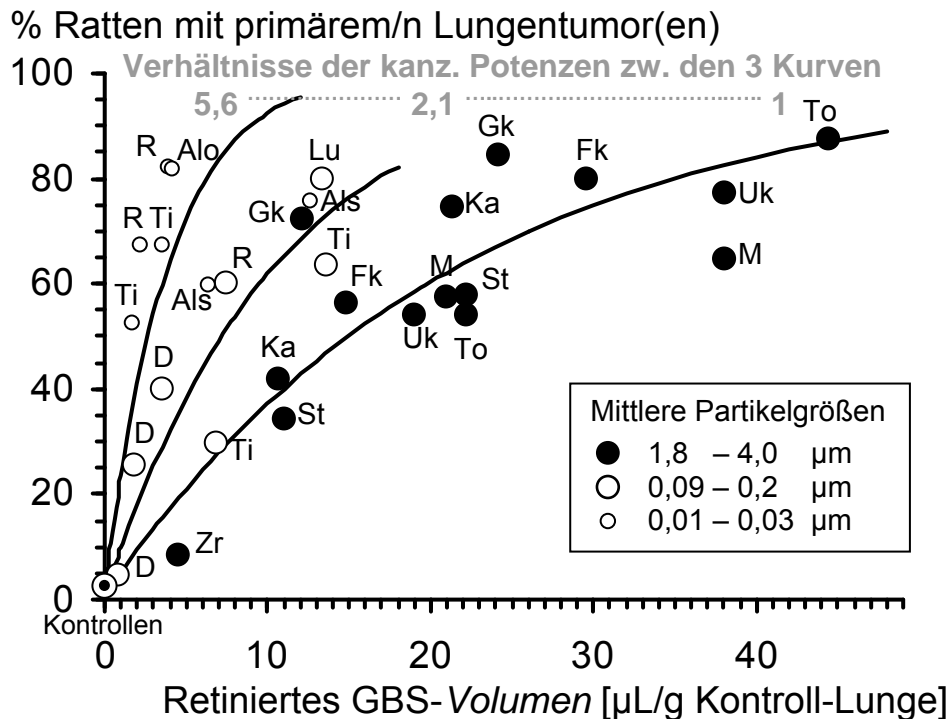


Abb. 4.3 Dosis-Häufigkeitsbeziehungen nach Instillation von GBS bei Ratten (siehe auch POTT und ROLLER; 2005). Dosismaß: retiniertes Staubvolumen (aufgrund verschiedener Messdaten lässt sich abschätzen, dass rund zwei Drittel der instillierten Dosis langfristig in der Lunge retiniert werden); nichtlineare Regression für 3 Partikelgrößenklassen. Abkürzungen der Punktbeschriftungen: Alo: Aluminiumoxid; Als: Aluminiumsilikat; R: Ruß; D: Diesel; Ka: Kaolin; M: Magerkohle; Lu: Lungengstaub; Uk: Untere Fettkohle; Fk: Fettkohle; St: Gesteinsstaub; Gk: Gasflammkohle; Ti: TiO_2 ; To: Toner; Zr: ZrO_2

bzw. Risikowerten hin wird der Anstieg pro μL retiniertem Staubvolumen pro g Lunge selbstverständlich geringer, da sich die Kurve plausiblerweise allmählich dem theoretisch möglichen Maximalwert von 100 % annähern muss.

Die Gleichung von Modell (1) sowie die Abb. 4.3 sagen ferner aus, dass bei kleinfeinen und bei ultrafeinen Partikeln gleiche Volumendosen wie bei großfeinen Partikeln ein höheres Risiko bewirken: Die kanzerogene Potenz - bezogen auf das retinierte Staubvolumen - ist größer. Aus Modellgleichung (1) liest man ab, dass kleinfeine Partikeln ein Risiko von $4,6\% + 5,0\% = 9,6\%$ pro μL Staubvolumen pro g Lunge hervorrufen, also um einen Faktor von $9,6 / 4,6 = 2,1$ mehr als großfeine. Bei ultrafeinen Partikeln ergibt sich danach ein Risiko von $4,6\% + 21,3\% = 25,9\%$ pro μL Staubvolumen pro g Lunge, ein Faktor von $25,9 / 4,6 = 5,6$ im Vergleich zu großfeinen Partikeln.

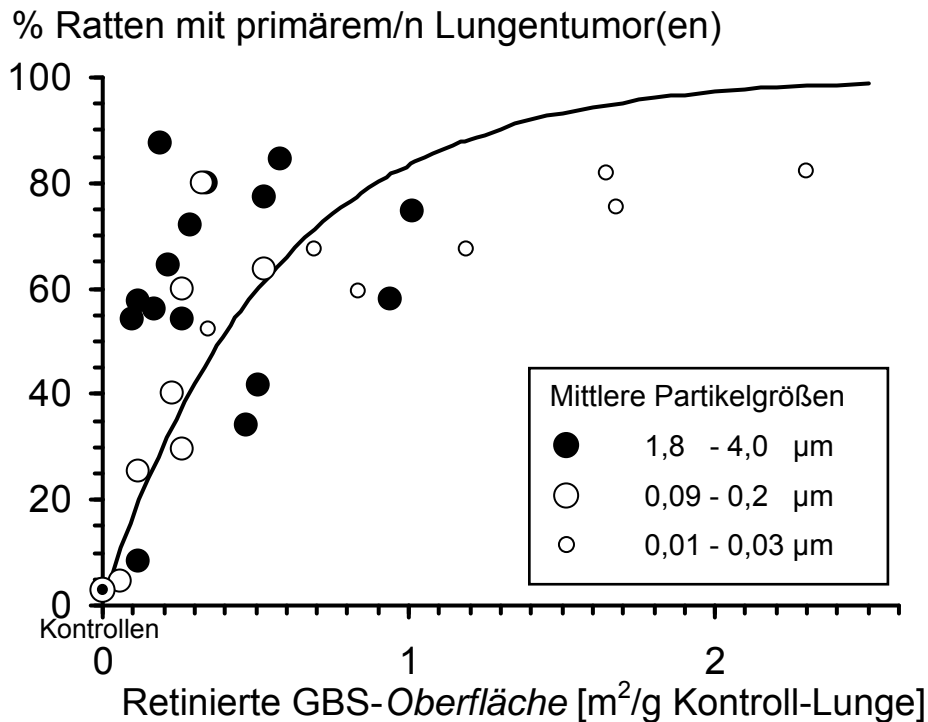


Abb. 4.4 Dosis-Häufigkeitsbeziehungen nach Instillation von GBS bei Ratten (siehe auch POTT und ROLLER; 2005). Dosismaß: retinierte Stauboberfläche. Nichtlineare Regression für alle Daten gemeinsam (die unterschiedlichen Punktsymbole sind nur eingezeichnet, um die 3 Partikelgrößenklassen in der grafischen Darstellung erkennen zu können).

Ein verbreitetes einfaches Maß, um die Übereinstimmung eines in einer Regressionsanalyse verwendeten Modells mit den Daten zu beurteilen, ist das sogenannte „allgemeine Bestimmtheitsmaß“ R^2 , das sich auch als „Anteil der erklärten Varianz“ bezeichnen lässt. Das Bestimmtheitsmaß für Modell (1) beträgt $R^2 = 0,69$. Mit dem Modell, d. h. mittels Staubvolumen und drei Durchmesserklassen, lassen sich demnach 69 % der Varianz der beobachteten Tumorzahlfrequenzen erklären. Bei den Modellen (2) bis (4), bei denen die Partikelgröße nicht in Form von drei Durchmesserklassen, sondern in Form einer stetigen Durchmesservariable enthalten ist, ist die erklärte Varianz ähnlich groß. Auf diese Modelle wird weiter unten eingegangen. Zunächst sei aber auf Modell (5) und auf Abb. 4.4 hingewiesen, die - im Hinblick auf das Dosismaß „Stauboberfläche“ - gewissermaßen das Gegenstück zu Abb. 4.3 ist.

Abb. 4.4 enthält als Datenpunkte die Tumorzahlfrequenzen in Beziehung zur abgeschätzten retinierten Stauboberfläche pro g Kontroll-Lunge. Die Unterscheidung der Punktsymbole nach den drei Durchmesserklassen ist in dieser Abbildung nur zur Information und zum Vergleich mit Abb. 4.3 vorgenommen, das Modell enthält keine Unterscheidung nach Partikelgrößen, da - wie bereits beschrieben - die Stauboberfläche von der Partikelgröße abhängig ist, diese also implizit enthält. Man erkennt in Abb. 4.4 insgesamt eine große Streuung der Datenpunkte, das Modell (5) erklärt nur 2,8 % der Varianz der Tumorzahlfrequenzen ($R^2 = 0,028$). Die „Anpassung“ des Modells

mit der Stauboberfläche ist also extrem schlecht, was in anbetracht der großen Streuung der Tumorfrequenzen in einem relativ engen Bereich dieses Dosismaßes - zwischen 0,1 to 0,2 cm² - plausibel ist. Das Bestimmtheitsmaß lässt sich durch Zulassen einer hyperlinearen Kurvenform und durch Einführen von drei Durchmesserklassen deutlich verbessern ($R^2 = 0,47$ bzw. $R^2 = 0,25$). Aber hyperlineare Kurven sind hier biologisch nicht plausibel, und eine explizite Berücksichtigung der Partikelgröße zusätzlich zur Oberfläche ist widersinnig in Bezug auf die Hypothese, dass die größere Wirkungsstärke kleinerer Partikeln durch ihre größere Oberfläche zu erklären sei. In jedem Falle ist die Anpassung der Oberfläche-Modelle schlechter als diejenige der Volumen-Partikelgröße-Modelle.

Modell (1) berücksichtigt drei Partikelgrößenklassen. Die Partikelgrößenwerte gemäß Tab. 3.1 enthalten gewisse Unsicherheiten. Biologisch ist aber eine scharfe Grenze bzw. ein Sprung der kanzerogenen Potenz bei einem bestimmten Durchmesserwert relativ wenig wahrscheinlich, ein fließender Übergang der kanzerogenen Potenz erscheint plausibler. Wir haben deshalb auch Modelle gesucht, die den Durchmesser als stetige Variable enthalten. Die Modelle (2), (3) und (4) ergeben dabei ähnliche gute Anpassungen sowohl untereinander als auch verglichen mit Modell (1). Die Frage war, welcher Art die Abhängigkeit der kanzerogenen Potenz vom Partikeldurchmesser ist. Es ist offensichtlich, dass die kanzerogene Potenz schwächer als linear vom Durchmesser abhängt, d. h. eine Halbierung des Durchmessers führt nicht zu einer Verdoppelung der kanzerogenen Potenz. In Modell (2) ist der Durchmesser in Form des Logarithmus enthalten, gemäß Modell (4) hängt die kanzerogene Potenz vom Kehrwert der Wurzel des Durchmesserwerts ab. Modell (4) ist aus Modell (3) entstanden, man beachte folgende schulmathematischen Gleichungen:

$$d^{-0,5} = d^{-\frac{1}{2}} = \frac{1}{d^{\frac{1}{2}}} = \frac{1}{\sqrt{d}}$$

und

$$d^{-0,33} = d^{-\frac{1}{3}} = \frac{1}{d^{\frac{1}{3}}} = \frac{1}{\sqrt[3]{d}}$$

Modell (3) ist das Ergebnis einer Regressionsrechnung, bei der die Zahl im Exponenten des Durchmessers nach der Maximum-Likelihood-Methode geschätzt wurde; das Ergebnis ist -0,44. Wäre diese Zahl gleich -0,5, dann hätten wir es mit dem Kehrwert der Wurzel zu tun, wäre die Zahl -0,33, dann hätten wir es mit dem Kehrwert der dritten Wurzel zu tun. Die Abhängigkeit der kanzerogenen Potenz liegt nach diesen Analysen also irgendwo zwischen der zweiten und dritten Wurzel. Die genaue Lage innerhalb dieser Spanne ist dabei offenbar nicht so entscheidend, in Modell (4) ist die (zweite) Wurzel vorgegeben, die Anpassungsgüte von Modell (4) ist praktisch genauso gut wie diejenige von Modell (3). Die erklärte Varianz aller drei Modelle (2), (3) und (4) liegt bei 67 bis 68 %.

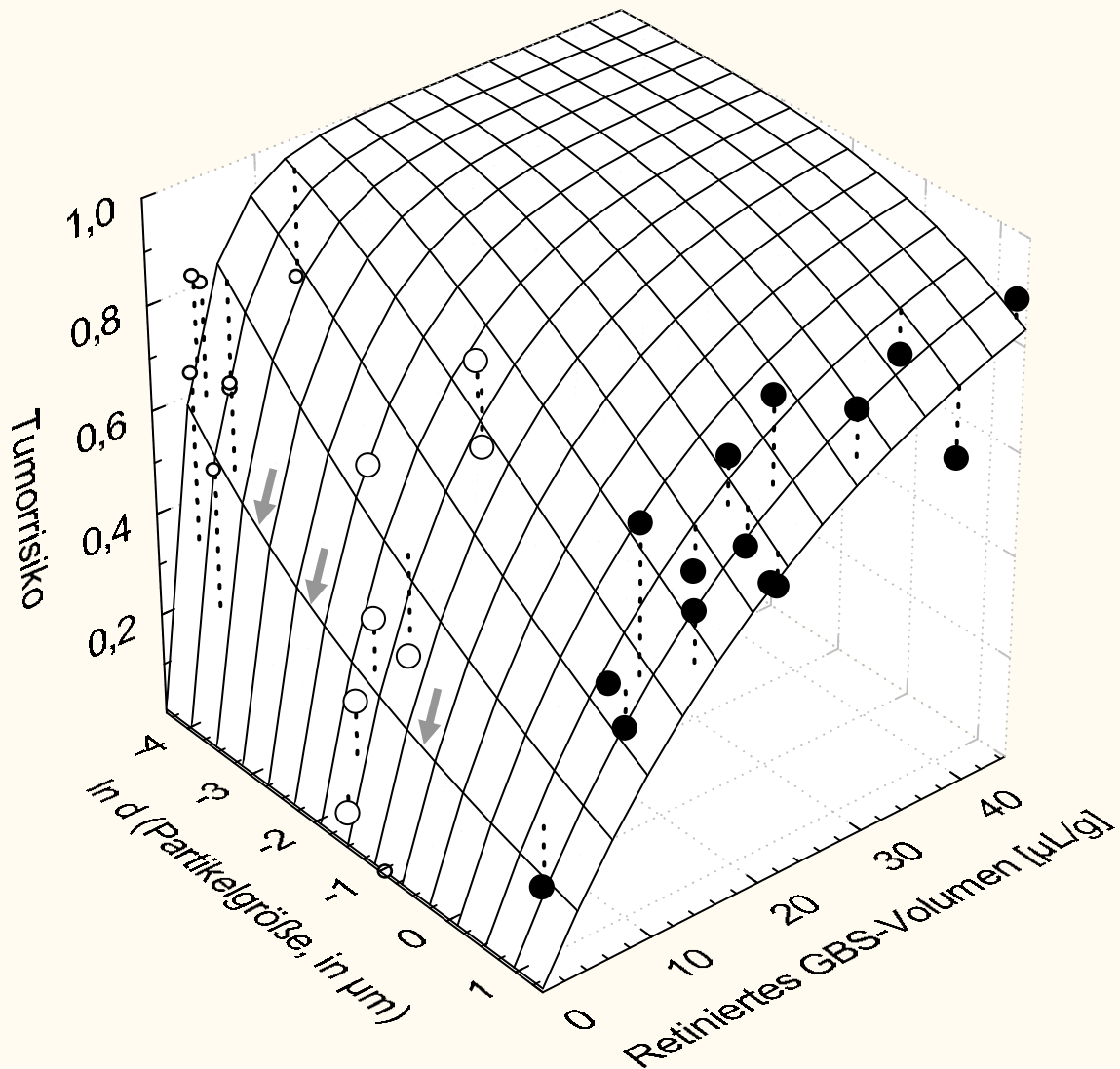


Abb. 4.5 Abhängigkeit des Tumorrisikos von **Partikelgröße** und **Partikelvolumen** nach Instillation von GBS bei Ratten (siehe auch POTT und ROLLER; 2005). Dosismaß: retiniertes Staubvolumen zusammen mit dem Logarithmus des Zahlenwerts der Partikelgröße ($\ln d$); nichtlineare Regression mit zwei stetigen Einflussvariablen (siehe Text; die Partikelgröße ist als stetige Variable behandelt, unterschiedliche Punktsymbole sind in der Grafik nur zur besseren Orientierung im Vergleich mit Abb. 4.3 verwendet). Der kleine Punkt beim Zahlenwert -1 auf der $\ln d$ -Achse repräsentiert die Kontrollgruppen, für die als „Partikelgröße“ der Mittelwert der Testgruppen verwendet ist. Die drei Pfeilsymbole weisen auf eine Kurve, die als Abhängigkeit der „kanzerogenen Potenz“ vom Durchmesser interpretiert werden kann (s. Abb. 4.6).

Die Abb. 4.5 zeigt die Daten und Modell (2) in einem dreidimensionalen Plot in der Art, wie die Software STATISTICA (mehr oder weniger automatisch) eine solche Grafik erstellt. Auf den beiden horizontalen Achsen ist der Logarithmus des Zahlenwerts des (mittleren) Partikeldurchmessers bzw. das retinierte Staubvolumen pro g Kontroll-Lunge aufgetragen. Auf der vertikalen Achse ist das Tumorrisiko als

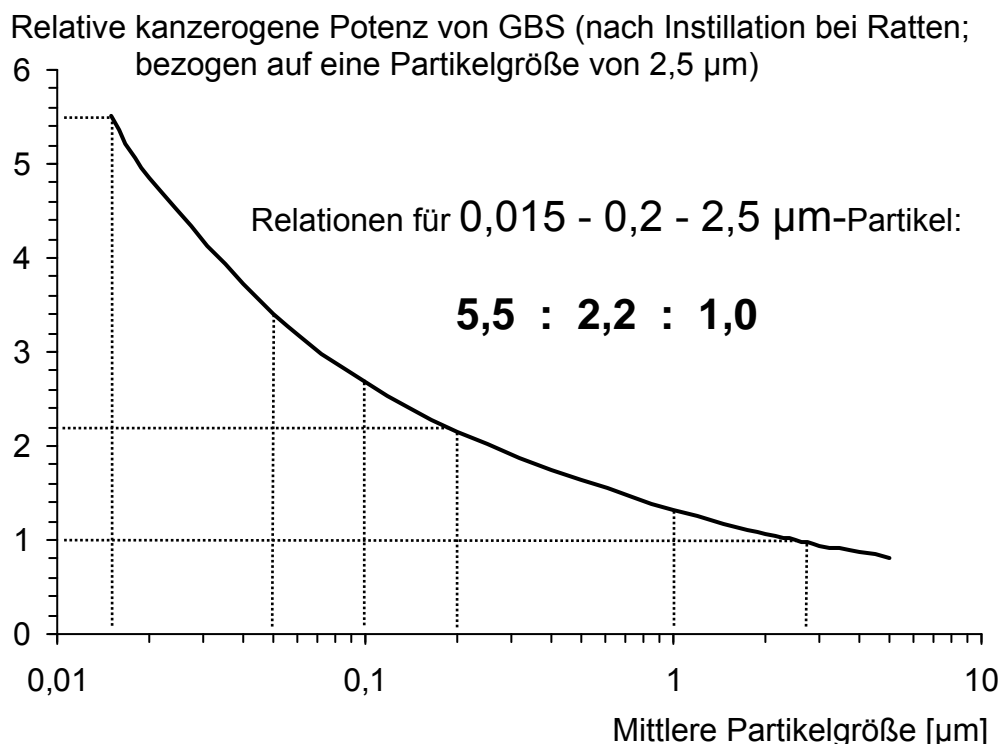


Abb. 4.6 Besonderes Ergebnis aufgrund der nichtlinearen Regression gemäß Abb. 4.5: kanzerogene Potenz in Abhängigkeit von der (mittleren) Partikelgröße (die Kurve entspricht der mit drei Pfeilen in Abb. 4.5 markierten Kurve)

Dezimalbruch, d. h. 1,0 = 100 %, abzulesen. Das Schaubild des Modells erscheint in dieser Grafik als netzartig strukturierte Fläche. Zur besseren Orientierung ist der Abstand der Datenpunkte von der „Modell-Fläche“ mit gestrichelten, vertikalen Linien markiert. Auf der rechten Seite (bei positiven Werten von $\ln d$) befinden sich die großen schwarzen Punkte der groß-feinen Partikeln. Links davon (bei negativen Werten von $\ln d$) befinden sich die größeren und kleineren Kreissymbole für die klein-feinen und ultrafeinen Partikeln. In die Netzfläche haben wir drei Pfeilsymbole eingezeichnet. Diese Pfeile weisen auf eine Kurve, die von links (von niedrigeren Durchmesserwerten) nach rechts (zu höheren Durchmesserwerten hin) abfällt. Die Kurve beschreibt die Abhängigkeit des Tumorrisikos bei gleicher Staubvolumendosis vom mittleren Partikeldurchmesser der Stäube. Man kann auch sagen: Die Kurve beschreibt die Abhängigkeit der kanzerogenen Potenz von der Partikelgröße. Eine mathematische Gleichung für eine entsprechende Abhängigkeit lässt sich formulieren, indem in oben stehender Modellgleichung (2) das Einheits-Staubvolumen von 1 μL pro g Lunge eingesetzt wird:

$$\text{Kanzerogene Potenz} = \left(-0,0682 + \frac{0,908}{\ln d + 7} \right) \frac{1}{\mu \text{ L/g Kontroll - Lunge}}$$

Auf dieser Grundlage kann auch eine relative kanzerogene Potenz definiert werden bezogen auf einen Referenzdurchmesser d_0 :

$$\text{Rel. kanz. Potenz}(d) = \frac{\text{Kanz. Potenz in Abhängigkeit vom Durchmesser } d}{\text{Kanz. Potenz von GBS mit dem Durchmesser } d_0}$$

In Abb. 4.6 ist als Referenzdurchmesser ein Wert von 2,5 µm verwendet, weil dieser Wert bei der Definition der sogenannten Partikelfraktion PM_{2,5} eine Rolle spielt. Die Kurve in Abb. 4.6 entspricht der mit Pfeilen markierten Kurve in Abb. 4.5, Abb. 4.6 enthält demzufolge keine Datenpunkte, sondern ist gewissermaßen ein Ausschnitt aus Abb. 4.5. Für die Partikelgrößen 0,015 µm bzw. 0,2 µm ergeben sich relative kanzerogene Potenzen in Relation zu 2,5-µm-Partikeln von 5,5 : 1 bzw. 2,2 : 1. Diese Werte sind sehr ähnlich denjenigen, die man aus dem „Partikelfraktionen-Modell“ gemäß Modellgleichung (1) erhält. Anhand des Ausdrucks $0,0459 + 0,0497 S + 0,213 U$ folgen für ultrafeine Partikeln ($U = 1$; 0,01-0,03 µm) bzw. für klein-feine Partikeln ($S = 1$; 0,09-0,2 µm) zur Potenz groß-feiner Partikeln (1,8-4 µm) Relationen von 5,6 : 1 bzw. 2,1 : 1.

Anhand der Formeln auf Basis von Modell (2) können solche Relationen aber für alle Partikelgrößen berechnet werden, eine scharfe Grenze zwischen einzelnen Partikelfraktionen gibt es hier nicht. Ein solcher fließender Übergang erscheint biologisch plausibler als feste Schwellen. Anhand der obigen Modelle (3) und (4) lassen sich ähnliche Zusammenhänge formulieren. Die resultierenden Kurven (nicht eingezeichnet) unterscheiden sich kaum von der Kurve in Abb. 4.6, die auf Modell (2) beruht.

4.4 Auswertungen mit einem „biologisch-basierten“ Dosis-Zeit-Risikomodell

Beim Stand des Jahres 1999 wurde die Frage diskutiert, ob die Lungentumorbildung nach GBS-Exposition von Ratten ihre Ursache nicht in Gentoxizität, sondern in einer Stimulierung der Proliferation von Epithelzellen habe. Im Rahmen eines Forschungsprojektes des Umweltbundesamtes, das sich vor allem mit In-vitro-Untersuchungen befasste, wurden dabei auch Daten der 19-Stäube-Studie mit sogenannten biologisch-basierten Modellen ausgewertet. Diese Rechenmodelle beziehen sich auf mechanistische Vorstellungen zur Mutation und Proliferation der Zielzellen. Drei Autorennamen sind ganz besonders mit solchen Modellen verbunden, nämlich die Namen Moolgavkar, Venzon und Knudson. Man spricht daher vom MVK-Modell, wobei es mehrere Varianten dieses Modelltyps gibt. Der Grundgedanke dabei ist, dass die Tumorbildung das Ergebnis von Zustandsübergängen der Körperzellen ist, die sich auch mathematisch in Form eines stochastischen Prozesses beschreiben lassen. Drei Zustände sind besonders bedeutsam: der „normale“, der initiierte und der transformierte. Beim typischen MVK-Modell wird je ein stochastischer Prozess für den Übergang vom normalen in den initiierten Zustand und vom initiierten in den transformierten Zustand berücksichtigt und außerdem die Proliferation von initiierten Zellen (*clonal growth*, *clonal expansion*). Bei diesen Modellen werden Hazardraten modelliert, man kann die Modelle auch als Dosis-Zeit-Risikomodelle bezeichnen. Dies bedeutet, dass für die regelrechte Anwendung der Modelle „Einzeltierdaten“ mit der Überlebenszeit und Expositionsanamnese jedes Individuums erforderlich sind. Solche Modellansätze bieten auch die Möglichkeit, die „Toxikokinetik“ von der Exposition zur Gewebsdosis mathematisch zu modellieren.

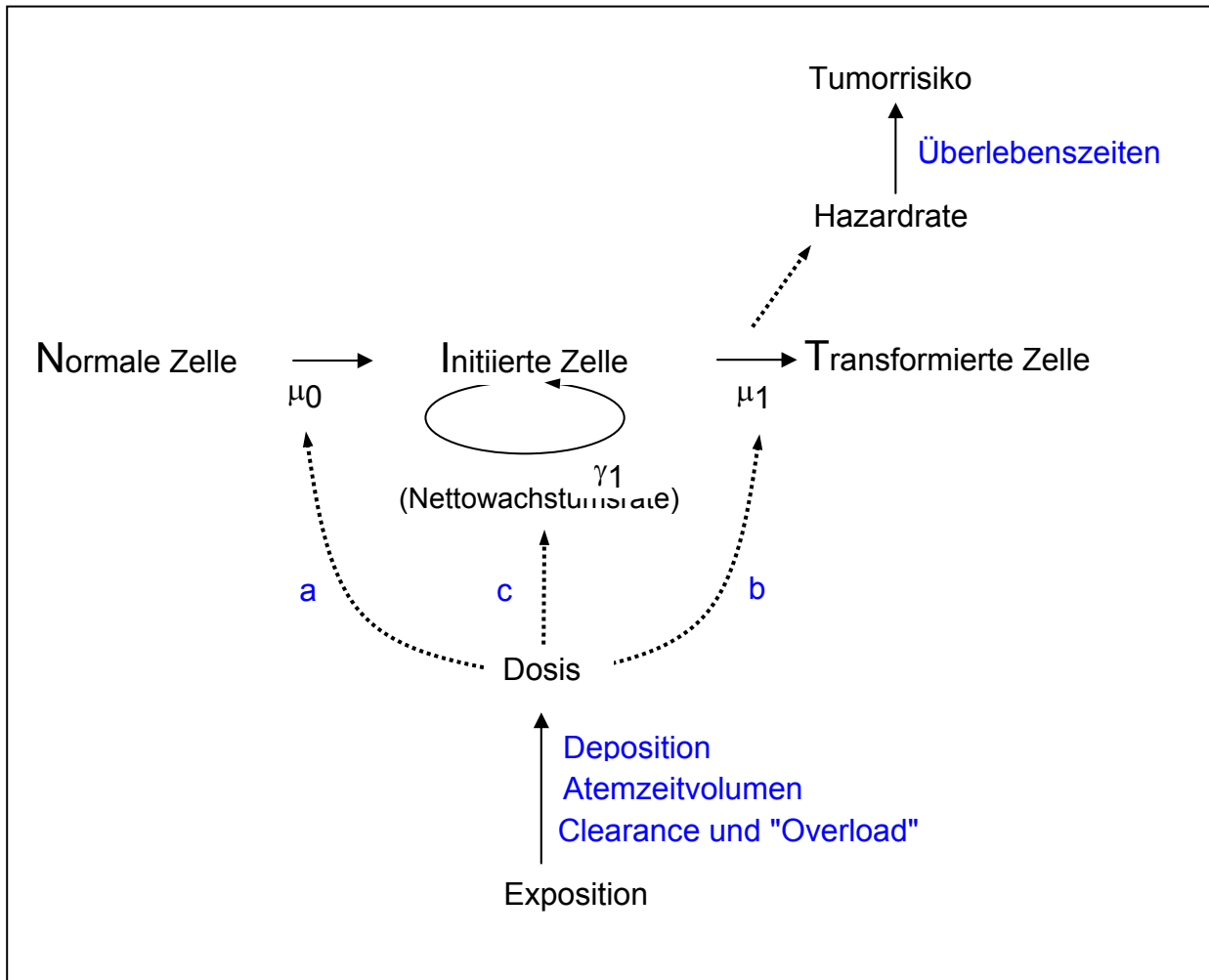


Abb. 4.7 Schematische Darstellung eines biologisch-basierten Dosis-Zeit-Risikomodells, mit dem von ROLLER (1999) Daten aus einem Inhalationsversuch mit Dieselabgas sowie aus Instillationsversuchen ausgewertet wurden.

Die Fragestellung des Jahres 1999 war im Jahr 2006, als diese Zeilen geschrieben wurden, in gewisser Weise überholt, da dann nicht mehr die Frage „gentoxisch oder nicht“ im Zentrum stand, sondern im Grunde von einer gentoxischen Wirkung ausgegangen wurde, wobei aber der Unterscheidung zwischen sogenannter primärer und sekundärer Gentoxizität Bedeutung beigemessen wurde (s. Abschnitte 5.2.1 und 5.7.2). Nach unseren Eindrücken bei der eigenen Anwendung der Modelle und auch beim Studium von Modellanwendungen in der Literatur sollte man sich der Grenzen des Informationsgewinns mit diesen Modellen bewusst sein. Es scheint nicht möglich, damit wesentliche Information zu kreieren, die in den Daten einfach nicht enthalten ist. So konnten wir anhand der Daten eines Mehrdosis-Inhalationsversuchs, der Daten eines Instillationsversuchs mit Dieselruß sowie der Daten von zweien der Bergbaustäube aus der 19-Stäube-Studie die Frage nicht entscheiden, ob Gentoxizität oder „nur“ Proliferationsförderung eine Rolle spielen. Es scheint uns auch nicht möglich, mit solchen Berechnungen die Frage nach einer Wirkungsschwelle eindeutig zu beantworten. Es ergab sich bei der Anwendung der Modelle kein Hinweis auf

eine Schwelle bzw. es ergab sich keine Notwendigkeit, eine Schwelle in die Modelle einzuführen (vgl. Kapitel 5.3). Wenn also auch keine eindeutigen Antworten auf die genannten Fragen von den Modellen zu erwarten sind, so halten wir sie doch für ein wertvolles Werkzeug, um unterschiedliche Szenarien mechanistischer Abläufe konkret (d. h. mit Zahlenwerten) zu beschreiben und so zumindest die möglichen Hypothesen klarer zu fassen. Dies kann insbesondere auch interessant werden, wenn der Schluss vom Versuchstier auf den Menschen vorgenommen wird und dann auch die speziesspezifischen Unterschiede im Hinblick auf die Zellzahl je Organ, die „spontanen“ Zellteilungsrate bzw. Dauer des Zellzyklus und die Lebenszeiten der Individuen berücksichtigt werden.

Die Auswertungen von ROLLER (1999) waren nur ein erster Schritt in diese Richtung, wobei die Berechnungen auf die Spezies Ratte beschränkt waren. Die Erläuterungen des (relativ komplexen) Modells und der Berechnungen sind gleichwohl sehr umfangreich und es würde den Rahmen des vorliegenden Berichts sprengen, sie im Detail darzustellen. Deshalb sind in den Abb. 4.8 bis 4.13 nur die Ergebnisse für die beiden Bergbaustäube wiedergegeben. Im Übrigen ist auf den Anhang 8.6 hinzuweisen, dort sind die das Modell bildenden Formeln für Instillationsversuche und auch für Inhalation zusammengestellt.

Die Punktsymbole in Form der weißen Kreise in Abb. 4.8 zeigen die Mortalität der Ratten *at risk* der kleineren Dosis der unteren Fettkohle in Abhängigkeit von der Versuchsdauer (s. auch Anhang Fig. 8.2.4). Die durchgezogene Kurve bei diesen Punkten ist der Funktionsgraph, der sich aus der Überlebensfunktion als Bestandteil des komplexen Modells ergibt. Die ausgefüllten schwarzen Punktsymbole der Abb. 4.8 zeigen die Zunahme der Häufigkeit von Ratten mit primärem Lungentumor mit der Versuchsdauer. Diese Punkte entsprechen der Darstellung in Abb. 3.1; jedoch sind für Abb. 3.1 die Daten aller fünf Kohlen-/Grubentäube zusammengefasst, während in Abb. 4.8 nur die Daten der kleineren Dosis der unteren Fettkohle enthalten sind. Die beiden Kurven, die sich durch die Punktsymbole für die Ratten mit Tumor ziehen, sind die Funktionsgraphen, die sich als Ergebnis des komplexen Modells für das Tumorrisiko in Abhängigkeit von der Versuchszeit ergeben. Dabei ist in der dick durchgezogenen Kurve die Annahme enthalten, dass nur eine dosisabhängige Erhöhung der Zellproliferation, jedoch keine Gentoxizität des Staubs, die Erhöhung des Tumorrisikos bedingt. Die durchbrochene Kurve ergab sich unter der Annahme von Gentoxizität des Staubs, d. h. von einer dosisabhängigen Erhöhung der Mutationsraten normaler bzw. initiiertes Zellen gemäß dem Kanzerogenesemodell.

Die Abb. 4.9 bis 4.11 sind analog zu Abb. 4.8 gezeichnet für die größere Dosis des gemahlten Kohlenstaubs „untere Fettkohle“ und für die beiden Dosen des Grubentstaubs „Fettkohle“. Aus den Kurven für das Tumorrisiko der Abb. 4.8 bis 4.11 lässt sich für jeden Zeitpunkt der Versuchszeit zwischen 0 und zirka 130 Wochen das Tumorrisiko ablesen, bzw. es lässt sich nach der mathematischen Funktion, die der Kurve zugrunde liegt, berechnen. Besonders interessant ist dies für das Versuchsende bei zirka 130 Wochen. Das Risiko, das für diesen Zeitpunkt erhalten wird, entspricht dem Anteil von Tieren mit Tumor an der Zahl der Ratten *at risk*, der als Ergebnis des Kanzerogenitätsversuchs berechnet wurde („Tumorhäufigkeit“). Da den Kurven eine stetige mathematische Funktion in Abhängigkeit von der Dosis zugrunde liegt, lässt sich das Risiko beim Zeitpunkt 130 Wochen nicht nur für die

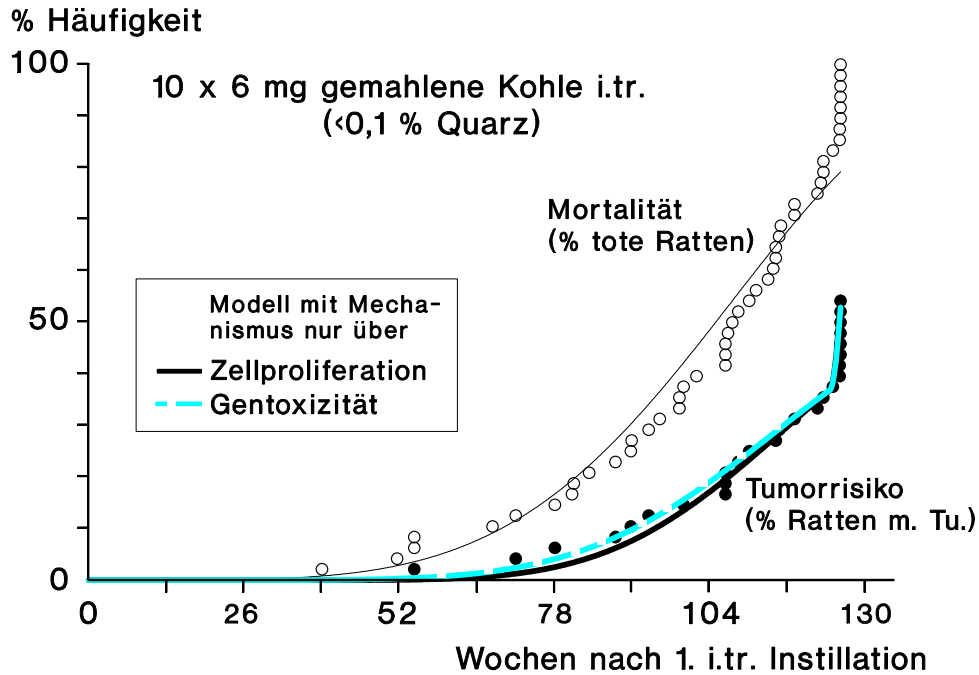


Abb. 4.8 Zeit-Risikobeziehungen für die kleinere von zwei Dosierungen der unteren Fettkohle (quarzarmer gemahlener Kohlenstaub); Auswertung mit einem biologisch-basierten Modell von ROLLER (1999; s. Text)

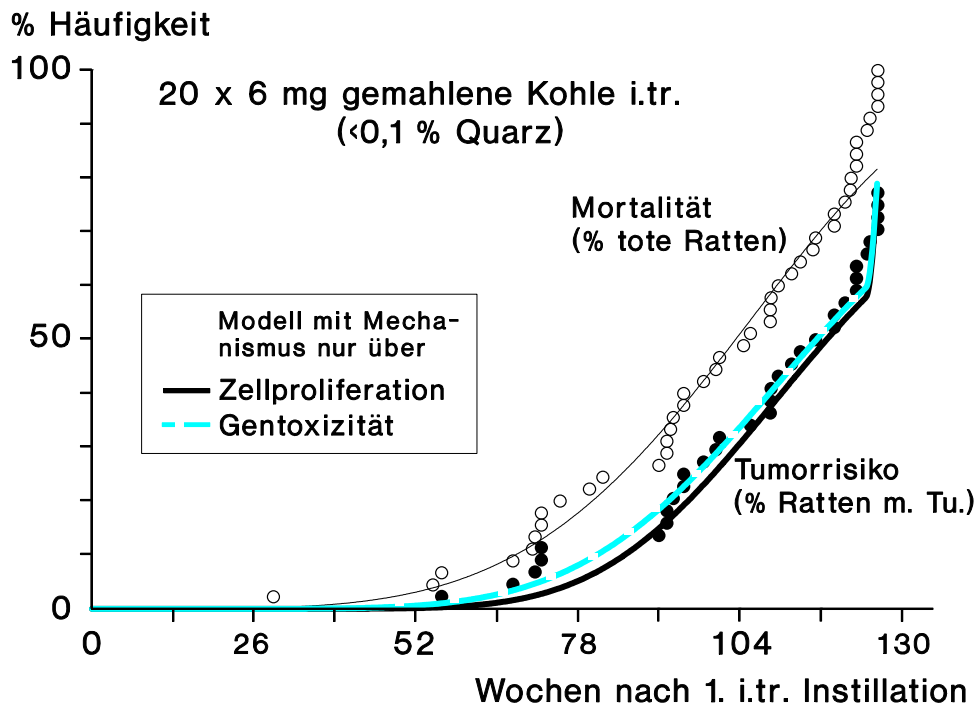


Abb. 4.9 Zeit-Risikobeziehungen für die größere von zwei Dosierungen der unteren Fettkohle (quarzarmer gemahlener Kohlenstaub); wie Abb. 4.8

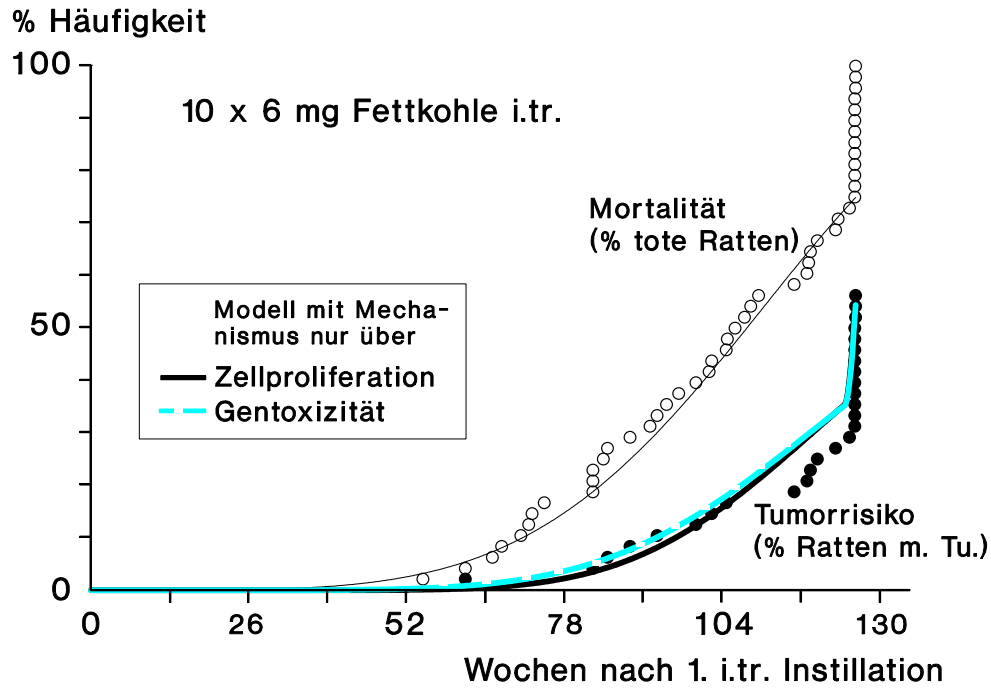


Abb. 4.10 Zeit-Risikobeziehungen für die kleinere von zwei Dosierungen der Fettkohle (quarzarmer Kohlenrubenstaub); wie Abb. 4.8

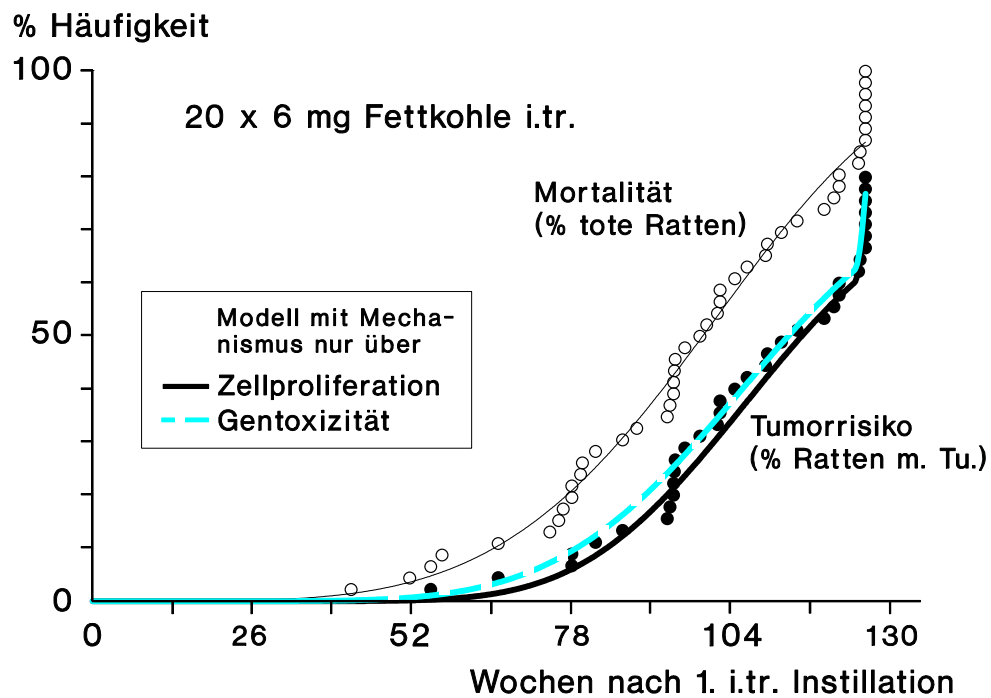


Abb. 4.11 Zeit-Risikobeziehungen für die größere von zwei Dosierungen der Fettkohle (quarzarmer Kohlenrubenstaub); wie Abb. 4.8

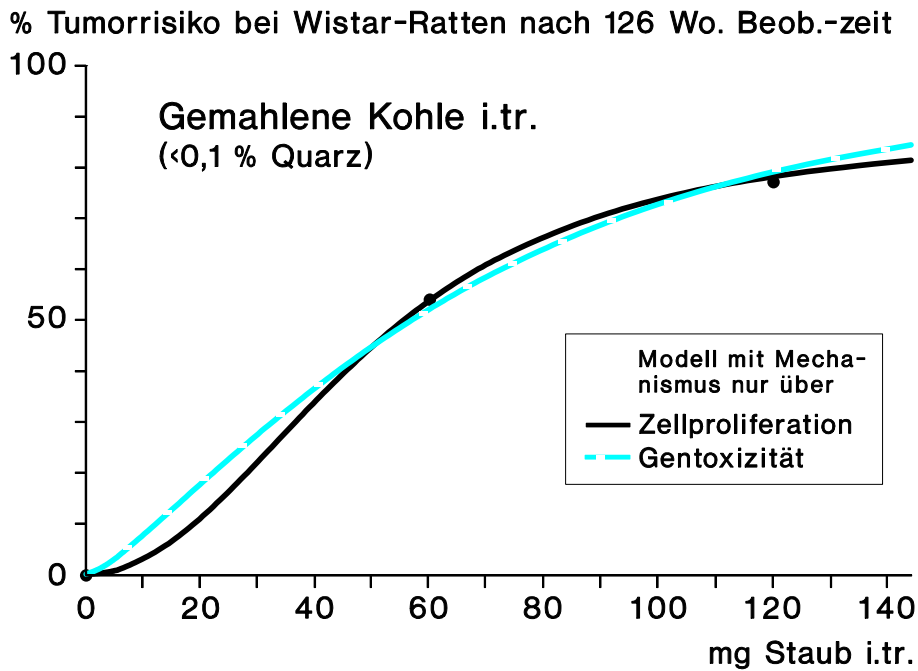


Abb. 4.12 Dosis-Risikobeziehungen für die untere Fettkohle (quarzarmer gemahlener Kohlenstaub). Die Punkte geben die beobachteten Tumorfrequenzen bei der Kontrollgruppe und den beiden Dosierungen von 10 bzw. 20 mal 6 mg an. Die Kurven repräsentieren das Tumorrisiko nach 126 Wochen Beobachtungszeit entsprechend dem biologisch-basierten Modell (s. Text); Auswertung von ROLLER (1999)

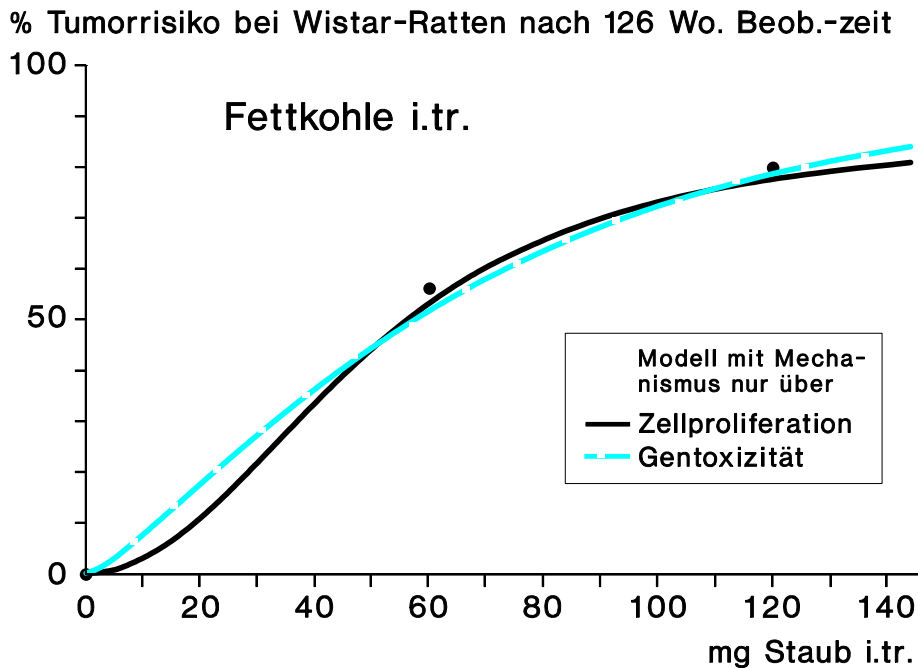


Abb. 4.13 Dosis-Risikobeziehungen für die Fettkohle (quarzarmer Kohlenstaub); wie Abb. 4.12

experimentell verwendeten Dosen, sondern für jeden beliebigen Dosiswert berechnen. Die Kurven für das Tumorrisiko nach 130 Wochen, die sich so in Abhängigkeit von der instillierten Dosis ergeben, sind in den Abb. 4.12 und 4.13 gezeichnet. Dort sind als Punktsymbole auch die Tumorfrequenzen (gemäß Tab. 3.1) eingetragen. Die Kurven sind dabei nicht „Anpassungen“ an diese Punkte, sondern die Kurven sind durch eine Anpassung eines komplexen Modells an die im Laufe der Versuchszeit bei der jeweiligen Dosis zunehmende Zahl von Tieren mit primärem Lungentumor entstanden (Abb. 4.8 bis 4.11).

Die Abb. 4.8 bis 4.13 zeigen, dass sich allein anhand eines Vergleichs der jeweiligen Beobachtungsdaten mit Kurvenverläufen, die sich gemäß einem sogenannten biologisch-basierten Modell unter verschiedenen Annahmen ergeben, keine eindeutige Entscheidung für einen gentoxischen oder nicht-gentoxischen Mechanismus treffen lässt. Unter beiden Szenarien können sich Kurvenverläufe ergeben, die mit den beobachteten Häufigkeiten von Tieren mit Tumor recht gut übereinstimmen. Im unteren Kurvenbereich unterscheiden sich die Modelle unter den alternativen Annahmen zu einem gewissen Grad. Unsicherheiten, die in einer Verwendung solcher Modelle für eine Risikoabschätzung des Menschen bestehen würden, betreffen nicht nur die Entscheidung für die Annahme des einen oder anderen Mechanismus. Sie betreffen außerdem die Übertragung vom Instillationspfad auf den Inhalationspfad, was in der Logik der Modelle mittels der toxikokinetischen Ansätze innerhalb des Modells lösbar sein dürfte (vgl. auch Abschnitt 5.5.1). Die Unsicherheiten betreffen aber vor allem die Übertragung auf den Menschen, wobei der Logik der Modelle folgend die speziesspezifischen Werte für Zellzahlen, Zellproliferationsraten, Spontanmutationsraten und Lebenszeiten der Organismen zu berücksichtigen wären.

5 Diskussion

5.1 Dosismaß

5.1.1 Optimaler Maßstab für die kanzerogene Potenz: GBS-Volumen in Verbindung mit der Partikelgröße

Aus den Ergebnissen der 19-Stäube-Studie mit 16 GBS lässt sich eindeutig schließen, dass das Volumen in Verbindung mit der Partikelgröße das kanzerogene Agens besser repräsentiert als die BET-Oberfläche und die Masse. Die Auswertungen von Dosis-Häufigkeitsbeziehungen, die zu diesem Schluss führen, sind in den Abschnitten 4.2 und 4.3 ausführlich beschrieben. Bei der statistischen Analyse sind folgende beiden sachlogischen Überlegungen vorzuschicken: Stark hyperlineare Dosis-Häufigkeitsbeziehungen für GBS sind biologisch wenig plausibel, die wahre spontane Lungentumorhäufigkeit bei Wistar-Ratten kann praktisch nicht oberhalb von 1 % liegen. Die Abb. 4.3 zeigt, dass sich unter Einhaltung dieser Bedingungen für das Dosismaß Staubvolumen bei Unterscheidung nach drei Partikelgrößenklassen einleuchtende Dosis-Tumorhäufigkeitsbeziehungen ergeben. Das statistische Maß der relativen „Anpassungsgüte“ des Modells an die Daten ist hoch: eine erklärte Varianz von 69 %. Mit dem Dosismaß Stauboberfläche ist die Anpassungsgüte wesentlich schlechter (Abb. 4.4); sie ist selbst dann schlechter, wenn man dabei eine wenig plausible hyperlineare Kurvenform zulässt (erklärte Varianz maximal 47 %).

In der Abb. 4.3 ist nach drei Größenklassen unterschieden: ultrafeine GBS (mittlerer Durchmesser 0,01 - 0,03 μm), klein-feine GBS (0,09 - 0,2 μm) und groß-feine GBS (1,8 - 4 μm). Anstatt nach diskreten Größenklassen zu unterscheiden lässt sich die Abhängigkeit des Tumorrisikos von der Partikelgröße auch anhand einer stetigen Variable modellieren (Abb. 4.5, Abb. 4.6). Ein solcher fließender Übergang erscheint biologisch plausibler als Sprünge der kanzerogenen Potenz bei bestimmten Durchmesserstufen. Es ergeben sich gute Modellanpassungen, wenn man die kanzerogene Potenz pro retinierter Staubvolumeneinheit in Abhängigkeit vom Kehrwert des Logarithmus des Durchmessers oder der zweiten bis dritten Wurzel des Durchmessers formuliert. Dies bedeutet, dass die Abhängigkeit der kanzerogenen Potenz von der Partikelgröße schwächer als linear ist: Eine Halbierung der Partikelgröße führt nicht zu einer Verdoppelung der kanzerogenen Potenz. Anhand der Formeln in Abschnitt 4.3 lassen sich Relationen der kanzerogenen Potenzen beliebiger Durchmesserwerte berechnen. Für Stäube mit mittleren Durchmessern von 15 nm - 200 nm - 2,5 μm haben wir eine Relation der kanzerogenen Potenz von 5,5 zu 2,2 zu 1 berechnet. Vereinfacht gesagt ergibt sich für eine Relation der Durchmesserwerte von 100 zu 10 zu 1 eine Relation der kanzerogenen Potenzen von lediglich ungefähr 5 zu 2 zu 1.

Der Wirkungsmechanismus, nach dem GBS zur Lungentumorbildung bei Ratten führen, ist letztlich unbekannt (Abschnitt 5.2). Von MORROW (1988) wurde aber die mechanistische Vorstellung einer Volumenbeladung von Makrophagen veröffentlicht, die dem Dosismaß des GBS-Volumens einen theoretischen Hintergrund liefert. Die These von MORROW wurde von der MAK-Kommission bei der Festsetzung des allgemeinen Staubgrenzwertes in den 1990er Jahren aufgegriffen und eine Staubvolumenbeladung der Lunge in Höhe von 1 $\mu\text{L/g}$ Lunge wurde als eines der Kriterien

bei der Ermittlung des Grenzwerts verwendet (GREIM, 1997). Bis zur Klärung des Wirkungsmechanismus kann das GBS-Volumen vorläufig als das biologisch wirksame Agens angesehen werden und die Partikelgröße als die Eigenschaft, die die Wahrscheinlichkeit beeinflusst, mit der das Volumen sich auf die verschiedenen Lokalisationen in der Lunge verteilt und infolgedessen die Dosis an den für die Wirkungen wichtigen Zielpunkten mitbestimmt, wo immer diese auch liegen mögen. Die größere Abwanderungsrate der kleineren Teilchen in die Lymphknoten im Vergleich mit den größeren erschwert zusätzlich die Ermittlung der tatsächlich wirksamen Dosen und der kanzerogenen Potenz der unterschiedlichen Teilchengrößen, deren Spektrum sehr breit sein kann.

Aus den Auswertungen empirischer Dosis-Wirkungsbeziehungen, die von DRISCOLL (1996), OBERDÖRSTER (2001) und TRAN et al. (2000) als Unterstützung der Oberflächenhypothese angeführt wurden, kann kein Argument gegen das Staubvolumen als Dosismaß abgeleitet werden, weil dort Dosis-Wirkungsbeziehungen für das Volumen unter gleichzeitiger Berücksichtigung der Partikelgröße gar nicht ausgewertet wurden (s. auch Abschnitt 5.1.2).

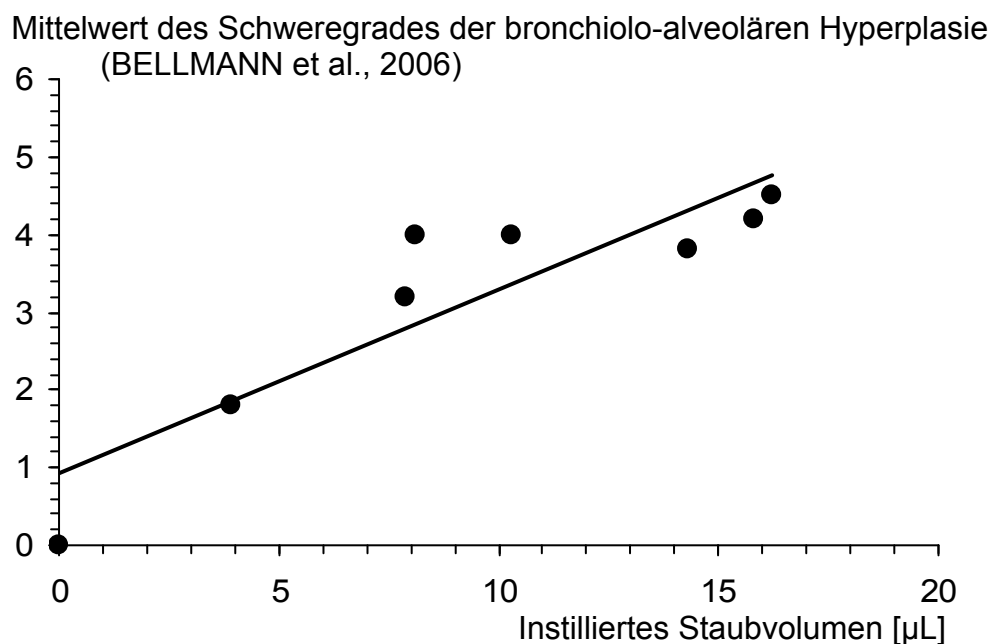


Abb. 5.1 Dosis-Wirkungsbeziehungen für den Endpunkt bronchiolo-alveoläre Hyperplasie in der Studie von BELLMANN et al. (2006). Das biologische Material stammt von Versuchsgruppen der 19-Stäube-Studie, denen Aluminiumoxid UF, Aluminiumsilikat UF, TiO₂ hydrophil UF, TiO₂ hydrophob UF sowie Ruß UF instilliert worden war, und von der entsprechenden unbehandelten Kontrollgruppe. Die eingezeichnete Trendlinie soll hier lediglich die gute Korrelation verdeutlichen, sie ist kein Modell im Hinblick auf die wahre Dosis-Wirkungsbeziehung.

Auch die neueren Untersuchungen und Auswertungen nicht-neoplastischer Endpunkte von BELLMANN et al. (2006) sprechen für das retinierte Staubvolumen als Dosismaß. Diese Autoren fanden nach feingeweblicher Untersuchung ausgewählter

Versuchsgruppen der 19-Stäube-Studie (nur ultrafeine Stäube berücksichtigt, um nur ähnliche Partikelgrößen zu haben) deutlich bessere Korrelationen zwischen Staubvolumen und Entzündung sowie Fibrose als zwischen Stauboberfläche und Entzündung sowie Fibrose. In dieser Studie wurde für die semiquantitative Bewertung der nicht-neoplastischen histopathologischen Lungenbefunde eine Graduierung durchgeführt, die neben histologischen Kriterien insbesondere Ausbreitung bzw. Größe berücksichtigt, und zwar nach einer Abstufung von 0 = nicht nachweisbar bis 5 = sehr hochgradig; für die histopathologische Befundung wurde dabei die WHO/IARC Nomenklatur zur Klassifikation von Präneoplasien bei der Ratte verwendet. Die solchermaßen graduierten Endpunkte wurden als bronchiolo-alveoläre Hyperplasien, Plattenepithelmetaplasie, Becherzellmetaplasie, Becherzellhyperplasie, alveoläre Lipoproteinose, Cholesteringranulome, Ansammlung partikelbeladener Makrophagen, alveoläre und interstitielle Entzündungszellinfiltrate und Fibrose bezeichnet. Außerdem wurde der Fibrosegrad morphometrisch bestimmt. Abb. 5.1 zeigt beispielhaft eine Dosis-Wirkungsbeziehung für den Mittelwert des Schweregrads der bronchiolo-alveoläre Hyperplasien in Abhängigkeit vom Staubvolumen.

5.1.2 Die Stauboberfläche eignet sich nicht als universelles Dosismaß

Die statistische Analyse der Dosis-Häufigkeitsbeziehungen für die 16 GBS der 19-Stäube-Studie hat für das Dosismaß *BET-Oberfläche* eindeutig schlechtere Anpassungen ergeben als für das Dosismaß *Staubvolumen* unter Berücksichtigung verschiedener Partikelgrößen (Abschnitt 4.3). Dabei ist es nicht sinnvoll, beim Dosismaß *Oberfläche* nach Partikelgrößen zu differenzieren, denn das ist gerade die Begründung, weshalb das Oberflächenmaß von einigen Autoren ins Spiel gebracht wurde: Die kleineren Partikeln sind wirksamer, weil ihre spezifische Oberfläche größer ist. Wenn also die Oberfläche als Dosis verwendet wird, dürfte im Übrigen die Partikelgröße keine Rolle mehr spielen. Unter sachlogisch begründetem Ausschluss hyperlinearer Dosis-Wirkungskurven ergab sich aber für die geschätzte retinierte BET-Oberfläche als Dosis eine erklärte Varianz der Lungentumorhäufigkeiten von lediglich 2,8 % (Abb. 4.4). Selbst unter Zulassen einer wenig plausiblen hyperlinearen Kurvenform - oder auch bei Unterscheidung nach Partikelgrößen - ergab sich eine deutlich geringere erklärte Varianz als für das geschätzte retinierte Staubvolumen in Verbindung mit einer Partikelgrößen-Variablen. Auch für die nicht-neoplastischen Veränderungen, die von BELLMANN et al. (2006) an Stichproben aus der 19-Stäube-Studie ausgewertet wurden, fanden sich bessere Korrelationen zwischen den mittleren Schweregraden von Entzündungen bzw. Fibrose mit dem Staubvolumen als mit der Stauboberfläche (s. o., 5.1.1).

Das Kriterium *GBS-Oberfläche* wurde im Wesentlichen von drei Autoren bzw. Autorengruppen (Driscoll, Oberdörster, Tran) aufgrund von Datenanalysen als der beste Dosismaßstab für die Wirkungsstärke von GBS beurteilt. Andere Autoren schlossen sich dieser Schlussfolgerung ohne Prüfung der Daten an, z. B. GREIM et al. (2001): „*Studies in rodents have shown that particle surface area is a better predictor than particle mass for both PMN (Oberdörster, 1996; Tran et al., 2000) and tumor (Driscoll, 1996) responses*“. Die Mess-Empfehlung der Autoren betrifft Partikeloberfläche, Anzahl, Masse und Durchmesser; die Dichte bzw. das Volumen werden nicht erwähnt. In anderen Veröffentlichungen mit GBS wird die Frage nach dem optimalen Maßstab nicht diskutiert, sondern das übliche Dosismaß *Masse* angewendet; einige

Arbeiten eignen sich aber für entsprechende Analysen. Die nach unserer Kenntnis wichtigsten Arbeiten werden im Folgenden kurz dargestellt und erörtert.

DRISCOLL (1996) kommt nach der Zusammenfassung von 14 Messpunkten aus Inhalations- und Instillationsversuchen an drei Rattenstämmen mit Feinstäuben und Ultrafeinstäuben zu dem Ergebnis, der Maßstab Stauboberfläche korreliere besser mit der Tumorfrequenz als der Maßstab Staubmasse. Das Kriterium Volumen wurde nicht geprüft. Jedoch, bereits die Zusammenfassung von solch heterogenen Experimenten und die angewandte statistische Methode machen den Rückschluss auf die Oberfläche als optimalen Maßstab fragwürdig. Bei den Analysen von Driscoll fallen folgende Aspekte auf:

- für die Regressionsanalyse wurden die nicht optimale Methode der kleinsten Quadrate und ein ungewöhnliches Modell (das Werte größer als 100 % und kleiner als 0 % Tumorfrequenz annehmen kann) verwendet;
- in ungewöhnlicher Weise wurden die Datenpunkte, bei denen keine als statistisch signifikant bewertete Tumorfrequenz aufgetreten war, aus der Analyse ausgeschlossen;
- durch den Ausschluss von Datenpunkten (z. B. Talk) verbleiben - neben dem einzelnen Datenpunkt von LEE et al. (1985) mit vermutlich weniger empfindlichen Sprague-Dawley-Ratten - letztlich nur die Daten von 3 Staubarten in der Analyse: Dieselruß, ultrafeiner Industrieruß, ultrafeines TiO₂. Die Gleichbehandlung von Lungenstaubdosen am Ende einer 15-wöchigen Instillationsperiode und denen nach zweijähriger Inhalation ist nicht adäquat.

OBERDÖRSTER (2001) zeigt Diagramme, in denen die Dosis-Wirkungsbeziehungen zwischen je drei instillierten Dosen TiO₂-Staub ultrafein und fein und den neutrophilen Leukozyten (PMN) in der Lungenspülflüssigkeit durch eine einzige Kurve gut beschrieben werden, wenn der Dosismaßstab Oberfläche verwendet wird. Mit dem Maßstab Masse ergeben sich dagegen zwei Kurven, wobei die Kurve für UF deutlich steiler ansteigt. Von diesem Einzelfall mit zwei Stäuben gleicher Dichte und wahrscheinlich auch gleicher Oberflächenstruktur kann aber nicht auf die Eignung des Maßstabs BET-Oberfläche für ein breites Spektrum von unterschiedlichen GBS geschlossen werden, wie andere Beispiele zeigen.

OBERDÖRSTER (2002) verwendete die Graphik von DRISCOLL (1996) mit dem Maßstab Oberfläche, um den Abstand zwischen der kanzerogenen Potenz von GBS und Quarzstaub zu veranschaulichen. Hieraus lässt sich ein Unterschied von etwa 1 zu 450 ablesen. Dies ist ein Ergebnis für den Wirkungsunterschied zwischen Quarz und GBS, das im Vergleich mit zahlreichen anderen aus dem Rahmen fällt und daher ein zusätzliches Argument gegen die Oberfläche als geeignetes Kriterium für die Wirkungsstärke darstellt.

TRAN et al. (2000) fanden nach Inhalation von TiO₂ und BaSO₄-Stäuben mit ungefähr gleicher Dichte eine gute Assoziation zwischen den unterschiedlichen Stauboberflächen in der Lunge und dem Gehalt an neutrophilen Zellen (PMN) in der Lungenspülflüssigkeit. Die errechneten mittleren geometrischen Durchmesser der beiden Stäube von rund 1 und 2 µm waren jedoch mit ziemlich ungleichen Partikelgrößenverteilungen verbunden (schriftliche Mitteilung von A.D. Jones und C.L. Tran an F. Pott, 06. Februar 2003), sodass 80-mal anstatt - wie rechnerisch bei ähnlicher

Größenverteilung zu erwarten - 8-mal so viele TiO_2 -Partikeln pro mg enthalten waren wie im BaSO_4 -Staub. Aus den zahlreichen kleineren Partikeln resultiert ein anderes Wanderungsverhalten, was in der deutlich größeren TiO_2 -Masse in den Lymphknoten zum Ausdruck kommt. Insgesamt ergeben die untereinander nicht konsistenten Befunde aus dem Vergleich von nur zwei Feinstäuben ohne Einschluss eines Ultrafeinstaubes keine überzeugende Basis für die Schlussfolgerung, die Oberfläche sei der optimale Maßstab für GBS über alle Teilchengrößen hinweg.

Bei einem Vergleich von Kohle und ultrafeinem Ruß im Hinblick auf den PMN-Gehalt in der Lungenspülflüssigkeit (ERNST et al., 2002) wurde die Frage nach dem optimalen Dosismaßstab zwar nicht diskutiert, aber die Ergebnisse eignen sich für eine solche Betrachtung. 9 Monate nach 10 wöchentlichen Instillationen von je 0,5 mg Ruß-UF oder je 1,0 mg Kohlenstaub (Magerkohle, wie in Tab. 2.1 charakterisiert) ergab sich folgendes: Das 2,6-fache Staubvolumen von Kohle im Vergleich mit Ruß war mit der halben Anzahl PMN in der BAL assoziiert. Daher kann man - auf den Maßstab Volumen bezogen - von einer fünffach stärkeren Wirkung des ultrafeinen Rußes sprechen. Auf die Oberfläche bezogen war Ruß mit einer 73-mal größeren BET-Oberfläche ($\sim 300 \text{ m}^2/\text{g}$ im Vergleich zu $4,1 \text{ m}^2/\text{g}$) 37-mal höher dosiert als Kohle und erzeugte etwas mehr als die doppelte Anzahl PMN. Nach linearer Umrechnung wäre die Oberfläche des Kohlenstaubs etwa 15-mal wirksamer als beim Ruß.

Auch in der Arbeit von DRISCOLL et al. (1997) über PMN und Zahl der hprt-Mutanten pro 10^6 Alveolarepithelzellen in der BAL-Flüssigkeit nach Instillation von Quarz, Ruß-UF und TiO_2 -F wurde die Frage nach dem optimalen Dosismaßstab für die beiden GBS nicht diskutiert, die Arbeit enthält jedoch Dateninformation zu dieser Frage, wie bei ROLLER (2003a) dargestellt. Ruß und Titandioxid liegen bei Bezug auf das Staubvolumen ungefähr auf einer gemeinsamen Kurve, wobei erwartungsgemäß der ultrafeine Ruß einen etwas stärkeren Effekt zeigt. Eine wesentlich stärkere Wirkung des TiO_2 im Vergleich mit dem ultrafeinen Ruß, wie sie anhand der Oberflächendosis in Erscheinung tritt, ist biologisch nicht plausibel. Es muss in Betracht gezogen werden, dass es sich bei diesem Unterschied ebenso wie bei der oben genannten rechnerisch erheblich größeren Wirksamkeit der Kohlenstauboberfläche im Vergleich zu ultrafeinem Industrieruß um ein Artefakt aufgrund eines ungeeigneten Dosismaßes handelt. Die etwas stärkere Wirkung des Ruß-UF im Vergleich mit dem TiO_2 -F lässt sich somit nicht mit der Oberflächendosis erklären, sondern eher mit einer größeren Wanderung der ultrafeinen Teilchen und damit zugleich ihres größeren Volumens an die - letztlich unbekanntes - „sensiblen“ Stellen in der Lunge, an denen das Wirkungspotenzial der Partikeln in Effekte umgesetzt wird.

PMN-Daten aus dem Inhalationsexperiment mit Toner und TiO_2 (MUHLE et al., 1991; BELLMANN et al., 1991) zeigen mit dem Maßstab Volumen lineare Dosis-Wirkungsbeziehungen (Toner- und TiO_2 -Punkte passen gut zusammen; Abb. 5.2, oberer Teil). Dabei finden sich statistisch signifikant erhöhte Werte unterhalb des 1997er-MAK-Volumengrenzwerts von $1 \mu\text{L}$ Staub/g Kontroll-Lunge. Mit dem Oberflächenmaßstab passen die Daten in dem Diagramm dagegen schlecht zusammen (TiO_2 -Punkt deutlich von der Toner-Geraden entfernt; Abb. 5.2, unterer Teil). Mit dem Maßstab *Oberfläche*, für den TRAN et al. (2000) aus ihren Inhalationsversuchen mit zwei Stäuben bei $200 - 300 \text{ cm}^2/\text{Lunge}$ eine Wirkungsschwelle für PMN ableiteten, wird außerdem deutlich, dass PMN-Werte aus dem Experiment von 1991 unterhalb dieser hypothetischen Schwelle signifikant erhöht waren. Die Ergebnisse sprechen für das Volumen

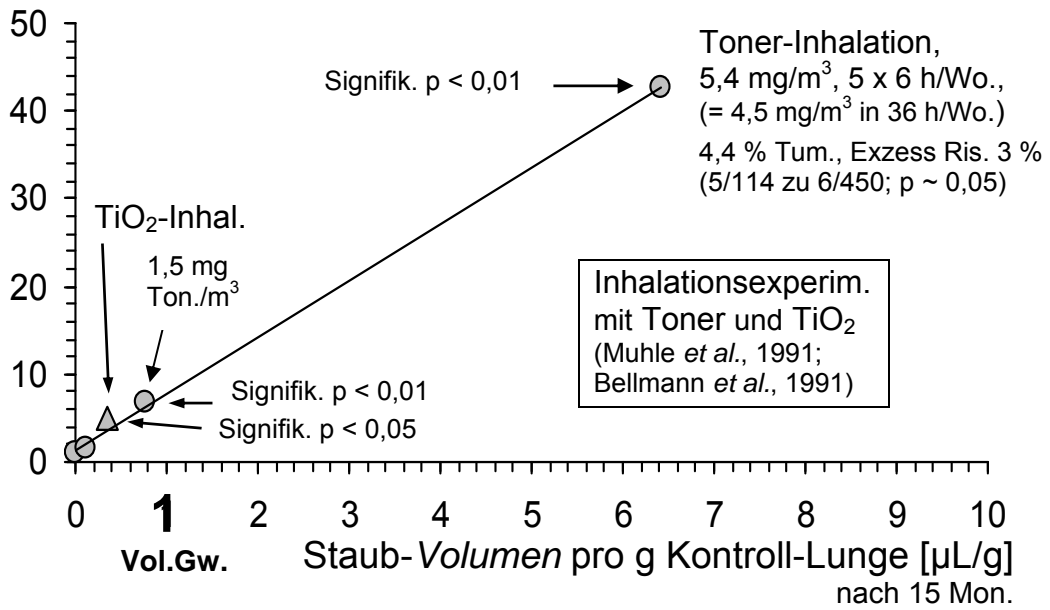
als das bessere Dosismaß und außerdem gegen das Vorliegen einer Wirkungsschwelle in Höhe des MAK-Volumengrenzwerts gemäß GREIM (1997).

STOEGER et al. (2006) untersuchten die Lungenspülflüssigkeiten von je 8 Mäusen pro Gruppe 24 h nach der Instillation von 6 teils natürlichen, teils künstlichen Rußen mit mittleren Durchmessern zwischen 10 und 50 Nanometern. Aus den Ergebnissen wurde Folgendes geschlossen: 1. Die BET-Oberfläche stellt einen geeigneten Maßstab für die Abschätzung der Wirkung von Ultrafeinstäuben aus Kohlenstoff dar. 2. Es gibt eine Dosischwelle für Entzündungszeichen in der Lungenspülflüssigkeit. Dazu ist allgemein zu sagen, dass ein Versuch über 24 Stunden keine spezifische Aussage über das Risiko von neoplastischen und nicht-neoplastischen Läsionen am Ende der Lebenszeit zulässt und dass ein nicht mit statistischer Signifikanz nachweisbarer Effekt bei 8 oder 10 Mäusen nicht mit einem Nullrisiko bei einer großen Zahl von Menschen gleichzusetzen ist. Ferner zeigt ein Übertragen der Datenpunkte in ein lineares Koordinatensystem, dass die Kurve in der Abbildung über die Beziehung zwischen der Oberfläche der instillierten Ruße und dem PMN-Gehalt in der Lungenspülflüssigkeit nur wegen der logarithmischen Teilung der Dosisachse „durchhängend“ erscheint (vgl. Abschnitt 5.3.1). Im übrigen umfasste das Experiment nur Stäube mit ultrafeinen Primärpartikeln innerhalb eines relativ schmalen Korngrößenbereichs und fast gleicher Dichte, sodass die Klärung arbeitsplatzrelevanter Unterschiede zwischen Partikelgrößen und Staubvolumina bei gleicher Staubmasse nicht in den Fragestellungen des Versuchsplans enthalten war. Infolgedessen werden die aus der 19-Stäube-Studie gezogenen Erkenntnisse bezüglich des optimalen Dosismaßstabs für die nicht-neoplastische und kanzerogene GBS-Langzeitwirkung auf die Lunge mit dem Kurzzeitversuch an Mäusen nicht widerlegt oder in ihrer Aussagekraft eingeschränkt.

Einerseits kann eine wissenschaftlich zweifelsfreie Beurteilung über den optimalen Dosismaßstab für GBS im gesamten Partikelgrößenbereich in den Beziehungen zu den biologischen Wirkungen aufgrund der gegenwärtigen Datenlage nicht getroffen werden; andererseits ist eine gegenwärtige Entscheidung für den Maßstab GBS-Volumen unter Berücksichtigung der Partikelgrößen gerechtfertigt. Dabei reicht die Unterteilung in die beiden Größenklassen fein und ultrafein offensichtlich nicht aus. Aus biologischer Sicht ist ein fließender Übergang zwischen etwa 0,01 und 4 µm anzunehmen, anstatt einer formal festgelegten Stufe (Abb. 4.6).

Die stärkere Wirkung der ultrafeinen Stäube im Vergleich mit Feinstaub ist bereits häufig an den Ergebnissen aus den beiden Inhalationsversuchen von LEE et al. (1985) und HEINRICH et al. (1995) mit feinem und ultrafeinem Titandioxid demonstriert und mit einem Verhältnis von 10 zu 1 bis 20 zu 1 beziffert worden. Auch aus den in Abschnitt 5.5.1 (Tab. 5.6) enthaltenen Daten dieser beiden Versuche lässt sich ein Verhältnis von 9 zu 1 für die Tumorfrequenz pro µL retinierter Staub bei den weiblichen Ratten herauslesen, das um etwa 50 % höhere Lungengewicht der Sprague-Dawley-Ratten in dem Lee-Experiment im Verhältnis zu den Wistar-Ratten reduziert jedoch diesen Faktor entsprechend. Aber auch das Verhältnis 6 zu 1 ist etwas höher als nach unseren Daten errechenbar, weil der aus dem MMAD

% PMN nach 15 Mon.



% PMN nach 15 Mon.

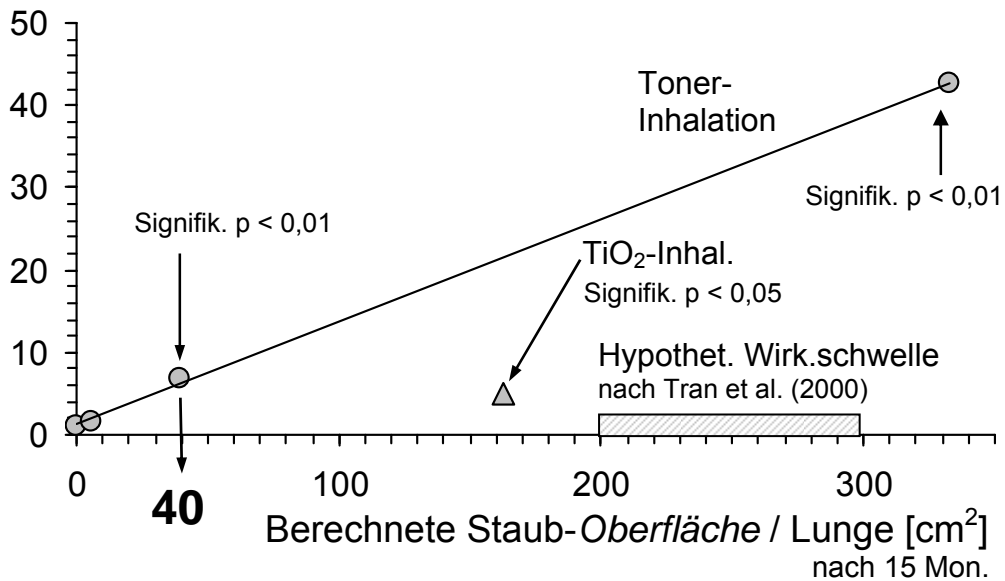


Abb. 5.2 Dosis-Wirkungsbeziehungen zwischen zwei GBS (Toner, TiO₂) und den neutrophilen Granulozyten (PMN) in der Lungenspülflüssigkeit von Ratten mit den beiden Dosismaßstäben *Volumen* (obere Graphik) und *Oberfläche* (untere Graphik); Ergebnisse aus einem Langzeit-Inhalationsversuch (MUHLE *et al.*, 1991; BELLMANN *et al.*, 1991). Die Volumen- und Oberflächendosen wurden aus den angegebenen Staubmassen und folgenden Daten errechnet: Spezifische Oberfläche Toner $3,6 \text{ m}^2/\text{g}$, TiO₂ $9 \text{ m}^2/\text{g}$; Dichte Toner $1,2 \text{ g/mL}$, TiO₂ $4,3 \text{ g/mL}$. Im oberen Bild ist auf der x-Achse der Volumengrenzwert (Vol.Gw.) von $1 \mu\text{L/g}$ gemäß der 1997er-MAK-Begründung hervorgehoben.

berechnete mittlere Partikeldurchmesser in dem Lee-Experiment $0,8 \mu\text{m}$ beträgt. Hier könnte sich die vermutete geringere Empfindlichkeit der Sprague-Dawley-Ratte zeigen; Einzelwerte sind allerdings kaum zuverlässige Stützpunkte.

Unabhängig von den experimentellen Ergebnissen besteht aus biologischer Sicht ein grundsätzlicher Einwand gegen den Oberflächenmaßstab. Er ist darin begründet, dass kleine und große Staubteilchen gleich behandelt werden; die Unterschiede in der Wanderungsfähigkeit und Lokalisation der Partikel in der Lunge bleiben unberücksichtigt. Offenbar sind die Befürworter des Oberflächenmaßstabs der Ansicht, dass die Wirkung unterschiedlicher Partikelgrößen durch die größere spezifische Oberfläche der kleineren Partikeln angemessen in das Ergebnis eingeht. **Es kann jedoch nicht zutreffen, dass die Lokalisation von Staubteilchen in der Lunge und ihre größenabhängige Abwanderung aus der Lunge für ihre biologische Wirkungsstärke gleichgültig sind.**

Außerdem ist folgende Frage zum Wirkungsmechanismus zu stellen: Wie kann die „pure“ oder „blanke“ BET-Oberfläche von physikalisch unterschiedlich gestalteten GBS-Teilchen flächenproportional biologische Wirkungen induzieren, obwohl bisher keine Eigenschaft identifiziert und gemessen wurde, die von der jeweiligen chemischen Zusammensetzung unabhängig ist? Der von vielen Autoren vermutete *unspezifische* Oberflächeneffekt ist streng zu trennen von einer *spezifischen* Oberflächentoxizität durch physiko-chemische Eigenschaften, die unterschiedlicher Art sein können. Die spezifische Toxizität ist beim Quarzstaub naturgegeben und mit messbaren Oberflächeneigenschaften erklärbar, bei anderen Stäuben kann sie z. B. durch eine Beschichtung künstlich erzeugt werden, wie bei dem von uns geprüften hydrophoben TiO_2 .

5.1.3 Die Partikelzahl eignet sich nicht als universelles Dosismaß

Insbesondere im Umweltbereich wird auch der Partikelzahl in Feinstaubfraktionen eine wichtige Rolle als Dosis beigemessen (PETERS et al., 1997; WICHMANN et al., 2000). In gewisser Weise analog zur Oberflächenhypothese wird dabei offenbar bei den besonders kleinen Partikeln gerade deshalb eine besonders große Wirkungsstärke vermutet, weil ihre Partikelzahl je Masseneinheit besonders groß ist. Von einem universellen Dosismaß ist zu fordern, dass es ohne Berücksichtigung weiterer Variablen ein gutes Maß für die Effekte verschiedener GBS-Typen darstellt. Wenn man also beobachtete Unterschiede in den Wirkungsstärken gleicher GBS-Massen unterschiedlich großer GBS-Typen mittels der unterschiedlichen spezifischen Partikelgehalte erklären will, dann sollte die Tumorfrequenz relativ einheitlich von der instillierten Partikelzahl abhängen - sowohl bei der Instillation zwei verschiedener Massendosen desselben Staubes als auch bei der Instillation zwei gleicher Massendosen von zwei Stäuben mit ganz unterschiedlicher mittlerer Partikelgröße. Es lässt sich mit sehr einfachen logischen Überlegungen belegen, dass dies mit den vorliegenden Beobachtungen nicht übereinstimmt.

Tab. 2.3 enthält z. B. die berechneten Partikelzahlen je mg Staub für den Fall idealer Stäube mit exakter Kugelgestalt der Partikeln im Vergleich mit den Stäuben der 19-Stäube-Studie. Demnach enthält ein Milligramm eines Staubes mit kugelförmigen Partikeln des Durchmessers $2 \mu\text{m}$ eine Anzahl von 0,24 Milliarden Staubteilchen, bei

Tab. 5.1 Relationen von Durchmessern, spezifischen Partikelzahlen sowie erwarteten und beobachteten Tumorrisiken bzw. kanzerogenen Potenzen (die Angaben zu den Oberflächen und Partikelzahlen beziehen sich auf „ideale Kugeln“ mit einheitlicher Größe, glatter Oberfläche und einer Dichte von 1 g/mL; die beobachteten kanzerogenen Potenzen beziehen sich auf reale Stäube)

Partikeldurchmesser	2,0 µm	0,2 µm	0,02 µm
Bezeichnung des Größenbereichs	groß-fein	klein-fein	ultrafein (Nanopartikel)
Verhältnisse der Kehrwerte der Partikeldurchmesser	1	10	100
<i>3. Wurzel davon</i>	<i>1</i>	<i>~ 2</i>	<i>~ 5</i>
Verhältnisse der BET-Oberflächen im Fall „idealer Kugeln“	1	10	100
Partikelzahl pro mg im Fall „idealer Kugeln“ [10^9 /mg]	0,24	240	240 000
Verhältnisse der Partikelzahlen im Fall „idealer Kugeln“	1	1 000	1 000 000
<i>Erwartetes</i> Verhältnis der Tumorrisiken mit dem Dosismaß <i>Partikelzahl</i>	1	<i>~ 1 000</i>	<i>~ 1 000 000</i>
<i>Beobachtetes</i> Verhältnis der volumenbezogenen Tumorrisiken mit realen Stäuben mit den angegebenen mittleren Durchmesserwerten, Abb. 4.1.4 (Pott und Roller, 2005)	1	<i>~ 2</i>	<i>~ 5</i>

einem Durchmesser von 0,2 µm aber 1 000-mal so viele, nämlich 240 Milliarden. Wenn die Partikelzahl den universellen GBS-Dosismaßstab verkörpern würde, dann wäre nach Retention von 1 mg Staub mit 0,2-µm-Partikeln ein 1 000-mal höheres Risiko zu erwarten als nach Retention von 1 mg Staub mit 2-µm-Partikeln. Ein mittlerer Durchmesser von 2 µm mag als „typischer“ Durchmesser von GBS-GF (groß-fein) gelten, ein mittlerer Durchmesser von 0,2 µm als typisch für GBS-KF (klein-fein). Die kanzerogenen Potenzen von GBS-GF und GBS-KF müssten sich also um einen Faktor von 1000 unterscheiden. Tatsächlich haben wir in der 19-Stäube-Studie aber nur einen Unterschied von ungefähr 1 zu 2 gefunden. Der Durchmesser beeinflusst ganz offensichtlich die kanzerogene Potenz, aber nicht - wie bei ursächlicher Beteiligung der Partikelzahl zu erwarten - in der dritten Potenz ($10^3 = 1000$), sondern ungefähr mit der dritten Wurzel (3. Wurzel aus 10 = $10^{0,33} = 2,2$). Diese Zusammenhänge sind in Tab. 5.1 zusammengefasst.

Mit diesen Überlegungen wird auch ohne aufwendige Regressionsanalysen klar, dass mittels der unterschiedlichen Partikelgehalte der verschiedenen GBS deren kanzerogenen Potenzen nicht hinreichend erklärt werden können. Wir haben keine Regressionsanalysen mit den Partikelzahlen durchgeführt, weil uns bei der statistischen Auswertung der Studie keine eindeutigen Zahlen zu den Partikelgehalten der Stäube vorlagen. Mittlerweile wurden von RÖDELSPERGER et al. (2006) elektronenmikroskopisch Partikelgehalte als Primärteilchen (PT) pro mg und als Aggregate und Agglomerate (A+A) pro mg ermittelt. Zu den Ergebnissen liegen uns keine Zahlenwerte, z. B. in Form einer Tabelle, vor, sondern lediglich eine Balkengrafik. Aus dieser Grafik haben wir beispielhaft für Magerkohle und für TiO₂ UF die Primärteilchengehalte abgegriffen, sie betragen demnach für Magerkohle 5×10^9 PT pro mg und für TiO₂ UF 3×10^{12} PT pro mg. Die Instillation von 66 mg Magerkohle führte zu einer Tumorzahlfrequenz von 57 %, in 66 mg Magerkohle sind nach den Messungen von Rödelsperger 3×10^{11} PT enthalten. Wenn die Zahl der PT das universelle Dosismaß wäre, dann ließe sich abschätzen, dass mit der Instillation von 3×10^{11} PT ein Tumorrisiko von etwa 50 bis 60 % verbunden wäre. Die Zahl von 3×10^{11} PT ist nach den Messungen von Rödelsperger in einer Staubmenge von 0,1 mg TiO₂ UF enthalten. Wenn allein die Partikelzahl das Tumorrisiko bestimmen würde, dann müsste die winzige Menge von lediglich 0,1 mg TiO₂ UF zu einem Tumorrisiko von 50 - 60 % führen. Es gibt keine empirischen Daten, die auch nur den Hauch eines Hinweises liefern, dass 0,1 mg eines ultrafeinen Staubes in der Rattenlunge zu einem Tumorrisiko von 50 - 60 % führen würden. Die kleinste Dosis an TiO₂ UF, die wir in der 19-Stäube-Studie eingesetzt haben, waren 15 mg, also das 150fache von 0,1 mg. Diese 15 mg haben zu einem Tumorrisiko von 52 % geführt (wobei offensichtlich noch keine „Sättigung“ erreicht war, weil die höheren Dosen mit höheren Tumorzahlfrequenzen verbunden waren und die höheren Tumorzahlfrequenzen bei den ultrafeinen GBS im Vergleich zu den niedrigeren Dosen auch statistisch signifikant höher waren; siehe Tab. 3.7, 3.8). Ein Tumorrisiko von 50 - 60 % ist bei TiO₂ UF also mit einer Dosis von 15 mg entsprechend $4,5 \times 10^{13}$ PT verbunden. Diese Dosis-Risiko-Relationen von Magerkohle und TiO₂ UF hier noch einmal zusammengefasst:

66 mg Magerkohle (groß-fein)	=	$3,3 \times 10^{11}$ PT	→	57 % Tumorrisiko
15 mg TiO ₂ UF (ultrafein)	=	$4,5 \times 10^{13}$ PT	→	52 % Tumorrisiko

Es werden im Falle des ultrafeinen Staubes demnach mehr als 100-mal mehr Partikeln als beim groß-feinen Staub benötigt, um dasselbe Tumorrisiko zu bewirken.

Dieses Beispiel ist kein Einzelfall, sondern lässt sich ähnlich auch an anderen Staubvergleichen nachvollziehen, es stimmt grundsätzlich mit den Schlussfolgerungen überein, die oben anhand von „Idealstäuben“ mit exakt kugelförmigen Partikeln gezogen wurden.

Anhand der quantal-linearen Dosis-Risikobeziehungen bei den GBS der 19-Stäube-Studie (Abb. 4.1) darf angenommen werden, dass eine Verdoppelung der Dosis an Magerkohle, mithin also auch eine Verdoppelung der Partikelzahl an Magerkohle, zu ungefähr einer Verdoppelung des Tumorrisikos führt (unterhalb eines Tumorrisikos von 50 %). Ebenso darf angenommen werden, dass eine Verdoppelung der Dosis an TiO₂ UF, mithin also auch eine Verdoppelung der Partikelzahl an TiO₂ UF, zu ungefähr einer Verdoppelung des Tumorrisikos führt. Die doppelte Zahl von ultrafeinen

TiO₂-Partikeln wird aber im Vergleich zu Magerkohle-Partikeln nicht annähernd zu einer Verdoppelung des Risikos führen. Wir haben festgestellt, dass tatsächlich eine mehr als 100fach höhere Zahl an ultrafeinen TiO₂-Primärteilchen notwendig war, um ungefähr dasselbe Tumorrisiko zu bewirken wie mit Magerkohle. Auch aus diesem Widerspruch - lineare Abhängigkeit des Tumorrisikos von der Partikelzahl bei gleicher Partikelgröße versus Unberechenbarkeit des Tumorrisikos anhand der Partikelzahl bei Unkenntnis der Partikelgröße - wird deutlich, dass die Partikelzahl als universelles Dosismaß schlecht geeignet ist.

Diese Erkenntnis hat insofern eine Bedeutung für die Praxis als mehrfach vorgeschlagen wurde, die Belastung der Bevölkerung in der allgemeinen Umwelt mit Feinstaub anhand der Partikelzahlkonzentrationen zu beurteilen. Es wurde vermutet, dass bei insgesamt gesunkener Massenkonzentration an Feinstaub die relativ hohe Zahl ultrafeiner Partikeln ein besonders großes gesundheitliches Risiko darstellen könnte. Nach unseren Ergebnissen an Ratten müssen wir davon ausgehen, dass durch relativ hohe Anzahlkonzentrationen ultrafeiner Partikeln das Risiko für Entzündungsvorgänge in der Lunge und für Lungentumoren erheblich überschätzt wird. Dort, wo man im Beispiel von Idealstäuben mit kugelförmigen Partikeln durch die Anzahl ultrafeiner Partikeln ein um eine Million höheres Risiko als bei groß-feinen Partikeln erwarten würde, haben wir nur eine Risikoerhöhung um ungefähr einen Faktor 5 beobachtet (Tab. 5.1); auch ein Faktor 10 wäre ähnlich zu beurteilen.

5.1.4 Fragen der Messtechnik - Die Kombination mehrerer Größen (Volumen, Oberfläche, Partikelzahl) zu einem komplexen Dosismaß bringt keine Vorteile

Bevor auf die Frage nach einem komplexeren Dosismaß aus Volumen, Oberfläche und Partikelzahl, wie es von Rödelsperger im Hinblick auf die Messtechnik vorgeschlagen wurde, eingegangen wird, seien nochmals die fundamentalen geometrischen Zusammenhänge aufgeführt, die für kugelförmige Partikeln gelten:

Staubvolumen = Staubmasse / Materialdichte

Partikeloberfläche = Staubmasse x spezifische Oberfläche

mit:

Spezifische Oberfläche = $6 / (\text{Dichte} \times \text{Durchmesser})$

Partikelzahl = Staubmasse x spezifischer Partikelgehalt

mit:

Spezifischer Partikelgehalt = $6 / (\pi \times \text{Dichte} \times \text{Durchmesser}^3)$

Für die folgenden Überlegungen ist es zweckmäßiger, die Formeln nicht mit ganzen Worten auszuschreiben, sondern Buchstabensymbole zu verwenden, um die Formeln kürzer schreiben zu können.

Es sei:

M = Staubmasse

ρ = Materialdichte

V = Staubvolumen

d = Partikeldurchmesser
 O = Partikeloberfläche
 Z = Partikelzahl

Dann erhält man folgende Formeln:

$$V = \frac{M}{\rho}$$

$$O = M \cdot \frac{6}{\rho \cdot d}$$

$$Z = M \cdot \frac{6}{\pi \cdot \rho \cdot d^3}$$

RÖDELSPERGER et al. (2006) haben nun vorgeschlagen, als Dosismaß für GBS eine Kombination verschiedener Größen wie Volumen, Oberfläche und Partikelzahl zu verwenden. Sie kamen zu dieser Schlussfolgerung offensichtlich nach einer Analyse der Dosis-Häufigkeitsbeziehungen der 19-Stäube-Studie. Als Maß der Partikelzahl haben sie Zahlenwerte für „Primärpartikel“ (PT) bzw. „Aggregate und Agglomerate“ (A+A) verwendet, die sie bei elektronenmikroskopischen Untersuchungen der Stäube gewonnen haben. Außer der Veröffentlichung von RÖDELSPERGER et al. (2006) wurden mehrere Varianten der Analysen bzw. etwas unterschiedliche Formulierungen der Modelle als Material in Gremiensitzungen benutzt (K. Rödelsperger, persönliche Mitteilungen). Eines der in diesem Zusammenhang als wesentlich erscheinenden Modelle lässt sich folgendermaßen formulieren:

$$\ln \frac{TuH}{1-TuH} = a + b \cdot \ln(V + K1 \cdot O + K2 \cdot Z)$$

Dabei bedeutet TuH die Tumorzahlfrequenz, d. h. den Anteil an Tieren mit primärem Lungentumor an der Zahl der Ratten *at risk*. V, O und Z sind Volumen, Oberfläche und Partikelzahl (s.o.) und K1 und K2 sind Modellparameter, die mittels Regressionsanalyse zu berechnen sind. Es handelt sich hier um ein logistisches Modell, der Ausdruck $\ln(TuH/(1-TuH))$ kann als *Logit* bezeichnet werden. Rödelsperger hat den Logit zur Variablen Y und außerdem den logarithmierten Ausdruck auf der rechten Seite zu einer Variablen X zusammengefasst. Die obige Gleichung lässt sich damit folgendermaßen kurz schreiben:

$$Y = a + b \cdot \ln(X)$$

Dabei ist X die neu eingeführte Dosisvariable, die Volumen, Oberfläche und Partikelzahl gemeinsam enthält. Als Partikelzahl wurde von Rödelsperger PT und/oder A+A (s.o.) eingesetzt. Hier sei die Dosisvariable X nochmals als Gleichung aufgeschrieben:

$$X = V + K1 \cdot O + K2 \cdot Z$$

Rödelsperger weist auf besonders gute Modellanpassungen an die Daten mit Modellen wie diesem hin. Wir halten dies nicht für überraschend, da in der Dosisvariablen letztlich genau wie in unserem Modell mit Staubvolumen und Partikelgröße, das gute Anpassungen geliefert hat, das Staubvolumen und die Partikelgröße enthalten sind. Dies ergibt sich aus den oben beschriebenen Zusammenhängen zwischen Staubmasse, Dichte, Partikelgröße, Oberfläche und Partikelzahl. Es sei im Folgenden noch weiter verdeutlicht, indem für die Variablen V , O und Z die obigen Definitionen bei ideal kugelförmigen Partikeln eingesetzt werden. Dann erhält man zunächst:

$$X = \frac{M}{\rho} + K_1 \cdot M \cdot \frac{6}{\rho \cdot d} + K_2 \cdot M \cdot \frac{6}{\pi \cdot \rho \cdot d^3}$$

Diese Gleichung lässt sich mit einfacher Schulmathematik auswerten und vereinfachen. Es kann dann folgendermaßen geschrieben werden (wobei die Konstanten zusammengefasst sind zu: $k_1 = 6 K_1$ und $k_2 = 6 K_2 / \pi$):

$$X = \frac{M}{\rho} \left(1 + \frac{k_1}{d} + \frac{k_2}{d^3} \right) = V \left(1 + \frac{k_1}{d} + \frac{k_2}{d^3} \right)$$

Diese Schreibweise zeigt, dass in dem Modell von Rödelsperger letztlich auch wie in unserem Modell Volumen und Partikelgröße (gleichbedeutend mit Masse, Dichte und Partikelgröße) enthalten sind. Es versteht sich, dass die Gleichsetzung des von Rödelsperger für X angegebenen Ausdrucks mit unserer letzten Schreibweise nur für den Fall idealer Kugeln exakt zutrifft. Bei realen Stäuben gehorchen die Zusammenhänge zwischen Durchmesser, Oberfläche und π und Partikelzahl sicherlich weniger exakt den idealen Funktionen. Grundsätzlich bestehen aber die Zusammenhänge, kleinere Partikel haben eine größere Oberfläche je Masseneinheit und eine größere Partikelzahl je Masseneinheit als größere Partikeln.

Rödelsperger hat angeführt, seine Modelle entwickelt zu haben, weil die Messung der Partikelgrößen schwierig sei und weil BET-Oberfläche und Partikelzahl besser zu messen seien. In seinen Modellen kann daher eine Variante des Dosismaßes *Staubvolumen in Verbindung mit Partikelgröße* im Hinblick auf messtechnische Gegebenheiten gesehen werden. Es ist aber zweifelhaft, ob die Messung der BET-Oberfläche (bei der auch „innere“ Oberflächen erfasst werden) eine gegebenenfalls biologisch relevante Oberfläche optimal repräsentiert. Es ist auch zweifelhaft, ob die Messung von Primärteilchen sowie Aggregaten und Agglomeraten mit geringerer Unsicherheit verbunden ist als Partikelgrößenmessungen, wobei die Bedeutung der Primärteilchen im Verhältnis zu den schwer unterscheidbaren Aggregaten und Agglomeraten, über deren Zerfall im biologischen Milieu wiederum wenig bekannt ist, unklar scheint. In jedem Fall dürfte die Messung aller drei Variablen Volumen, Oberfläche und Partikelzahl, z. B. zum Zwecke der Überwachung von Grenzwerten an einzelnen Arbeitsplätzen, aufwendig und relativ teuer sein.

An dieser Stelle erscheint eine Anmerkung im Hinblick auf Belange der Praxis angebracht. In den Abschnitten 4.3 und 5.1 haben wir als Ergebnis wissenschaftlicher Analysen toxikologischer Daten festgestellt, dass die Kanzerogenität von GBS in der Rattenlunge am besten mit einem Dosismaß beschrieben werden kann, das sowohl

das retinierte Staubvolumen als auch die mittlere Größe der Staubteilchen berücksichtigt. Offensichtlich gibt es hier klare Dosis-Wirkungsbeziehungen, die für eine stetige Abhängigkeit der kanzerogenen Potenz von der Partikelgröße sprechen, wobei diese Abhängigkeit schwächer als linear ist. Wir sind aber nicht der Meinung, dass diese Erkenntnisse in der Praxis bei der Überwachung von Grenzwerten *en detail* umgesetzt werden müssen. Nach wie vor kann unseres Erachtens die Staubkonzentration an Arbeitsplätzen als Massenkonzentration gemessen werden. Materialdichte und mittlere Partikelgröße sollten dabei nach einem praktikablen Vorgehen berücksichtigt werden. Bei „Allerweltstäuben“ mag eine Dichte von 2 - 2,5 g/mL zutreffen, bei der Verwendung oder Produktion bestimmter Stäube (z. B. Toner, TiO₂-Stäube) ist die Dichte bekannt und kann mittels eines Korrekturfaktors im Vergleich zum „Durchschnittsgrenzwert“ berücksichtigt werden. Dies entspricht der „alten“ Regelung, die durch die 1997er-MAK-Begründung des Allgemeinen Staubgrenzwerts eingeleitet war. Im Hinblick auf praktische Belange mag auch die bestehende Unterscheidung in zwei Partikelgrößenkategorien (fein, ultrafein) ausreichen.

5.2 Wirkungsmechanismen bei der GBS-Kanzerogenese

5.2.1 Die Entzündungshypothese

In zahlreichen Lungen der 19-Stäube-Studie wurden histologisch außer Tumoren andere Veränderungen gefunden. In einer Studie von BELLMANN et al. (2006) wurden solche Veränderungen an ausgewählten Gruppen näher untersucht. Dabei wurde für folgende Endpunkte im Sinne einer semiquantitativen Bewertung eine Graduierung durchgeführt: bronchiolo-alveoläre Hyperplasien, Plattenepithelmetaplasie, Becherzellmetaplasie, Becherzellhyperplasie, alveoläre Lipoproteinose, Cholesteringranulome, Ansammlung partikelbeladener Makrophagen, alveoläre und interstielle Entzündungszellinfiltrate und Fibrose. Ein Teil dieser Veränderungen lässt sich mit dem Stichwort „Entzündung“ in Verbindung bringen. Diese bzw. ähnliche Veränderungen wurden auch in Kanzerogenitätsstudien mit Inhalation von Stäuben gefunden. Seit geraumer Zeit besteht daher die Hypothese, dass die Lungentumoren nach GBS-Exposition von Ratten in ursächlichem Zusammenhang mit einer durch die Partikeln ausgelösten Entzündung stehen (ILSI, 2000; GREIM et al., 2001). Die Abb. 5.3, die wir 1998 nach den seinerzeit diskutierten Veröffentlichungen angefertigt haben, zeigt in allgemeiner Form die Vorstellungen über die möglicherweise zu den Lungentumoren führenden Wege.

Bis vor kurzem sprachen wir eher von der „Überladungshypothese“ (*overload hypothesis*) anstelle der „Entzündungshypothese“. Es ist schwierig, die beiden Begriffe voneinander abzugrenzen. Wir verwenden hier den Begriff „Entzündungshypothese“, weil in den jüngsten Diskussionen der Schwerpunkt auf den Begriff der Entzündung gelegt wurde. Gleichgültig, welches Wort man verwendet, entscheidend ist, dass bei diesen Erklärungsversuchen der Tumoren von den meisten dieser Autoren ein Dosis-Schwellenwert angenommen wird, unterhalb dessen keine Entzündung und keine Tumorbildung verursacht wird. Es sei bereits an dieser Stelle vorweggenommen, dass wir den wissenschaftlichen Kenntnisstand nicht für ausreichend halten,

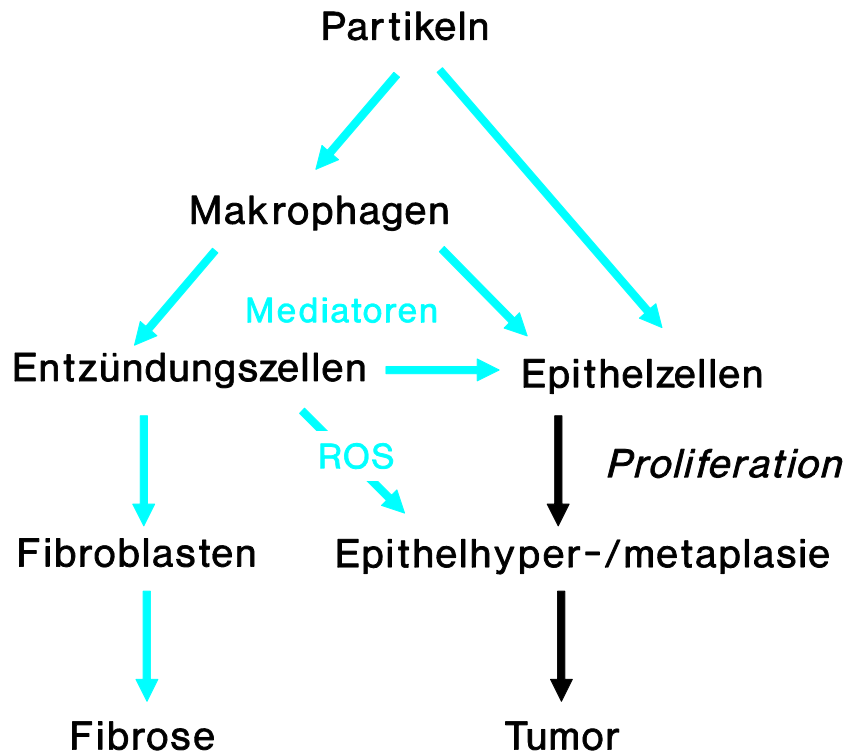


Abb. 5.3 Stark vereinfachtes Schema des hypothetischen Entstehungsweges partikelinduzierter Lungentumoren bei der Ratte (ROS = reaktive Sauerstoff-Spezies); nach HEXT (1994), LECHNER und MAUDERLY (1994), OBERDÖRSTER (1994). Schwarze Pfeile: Übergang in; graue Pfeile: Einfluss auf

den Wirkungsmechanismus auf „Entzündung“ zu beschränken, im Falle einer tatsächlich entzündungsvermittelten Kanzerogenese von einem „echten“ Schwellenwert ausgehen zu dürfen und schließlich auch noch diesen Schwellenwert als Zahl fassen und regulatorisch für eine große Zahl von Menschen nutzen zu können. Die Argumente für unsere Einschätzung sind in den folgenden Abschnitten unter verschiedenen Blickwinkeln dargestellt. Zunächst sei aber der Vollständigkeit halber nochmals ein Schritt zurückgegangen und die Overloadhypothese und die darauf aufbauende Entzündungshypothese erläutert. Die Basis des pharmakokinetischen Hintergrunds ist ähnlich auch in der MAK-Begründung des Allgemeinen Staubgrenzwerts von 1997 enthalten (GREIM, 1997).

In der Sprache der Pharmakokinetik lässt sich der Einstrom von Stoffen mit der Atemluft in die Lunge bei inhalativer Exposition als „Invasion nullter Ordnung“ betrachten, die Clearance als „Elimination erster Ordnung“. Der „Einstrom“ ist unabhängig von der zu einem bestimmten Zeitpunkt bereits in der Lunge vorhandenen Stoffmenge (in der folgenden Formel sei mit D die Massendosis eines Stoffes angegeben, die pro Zeiteinheit in die Lunge gelangt). Die Abnahme der in der Lunge vorhandenen Stoffmenge kann dagegen primär als proportional zur vorhandenen Menge betrachtet werden. Insgesamt lässt sich daher eine Änderung ΔM der Stoffmasse M in der Lunge innerhalb einer Zeitspanne Δt folgendermaßen beschreiben:

$$\frac{\Delta M}{\Delta t} = D - k M$$

Dabei bedeutet k einen konstanten Proportionalitätsfaktor. Wird in der obigen Gleichung der Differenzenquotient $\Delta M/\Delta t$ durch den Differentialquotienten dM/dt ersetzt und die entstandene Differentialgleichung gelöst, ergibt sich bei einem konstanten Einstrom D folgende Beziehung für die Abhängigkeit der Stoffmasse in der Lunge von der Zeit t (mit der Anfangsbedingung $M(0) = 0$):

$$M(t) = \frac{D}{k} (1 - e^{-kt})$$

Bei Abbruch des Einstroms D ergibt sich eine abnehmende Masse ausgehend von der maximal erreichten Stoffmasse M_{\max} in der Lunge:

$$M(t) = M_{\max} e^{-kt}$$

Die Zeitkonstante (oder Eliminationsrate) k in dieser einfachen Gleichung für eine Kinetik erster Ordnung lässt sich auch als Halbwertszeit (HWZ) interpretieren, d. h. als diejenige Zeit, in der eine vorhandene Stoffmenge auf die Hälfte abgenommen hat:

$$\text{HWZ} = \ln 2 / k$$

Verschiedene Messungen zur Elimination schwerlöslicher Partikeln haben nun gezeigt, dass eine Kinetik erster Ordnung hier so nicht zutrifft. Bereits in den 70er Jahren wurde beschrieben, dass eine bestimmte Staubmenge pro Lunge die Eliminationseffizienz verringert (FERIN und FELDSTEIN, 1978; BOLTON et al., 1983; VINCENT et al., 1985). Besonders umfangreiche Auswertungen wurden von MORROW et al. (1991) vorgenommen. Die Abb. 5.4 zeigt einen Zusammenhang zwischen dem Volumen des bereits in der Rattenlunge retinierten Staubes und dem Wert für die „Zeitkonstante“ k . Der Darstellung liegen Versuche zugrunde, in denen Eliminationsraten radioaktiver *Tracer*-Partikeln aus Rattenlungen bestimmt wurden, die unterschiedliche Mengen an Stäuben wie Dieselruß und Tonerpartikeln enthielten. In den Versuchen wurden zu verschiedenen Zeiten der Inhalation der Stäube und damit bei unterschiedlicher retinierter Staubmenge pro Lunge kurzfristig die radioaktiven *Tracer* zugeführt und dann deren Abnahme in der Folgezeit gemessen. Aus den Abklingkurven der Radioaktivität wurden die Eliminationsraten k berechnet. Die Abb. 5.4 zeigt deutlich, dass es sich dabei nicht wirklich um eine Konstante handelt, sondern dass es eine Abhängigkeit von der im Augenblick bestehenden Vorbelastung der Lunge gibt.

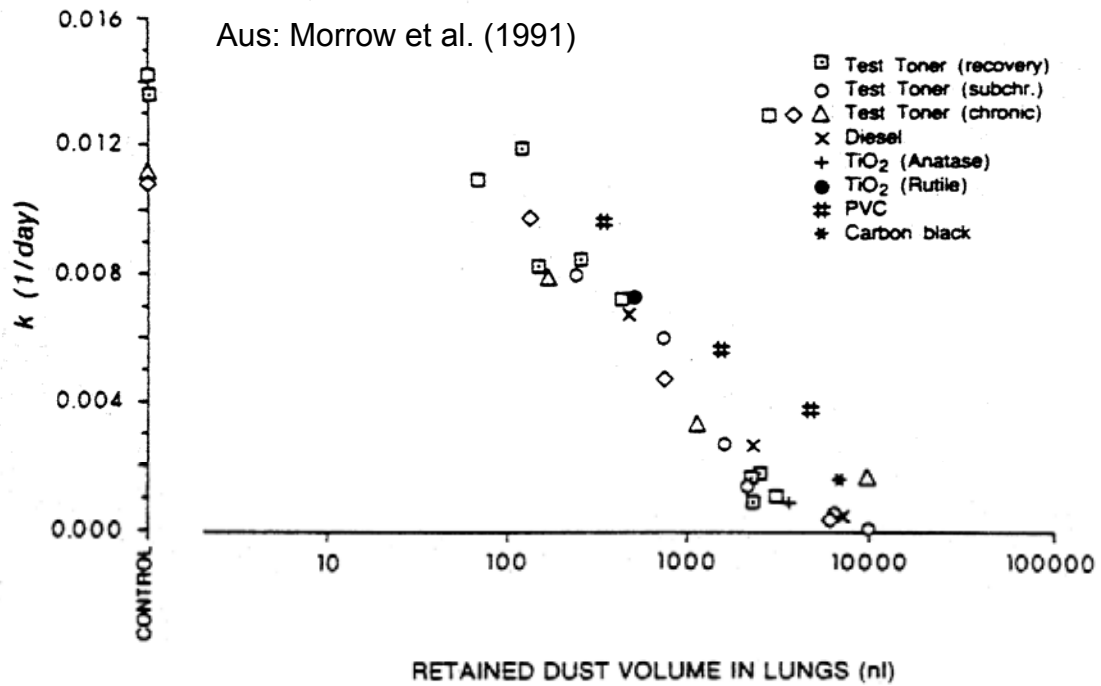


Abb. 5.4 Zusammenhang zwischen dem Volumen retinierten Staubes in Rattenlungen und der Eliminationsrate (k) von Tracerpartikeln. Aus einer Veröffentlichung von MORROW et al. (1991)

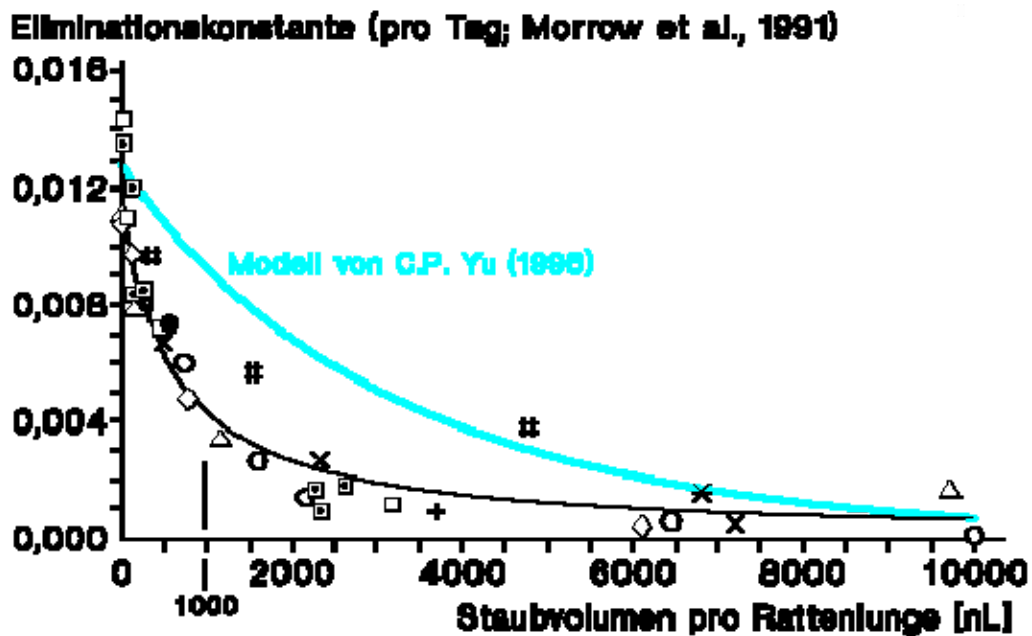


Abb. 5.5 Dieselben Daten wie in Abb. 5.4, dargestellt in einem Koordinatensystem mit linear geteilter x-Achse. Außerdem ist die Kurve eingezeichnet, die sich nach einem Modell von YU (1996) ergibt.

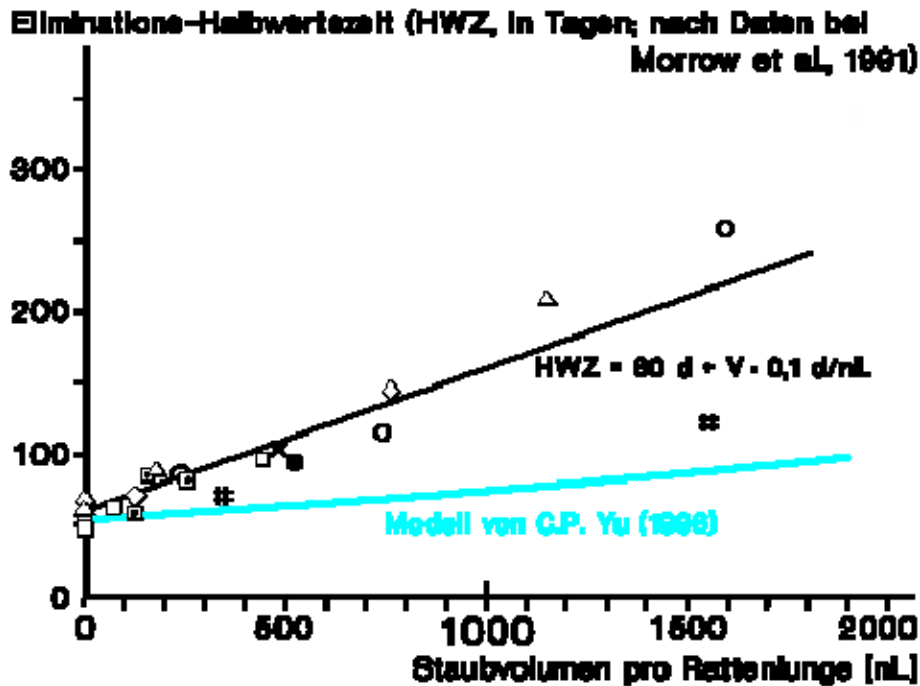


Abb. 5.6 Zusammenhang zwischen dem Volumen retinierten Staubes in Rattenlungen und der Elimination von Tracerpartikeln. Ausgangsdaten nach Abb. 5.4 (MORROW et al., 1991) für den Bereich bis zum Staubvolumen 2000 nL. Die Werte für die Eliminationsrate k wurden nach $\ln 2/k$ in die „Halbwertszeit“ umgerechnet. Außerdem ist der Verlauf eingezeichnet, der sich nach einem Modell von YU (1996) ergibt.

Auf dieser Grundlage wurde von MORROW (1995) der Begriff *overload* definiert, nämlich als diejenige Menge eines relativ „benignen“ Staubes, die seine Eliminationsrate erhöht bzw. die Halbwertszeit seiner Elimination aus der Rattenlunge verlängert. Dabei sind zwei Gesichtspunkte hervorzuheben. Zum einen sollte das Attribut „benigne“ andeuten, dass es sich hier um eine Eliminationsbeeinträchtigung durch die schiere Menge (Masse bzw. Volumen) des Staubes handelt, während es im Gegensatz dazu auch eine Beeinträchtigung der Clearance durch Zellschädigung zytotoxischer Stoffe gibt, die schon bei kleineren Stoffmengen nachweisbar sein kann. Zum zweiten wurde dort davon ausgegangen, dass es auch einen Bereich von Stoffmengen in der Rattenlunge gibt, bei denen die Eliminationsrate tatsächlich konstant ist. Dies wurde mit der auf den ersten Blick einleuchtend erscheinenden biologischen Erklärung verbunden, dass ab einer bestimmten von einem Alveolarmakrophagen aufgenommenen Partikelmenge (Masse oder Volumen) dessen Beweglichkeit bzw. Leistungsfähigkeit zum Abtransport der Fremdkörper abnehme. Da lange Zeit als kritischer Wert für eine Beeinträchtigung der Lungenreinigung die Masse von 1 mg pro Rattenlunge galt, wurde auf dieser Basis und bei einem angenommenen Gesamtvolumen an Alveolarmakrophagen der Ratte ein Schwellenwert von 6 % des Makrophagenvolumens berechnet, oberhalb dessen die Leistungsfähigkeit des Makrophagen zum Partikeltransport nachlasse.

Das Betrachten der beiden Abbildungen 5.4 und 5.5 im Zusammenhang zeigt, dass bereits an dieser Stelle möglicherweise ein Missverständnis zu falschen Schlussfolgerungen geführt hat. Die x-Achse von Abb. 5.4 ist logarithmisch geteilt, Abb. 5.5 enthält genau dieselben Datenpunkte wie Abb. 5.4, jedoch ist die x-Achse linear geteilt. Es wird weiter unten erläutert, dass eine logarithmisch geteilte x-Achse immer, d. h. bei jeder Art von tatsächlicher Dosis-Wirkungsbeziehung, allein durch den optischen Eindruck eine Wirkungsschwelle vortäuschen kann. Jedenfalls ist in Abb. 5.5 und anhand der mathematischen Funktion, die dort an die Daten angepasst ist, kein Hinweis auf einen Schwellenwert zu finden. In Abb. 5.5 ist außerdem die Kurve eines Modells von YU (1996) eingezeichnet, das ebenfalls keinen Schwellenwert enthält. In Abb. 5.5 ist die sogenannte Eliminationsrate in Abhängigkeit von der Vorbelastung der Lunge dargestellt. Wie oben beschrieben kann die Eliminationsrate auch als Halbwertszeit formuliert werden. In Abb. 5.6 sind nochmals dieselben Daten in Form der Halbwertszeit dargestellt. Die Dosis-Wirkungsbeziehung erscheint linear ohne Anzeichen einer Schwelle. Die Interpretationen wurden bereits zum Teil mehrfach veröffentlicht (UBA, 1999; ROLLER, 2003a).

Wir haben soeben beschrieben, wie wir die ursprüngliche Definition von „Overload“ verstanden haben. Insgesamt lässt sich der Begriff jedoch aus der gesamten Literatur bzw. aus den Diskussionen in Fachkreisen nicht eindeutig definieren. So wurde z. B. auch als Eintritt der Überladung derjenige Punkt angesprochen, ab dem kein Gleichgewicht zwischen Deposition und Clearance gegeben sei (OBERDÖRSTER, 1995). Dies ist eine etwas andere Definition als eine Verringerung der Eliminationsrate.

Wesentlich erscheint, dass in jüngerer Zeit die Definition des Overloads weg geht von den pharmakokinetischen Aspekten und hin zu Parametern der Entzündung. Dabei wird der Produktion von reaktiven Sauerstoff-Spezies (ROS) durch Phagozyten besondere Bedeutung beigemessen. Diese Vorstellung hat entscheidende Förderung durch eine Publikation von DRISCOLL et al. (1997) über hprt-Mutationen erhalten. Die entsprechende Studie sprach dafür, dass Phagozyten nach Partikelaufnahme ROS produzieren und dass diese ROS auf Epithelzellen mutagen wirken. Für diese Art einer mittelbaren Gentoxizität eines Stoffs wurde der Begriff „sekundäre Gentoxizität“ geprägt. Manchmal wird in Fachkreisen auch der Begriff „indirekte Gentoxizität“ offenbar synonym verwendet. Mit der Bezeichnung „Phagozyten“ sind Makrophagen und neutrophile Granulozyten (synonym: *polymorphonuclear neutrophils*, PMN) gemeint. Welcher Zellart dabei die größere Bedeutung zukommt, ist unklar. Bei GREIM et al. (2001) wird ein Anteil von 40 % PMN an der Gesamtzellzahl einer bronchoalveolären Lavage (BAL) als kritische Größe diskutiert, inzwischen drehen sich die Diskussionen eher um die Alveolarmakrophagen.

Der Ablauf der Ereignisse nach dieser Hypothese lässt sich ungefähr folgendermaßen zusammenfassen:

Nach Aufnahme von Partikeln in Alveolarmakrophagen können letztere Reaktionsketten unter Beteiligung einer Vielzahl von Stoffen auslösen. Besondere biologische Moleküle werden mit Oberbegriffen wie Zytokine, Wachstumsfaktoren und Transkriptionsfaktoren bezeichnet; häufig genannt werden z. B. Stoffe, deren Funktionen auch sonst in der Medizin, z. B. im Zusammenhang mit entzündlichen Erkrankungen und

mit Krebs, erforscht werden*, wie TNF- α (Tumor-Nekrose-Faktor), Interleukin-8, GM-CSF (Granulozyten/Monozyten-Kolonie-stimulierender-Faktor), TGF- β (transforming growth factor), PDGF (platelet-derived growth factor) und NF- κ B (nuclear factor). Darunter sind auch ROS. Die Folge der Reaktionen der Makrophagen ist ein Anlocken von weiteren Makrophagen sowie von PMN. Die Vorstellung nach dieser Hypothese ist dann, dass diese Ereignisse bis zu einem gewissen Punkt für das Epithelgewebe völlig unschädlich sind, zumindest was ein Tumorrisiko betreffen könnte. Erst oberhalb einer bestimmten - und bestimmbaren - Partikelbeladung würde eine Reaktionskaskade zu einem so intensiven „Beschuss“ von Epithelzellen mit ROS führen, dass diese ROS das Genom von teilungsfähigen Epithelzellen verändern und ein Tumorrisiko herbeiführen könnten. Dabei würde dann auch gegebenenfalls ein Zusammenspiel mit einem Proliferationsstimulus durch andere Mediatoren bzw. durch Zytotoxizität eine Rolle spielen.

Es erscheint problematisch, einen solchen Punkt (oder begrenzten Bereich) einer Partikelbeladung - für alle Erwerbsfähigen gültig - wissenschaftlich ermitteln zu können, selbst wenn man voraussetzen würde, dass es einen solchen Punkt tatsächlich gibt, und dass nicht auch sehr geringe zusätzliche ROS-Belastungen des Lungengewebes zu einem gewissen - eben sehr kleinen - zusätzlichen Risiko führen. Außerdem müssten andere Mechanismen, z. B. in Form einer direkten Partikelwirkung auf Epithelzellen, mit großer Sicherheit ausgeschlossen sein.

5.2.2 Dieselruß erfüllt die GBS-Definition, PAH-Gehalt nicht maßgebend

Als Ursache der Kanzerogenität von Dieselruß ist häufig ein anderer Wirkungsmechanismus angenommen worden. Dieselruß enthält neben dem anorganischen Rußkern einen von Fall zu Fall unterschiedlich großen Anteil (zwischen 10 und 50 %) eines adsorbierten organischen Stoffgemischs. Darin sind zahlreiche im Prinzip kanzerogene polyzyklische aromatische Kohlenwasserstoffe (engl. Abk. PAH) enthalten. In den 70er und 80er Jahren wurden viele Forschungsprojekte über die Kanzerogenität einzelner PAH und Nitro-PAH, von PAH-Fractionen und Kombinationen verschiedener PAH durchgeführt (IARC, 1983, 1989; POTT und HEINRICH, 1992). Bei der Vielzahl der Einzelstoffe und der denkbaren Wechselwirkungen blieben selbstverständlich Fragen offen, die nicht geklärt werden konnten, denn weitere Forschungen zur Aufklärung von möglichen überadditiven Kombinationswirkungen und der Wirkung von wenig untersuchten PAH wurden finanziell nicht mehr unterstützt. Ein Instillationsversuch mit nativem und extrahiertem Ruß, zwei künstlichen Rußen (ultrafein und fein) und einer Belegung von extrahiertem Ruß mit Benzo[a]pyren kann bei erster Betrachtung den Eindruck erwecken, als würden die organischen Bestandteile des Dieselrußes den überwiegenden Anteil der Wirkung verursacht haben (DASENBROCK et al. 1996; Tab. 5.7 in Abschnitt 5.5.1). Dieser Eindruck steht jedoch gegensätzlich zu anderen Befunden des gleichen Experiments. Außerdem war die mittlere Überlebensdauer der Ratten in den Gruppen, für die diese Zeit angegeben wurde (für 6 von 10), mit 76 bis 83 Wochen ungewöhnlich kurz, darunter auch die Kontrolle. Eine einigermaßen zusammenhängende Interpretation der Ergebnisse ist daher nicht möglich.

* Für diese Stoffe finden sich Zigtausend Einträge in der Datenbank PubMed.

Tab. 5.2 Emissionsfaktoren für die Abgaskomponenten Gesamtpartikel, Partikelkern und Benzo[a]pyren (BaP) von Dieselfahrzeugen nach UBA (1999)

Motortyp ^a	Emissionsfaktor [mg/km]			Relation BaP : Gesamt- partikel
	Gesamt- partikel	Partikel- kern	BaP (für PAH)	
Pkw 80er Jahre	320	190	0,006	2 : 100 000
Pkw EURO2	75	60	0,0009	1 : 100 000
Pkw EURO3	51	40	0,0008	2 : 100 000
Pkw EURO4	27	21	0,0007	3 : 100 000
Stadtbus 80er Jahre	780	310	0,0072	0,9 : 100 000
Stadtbus EURO2	240	94	0,0036	2 : 100 000
Stadtbus EURO3	160	63	0,0029	2 : 100 000
Stadtbus EURO4	78	31	0,0025	3 : 100 000

^a Die Bezeichnungen EURO2, 3, 4 beziehen sich auf sukzessive für den Zeitraum 1996 bis 2005 eingeführte bzw. vorgesehene Abgasnormen

In der Bewertungsbegründung von US EPA (2003b) zu Dieselmotor-Emissionen (DME) wird insbesondere auf biolösliche organische Verbindungen in Dieselpartikeln abgehoben. Dies ist bei kritischer Würdigung der PAH-Gehalte von DME nicht so recht verständlich. So liegen die Feinstaubkonzentrationen in der Umwelt derzeit, je nach betrachteter Partikelgrößenfraktion, in der Größenordnung von 5 bis 50 $\mu\text{g}/\text{m}^3$. Dem stehen in industrialisierten Regionen Nordrhein-Westfalens Konzentrationen an Benzo[a]pyren (BaP) von weniger als 0,003 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (3 ng/m^3) gegenüber. Als BaP-Quellen sind dabei nicht in erster Linie Dieselfahrzeuge, sondern z. B. Industriebetriebe in Betracht zu ziehen. BaP ist dabei nicht als Einzelsubstanz zu betrachten, sondern BaP dient sowohl in der Umwelt als auch am Arbeitsplatz als Leit- oder Referenzsubstanz für krebserzeugende Pyrolyseprodukte aus organischem Material bzw. PAH. Für den Anteil von BaP in Kraftfahrzeug-Emissionen gibt es mehrere Quellen. Für den in dem Inhalationsversuch von HEINRICH et al. (1986a) benutzten Dieselmotor wurde z. B. ein BaP-Anteil von 1 zu 100.000 an der emittierten Gesamtpartikelmasse ermittelt (POTT und HEINRICH, 1987). Bei UBA (1999) sind im Auftrag des Umweltbundesamtes ermittelte sogenannte Emissionsfaktoren für Kraftfahrzeuge zitiert. Diese Faktoren sind in der Einheit mg/km angegeben, können also nicht unmittelbar als Expositionsmaß verwendet werden. Sie lassen aber Aussagen über die Relationen der einzelnen Emissionsbestandteile zueinander zu. Tab. 5.2 zeigt eine Übersicht über diese Emissionsfaktoren für Gesamtpartikeln, Partikelkern und BaP, sowie die Relation von BaP zu Gesamtpartikeln. Man erkennt, dass - wie bei dem für den o.g. Inhalationsversuch verwendeten Dieselmotor - für die im 20. Jahrhundert gebräuchlichen „nicht-emissions-optimierten“ Dieselfahrzeuge ein Massenanteil von 1 zu 100 000 für BaP angenommen werden kann, keinesfalls jedoch wesentlich mehr als 2 zu 100 000.

Aufgrund der Kenntnisse über die kanzerogene Potenz von PAH in Kokerei-Emissionen lassen sich mit diesen geringen PAH-Gehalten weder die Lungentumoren in den Kanzerogenitätsversuchen mit Ratten noch die in verschiedenen epidemiologischen Studien beschriebenen Erhöhungen des Lungenkrebsrisikos nach Dieselruß- bzw. Feinstaub-Exposition erklären (siehe auch Abschnitt 5.4.1). So waren Grundlage für die Risikoabschätzungen von LAI (1992) und UBA (1999) für PAH epidemiologische Studien bei Kokereiarbeitern amerikanischer Stahlwerke. Von COSTANTINO et al. (1995) wurde ein Update dieser Studien veröffentlicht. Es ergibt sich dort - in Übereinstimmung mit den Risikoabschätzungen von LAI (1992) und UBA (1999) - eine Verdopplungsdosis von $6 \mu\text{g}/\text{m}^3$ Benzo[a]pyren (BaP). D. h. nach einer 35-jährigen Exposition an einem Arbeitsplatz gegenüber Pyrolyseabgas mit einem Langzeit-Mittelwert von $6 \mu\text{g}/\text{m}^3$ BaP ist mit einer Verdoppelung des Lungenkrebsrisikos zu rechnen. Wichtig dabei ist, dass es sich hier nicht um das allein durch BaP bedingte Lungenkrebsrisiko handelt, sondern BaP dient lediglich unter messtechnischen Gesichtspunkten als Leit- oder Referenzsubstanz für die Gesamtheit der in Kokereiabgas enthaltenen Lungenkrebs erzeugenden Stoffe. Dies dürften in erster Linie krebserzeugende PAH sein, die Wirkung gegebenenfalls vorhandener weiterer Lungenkrebs erzeugender Stoffe wie z. B. Nitro-PAH ist dabei miteingefasst. Die Größenordnungen der Exposition, nach denen nach solcher beruflicher PAH-Exposition epidemiologisch erkennbare Lungenkrebsrisiken festgestellt wurden, lassen sich - vereinfacht gesagt - als „Mikrogrammbereich“ ansprechen. Die Konzentrationen in der allgemeinen Umwelt (s.o.) sind dagegen dem „Nanogrammbereich“ zuzuordnen. Dazwischen liegt - wiederum vereinfacht - ein Faktor von 1000. Es ist unplausibel, dass PAH-Konzentrationen im Mikrogrammbereich in Kokereien nur zu einer Verdoppelung des Lungenkrebsrisikos führen und gleichzeitig Konzentrationen in der allgemeinen Umwelt im Nanogrammbereich ebenfalls ganz entscheidend am Nachweis eines erhöhten Lungenkrebsrisikos beteiligt sind.

Für die Inhalationsversuche mit Ratten können aus den vorliegenden Ergebnissen folgendermaßen Schlussfolgerungen über den Wirkungsanteil des organischen Stoffanteils im Dieselruß gezogen werden. Nach den Berechnungen über Benzo[a]pyren als Referenzsubstanz liegt der Beitrag des organischen Stoffanteils an der kanzerogenen Wirkungsstärke von Dieselruß in der Rattenlunge bei 0,1 %, bei denkbaren zusätzlich stark wirksamen PAH in anderen PAH-Profilen und überadditiven Effekten lässt sich aus Vorsorgegründen 1 % annehmen. Selbst wenn man spekulativ einen Wirkungsanteil der löslichen Dieselrußbestandteile von 10 % voraussetzen würde, wäre das immer noch keine maßgebliche Erhöhung, die eine von den anderen GBS getrennte Einstufung und einen niedrigeren Grenzwert für Dieselruß als für die anderen GBS begründen würde. *Entscheidend ist, dass ein bio-beständiger anorganischer Rußkern in jedem Falle übrig bleibt, der bezüglich seiner Kanzerogenität als GBS zu bewerten ist.* Der Anteil von Metalloxiden liegt bei 2 Gew.-% (KLINGENBERG et al., 1991). Der Rußpartikelkern hat sich in Inhalations- und Instillationsexperimenten als die Ursache der Lungentumoren durch Dieselruß bei der Ratte erwiesen. Die Ursache kann weder den gasförmigen Abgasbestandteilen und organischen Stoffen zugeschrieben werden, noch wird sie durch die organischen Stoffe - falls überhaupt - messbar verstärkt. Hierzu die Zitate der Schlussfolgerungen aus zwei Veröffentlichungen: *„Hence, in the context of the rat bioassay, diesel soot may also be considered a PSP“* (ILSI, 2000). *„PSP-associated organics do not add to the lung tumor response in rats“* (OBERDÖRSTER, 2002).

Ungenauigkeiten bei der Dosisangabe von Dieselruß in den Tierexperimenten kommen dadurch zustande, dass der organische Anteil im nativen Dieselruß nicht immer angegeben wurde und nicht bekannt ist, wie die Kinetik der Ablösung der organischen Stoffe in der Lunge verläuft. Grundlage für die Bewertung von Expositionen gegenüber Dieselmotoremissionen am Arbeitsplatz ist die Konzentration des elementaren Kohlenstoffs in der Partikelphase.

Die Frage, ob Dieselruß eher dem Feinstaub oder dem Ultrafeinstaub zuzurechnen ist, ist wegen der Entstehung unter verschiedenen Motor-Bedingungen nicht allgemein eindeutig zu beantworten. Im Motor entstehen nach KLINGENBERG et al. (1991) zunächst graphitähnliche Russteilchen, die sogenannten Kerne mit einem Durchmesser von rund 0,001 bis 0,01 µm. In einer zweiten Phase, der Koagulation, werden sie zu kugelförmigen Primärteilchen von etwa 0,01 bis 0,05 µm Durchmesser vergrößert. In einer dritten Phase agglomerieren die Primärteilchen zu losen Ketten mit räumlichen Verzweigungen. Der ganz überwiegende Teil des von uns verwendeten Dieselrußes lag nach EM-Aufnahmen von Rödelsperger nicht als UF-Partikeln vor, sodass wir ihn - auch aufgrund der Ergebnisse - den „kleinen“ GBS-F zugeordnet haben, die etwa 2½-mal schwächer wirksam waren als die GBS-UF. In den beiden Inhalationsversuchen, in denen Dieselruß und Furnace-Ruß-UF parallel geprüft wurden, waren die Industrieruße etwas weniger als doppelt so tumorerzeugend wie die Dieselruße (HEINRICH et al., 1994; NIKULA et al., 1995; s. Tab. 5.6). Infolgedessen scheint Dieselruß im Hinblick auf die Kanzerogenität in der Rattenlunge allgemein bei den „kleinen“ GBS angemessen angesiedelt zu sein. Die stärkere Wirkung der „echten“ GBS-UF lassen sich auf einen raschen Zerfall der großen Agglomerate in der Lunge zurückführen, die RÖDELSPERGER et al. (2002) für den Ruß Printex 90 gezeigt haben. Beim Dieselruß läuft dieser Zerfall höchstwahrscheinlich nicht so schnell oder kaum ab wie bei anderen UF Stäuben.

5.2.3 Wirkungsmechanismus nicht geklärt; auch eine direkte kanzerogene Wirkung auf die Epithelzellen erscheint möglich

Die seit vielen Jahren vertretene Entzündungshypothese (Abschnitt 5.2.1) als alleiniger Wirkungsmechanismus für die Entstehung von Lungentumoren kann noch nicht als endgültige und ausschließliche Erklärung des Wirkungsprinzips bei der GBS-Kanzerogenese betrachtet werden. SCHINS und KNAAPEN (2006) kommen in einer Übersichtsarbeit zu dem Schluss, dass noch wesentliche Kenntnislücken bestehen; sie schreiben z. B.: *„However, further research is urgently required, since: (1) causality between pulmonary inflammation and genotoxicity has not yet been established, and (2) effects of inflammation on fundamental DNA damage responses which orchestrate mutagenesis and carcinogenic outcome, i.e. cell cycle arrest, DNA repair, proliferation and apoptosis, are currently poorly understood.“* und *„In general, it needs to be emphasised that the causality of the association between inflammation and genotoxicity in particle-exposed animals still needs to be established“*.

Mehrere Einzelbefunde geben Fragen auf. So hat sich zum Beispiel in Untersuchungen von ERNST et al. (2005) gezeigt, dass bei amorphem SiO₂, das besser löslich ist als GBS, während einer chronischen Exposition eine chronische Entzündung nur mit einer relativ geringen Tumorfrequenz assoziiert war. Es konnte bisher nicht abschließend geklärt werden, ob dies darauf beruht, dass zwischen verschiedenen Entzündungen differenziert werden muss oder dass an der Tumorbildung

durch GBS - im Unterschied zu dem weniger biobeständigen amorphen SiO_2 - direkte Wirkungen der Partikeln auf Epithelzellen beteiligt sind. Eine solche direkte kanzerogene Wirkung der Partikeln auf die Epithelzellen erscheint zumindest möglich. Sie ist auch als Ursache der im Mittel etwa 5- bis 6mal stärkeren Wirkung der ultrafeinen GBS im Vergleich zu den „groß-feinen“ GBS zu diskutieren. Die unterschiedliche Verteilung von Partikeln in der Lunge in Abhängigkeit von ihrer Größe und eine stärkere Anreicherung der kleineren an den für die Tumorinduktion *sensiblen* Orten ist eine plausible Annahme, ohne über diese Lokalisationen, die Wanderung der Staubteilchen dorthin und die Zieldosen hinreichende Kenntnis zu haben. Auch JOHNS-TON et al. (2000) sind nach ihrem 3-monatigen Inhalationsversuch mit Quarz und amorphem SiO_2 der Ansicht, dass die im Unterschied zu Quarz durch amorphes SiO_2 nicht beobachteten Mutationen am HPRT-Gen von Alveolarzellen in einem *ex vivo* Prüfmodell auf eine direkte toxische Wirkung auf die Epithelzellen hinweisen.

In gezielten Untersuchungen von SABER et al. (2005) mit Dieselruß und ultrafeinem Industrieruß wurde keine Korrelation zwischen Entzündungsreaktion und DNA-Schädigung in Mäuselungen gefunden „*The data indicate that an inflammatory response was not a prerequisite for DNA damage*“. In der Studie wurden C57/BL-Mäuse an 4 aufeinanderfolgenden Tagen für je 90 Minuten inhalativ *nose-only* gegenüber Reinluft, Dieselruß oder Industrieruß exponiert. Der Dieselruß wurde beschrieben als „Standard Reference Material 2975“ vom National Institute of Standards and Technology (NIST), Gaithersburg, MD, USA, der Industrieruß als Printex F 90 von Degussa-Hüls. Die Partikelgröße in den Expositionskammern wurde gemessen, als geometrische Mittelwerte werden für den Industrieruß zirka 65 nm angegeben, für den Dieselruß 215 nm. Die Tiere wurden eine Stunde nach der letzten Exposition eingeschläfert, und es wurde unter anderem eine bronchoalveoläre Lavage (BAL) durchgeführt. DNA-Schädigung in den BAL-Zellen wurde mittels des Comet Assay untersucht. Der Anteil an neutrophilen Granulozyten an den BAL-Zellen betrug bei den Reinluft-Kontrollen zirka 4 %, nach Dieselexposition war ein Anstieg auf zirka 15 % festzustellen, jedoch war nach Industrierußexposition *keine Zunahme des Anteils an Neutrophilen* im Vergleich zur Reinluft-Kontrolle festzustellen. Im Gegensatz dazu war aber bei den industrierußexponierten Mäusen eine *stärkere Schädigung der DNA* gemäß Comet Assay festzustellen. Nach Dieselrußexposition war die mittlere Schweif-Länge des Comet Assay auf 25,0 μm gegenüber 18,2 μm bei den Kontrollen erhöht, nach Industrierußexposition auf 29,4 μm ; nur letzterer Unterschied war bei den C57/BL-Mäusen statistisch signifikant. In der Studie wurden außerdem Mäuse eingesetzt, die genetisch defizient hinsichtlich der Bildung des Zytokins TNF (tumor necrosis factor) waren (TNF $-/-$, Bezeichnung des Stamms: B6, 129S-Tnftm1Gk1). Die Effekte bei diesen Tieren waren grundsätzlich ähnlich: starke Erhöhung des Anteils an Neutrophilen in der BAL bei Dieselruß, *keine Erhöhung des Anteils an Neutrophilen* in der BAL bei Industrieruß, *DNA-Schädigung* gemäß Comet Assay auch bei Industrieruß.

Eine direkte Wirkung von GBS-Partikeln auf Epithelzellen setzt voraus, dass die Partikeln in die Zielzellen aufgenommen werden. Die Vorstellung bei der Entzündungshypothese ist ja, dass Partikeln in Phagozyten (Makrophagen und PMN) aufgenommen werden und dann die Produktion - unter anderem - von ROS hervorrufen. Den von den Makrophagen und/oder PMN ausgehenden und auf die Epithelzellen treffenden ROS wird die besondere Rolle bei der Schädigung der Epithelzellen und deren DNA und dann der Tumorbildung zugesprochen. Unter dieser Vorstellung ist

es nur plausibel, dass auch Epithelzellen ROS bilden, falls Partikeln ins Zellinnere gelangen. Das Ausmaß der Produktion mag geringer sein als bei Phagozyten, aber die Bildung der ROS kann dabei in unmittelbarer Nähe des Zellkerns der Zielzelle erfolgen. Dies ist nur eine Möglichkeit, wie Partikeln unmittelbar in Zielzellen wirken könnten, offensichtlich ist jedenfalls, dass Partikeln in Lungenepithelzellen *in-vivo* aufgenommen werden (GORE und PATRICK, 1982; ANTTILA et al., 1988; CHURG, 1996; DAI et al., 1998). Diese Aufnahme mag bei ultrafeinen Teilchen besser sein als bei „feinen“ bzw. groß-feinen, nach den transmissions-elektronenmikroskopischen Aufnahmen von ANTTILA et al. (1988) scheint jedoch grundsätzlich auch die Aufnahme von „feinen“ Partikelgrößen belegt. Die bessere Aufnahme kleinerer Partikelgrößen in Epithelzellen würde grundsätzlich mit der höheren kanzerogenen Wirkungsstärke der kleineren Partikelgrößen korrelieren.

Eine direkte Wirkung von GBS hätte zumindest in der besonders starken Mesotheliom erzeugenden Wirkung von Amphibol-Asbestfasern ohne chronische Entzündung nach Inhalation beim Menschen oder nach intraperitonealer Injektion bei der Ratte eine Analogie. Die kanzerogenen Wirkungsstärken von drei künstlichen und zwei natürlichen Mineralfasertypen aus einem *Instillations*versuch (POTT et al., 1994) waren nicht so deutlich und eindeutig wie erwartet höher als die kanzerogene Potenz granulärer Stäube. Auch bei den faserförmigen Stäuben ergab sich ein Hinweis auf eine stärkere Wirkung der dünneren Fasern, ohne dass die komplexen Abläufe über Wanderung und Anreicherung am Zielpunkt entschlüsselt werden konnten. Eine enge Assoziation zwischen relativer Partikeldeposition in den Bronchien des Menschen und der Krebshäufigkeit an diesen Gewebsbezirken verweist ebenfalls auf einen möglichen Zusammenhang zwischen direkter Partikeleinwirkung auf das Bronchialepithel und der Kanzerogenese (SCHLESINGER und LIPPMANN, 1978).

Beim Vergleich zwischen Asbest- und GBS-Kanzerogenität bei Ratte und Mensch lässt sich gegenwärtig eine Ähnlichkeit der Mechanismen bei der Entstehung von Tumoren *in den Atemwegen* - im Gegensatz zur Serosa - nicht ausschließen. Unter diesem Aspekt ist auch zu berücksichtigen, dass die kanzerogene Potenz von Asbestfasern in der Lunge des Menschen erheblich größer ist als bei der Ratte (POTT und ROLLER, 1993; WARDENBACH et al., 2000). Ein solcher Unterschied könnte auch an dem höheren Exzess-Risiko in den epidemiologischen Diesel-Studien im Vergleich zur Ratte beteiligt sein, das in den Abschnitten 5.4.1.4 und 5.4.1.5 erläutert ist (Abb. 5.9). Im Gegensatz zu der besonders großen Empfindlichkeit des Menschen gegenüber Asbest wurden beim Hamster in Inhalationsexperimenten mit einigen Humankanzerogenen keine Lungentumoren festgestellt; das betrifft Asbestfasern (WHO, 1986), Bischlormethylether (KUSCHNER et al., 1975), PAH-reiches Pechpyrolyse-Abgas (HEINRICH et al., 1986b), Cadmium-Verbindungen (IARC, 1993), Quarz (IARC, 1997) und Nickel-Verbindungen (IARC, 1990). Negative Kanzerogenitätsstudien beim Hamster können daher nicht als für den Menschen aussagekräftig angesehen werden (siehe auch Speziesvergleich bei ROLLER et al., 2006). Es sei erwähnt, dass es bei der Maus neben einigen nicht positiven Ergebnissen auch Hinweise auf eine tumor erzeugende Wirkung gibt (TAKEMOTO et al., 1986; ICHINOSE et al., 1997).

5.3 Eine regulatorisch nutzbare Wirkungsschwelle lässt sich nicht ableiten

5.3.1 Irreführende Schaubilder und Interpretation einer Wirkungsschwelle

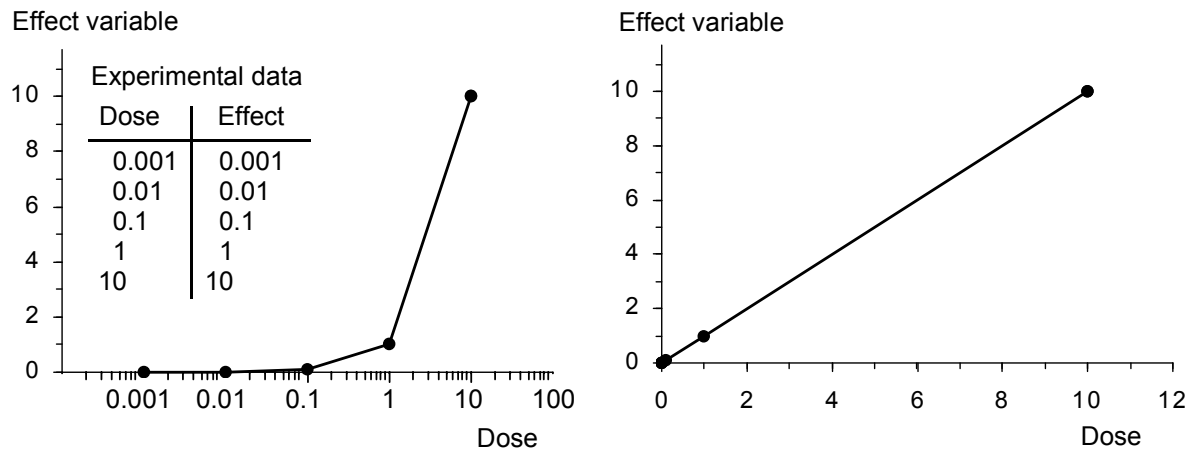


Abb. 5.7 Zwei Darstellungen derselben Daten einer Dosis-Wirkungsbeziehung (Einheitsgerade), die sich nur durch die Art der Einteilung der Dosisachse unterscheiden. Über der logarithmisch geteilten Achse der linken Darstellung entsteht rein optisch der unzutreffende Eindruck einer Schwelle.

In Diagrammen, in denen Beziehungen zwischen Dosis und Wirkung dargestellt werden, lässt sich der subjektive Eindruck über den Verlauf durch die Einteilung der Dosis-Achse mit einem logarithmischen Maßstab entscheidend beeinflussen. Die Art der Darstellung suggeriert bereits eine bestimmte Interpretation der gezeigten Daten, der sich der Betrachter schwer entziehen kann. Hierdurch wird unabhängig von der tatsächlichen Datenlage aus linearen oder bis zu einem gewissen Grade hyperlinearen Dosis-Wirkungsbeziehungen immer der unzutreffende Eindruck von sublinearen Dosis-Wirkungsbeziehungen erzeugt und die Evidenz für das Vorliegen einer Wirkungsschwelle vorgetäuscht (ROLLER, 1998; 2003a). Auch dem geübten Betrachter solcher Diagramme fällt es schwer, diesen falschen Eindruck im Kopf ohne Skizze korrekt umzuwandeln. Das Beispiel von Abb. 5.7 zeigt im linken und rechten Bildteil lineare Dosis-Wirkungsbeziehungen mit den gleichen Daten, aber der linke Bildteil erweckt den falschen Eindruck einer Wirkungsschwelle. Bei dem tatsächlichen funktionalen Zusammenhang handelt es sich hier in beiden Fällen um die sogenannte Einheitsgerade - es handelt sich definitiv nicht um eine durchhängende, sublineare Kurve. Die Wertetabelle im linken Bildteil - die gleichermaßen für beide Bilder gilt - belegt den mathematisch eindeutigen Zusammenhang zwischen x- und y-Werten. Insofern besteht bei der Benennung der Kurvengestalt keine Wahlfreiheit hinsichtlich des optischen Eindrucks in einem z. B. logarithmisch skalierten Koordinatensystem.

Diese Art der Darstellung betrifft z. B. Grafiken von OBERDÖRSTER (1995, 1996, 2002), DRISCOLL (1996) und MILLER (2000), in denen die Autoren ihre Diagramme dazu verwendeten, eine Schwelle als plausibel zu interpretieren, auch wenn die Re-

gressionsanalyse zu einer hyperlinearen Funktion geführt hat (d. h. zum Gegenteil einer „durchhängenden“ Kurve) und dies in einer Grafik mit linearem Dosismaßstab zu erkennen ist. Ebenso entsteht in der Abbildung von STOEGER et al. (2006) über die Beziehung zwischen der Oberfläche instillierter Ruße und dem PMN-Gehalt in der Spülflüssigkeit von Mäuselungen der deutliche Eindruck einer Schwelle durch die logarithmische Teilung der Dosisachse (wie sich durch eine Analyse der Regressionskurve nach Abgreifen der Daten aus der Abbildung bestätigen ließ). Auch die Darstellung des Zusammenhangs zwischen der Staub-Eliminationsrate und der Staubbelastung der Lunge in Abb. 5.4 erwecken - im Unterschied zu Abb. 5.5 - den Eindruck einer Wirkungsschwelle aufgrund des logarithmischen Maßstabs (Abschnitt 5.2.1).

Die Beziehungen zwischen dem Prozentsatz an neutrophilen Zellen (PMN) in der Lungenspülflüssigkeit - als Dosismaß - und der Wirkung können ferner den Eindruck einer Wirkungsschwelle deshalb hervorrufen, weil der Anteil der PMN in der gesamten Zellpopulation 70 % aus pathophysiologischen Gründen praktisch nie übersteigt, während die absoluten Zellzahlen einen linearen Anstieg mit der Staubmenge zeigen. Eine Veröffentlichung von DRISCOLL et al. (1997) ist durch die einseitige Darstellung und den fehlenden Hinweis auf diese Verhältnisse auch von den Autoren zur Unterstützung der Schwellenhypothese für die Mutagenität von Stäuben angeführt worden.

Ein anderer wichtiger fehlinterpretierter Versuch ist das umfangreiche Inhalationsexperiment mit Toner und Titandioxid von BELLMANN et al. (1991) und MUHLE et al. (1991; Versuchsdaten s. Abschnitt 5.7.1). Es enthält eine Beurteilung des Toners, die sich aus den Daten nicht ableiten lässt: *“This outcome provides a clear demonstration of the lack of carcinogenicity of the toner, an innocuous, benign dust”*. Diese Arbeit hat gemeinsam mit den oben zitierten Veröffentlichungen über viele Jahre die allgemeine Meinung über die Kanzerogenität von GBS-F stark dahingehend geprägt, dass es selbst bei der für besonders empfindlich gehaltenen Ratte unter Overload-Bedingungen keine Anzeichen für eine krebserzeugende Wirkung nach Exposition im Bereich des Allgemeinen Staubgrenzwertes gäbe.

In der Beurteilung von 1991 heißt es: *“The comparable lung tumor frequencies observed for the three different toner exposure and the air-only and TiO₂ controls clearly demonstrate that toner inhaled over most of the life span of F-344 rats under strictest international guidelines for chronic toxicity/carcinogenicity evaluation is not tumourigenic for the respiratory system.”* Die Tumorfrequenzen der Kontrollgruppe und der höchsten Toner-Dosisgruppe können zwar miteinander verglichen werden (2,7 % zu 4,4 %), aber nicht mit dem Ergebnis, sie seien *als annähernd gleich* zu bewerten, denn erstens wäre ein „wahres“ Exzess-Risiko von 4,4 % - 2,7 % = 1,7 % „ethisch“ (Kapitel 5.7) ein hohes Risiko und zweitens müssen die anderen Versuchsgruppen in den Vergleich eingeschlossen werden. Dies zeigt weiter unten die Analyse der in Abschnitt 5.5.1 referierten Versuchsdaten.

Es trifft auch nicht zu, dass die internationalen Richtlinien für chronische Toxizitäts/Kanzerogenitätsstudien in der Toner-Studie *“strictest”* eingehalten wurden. Es wird der Eindruck erweckt, die Kriterien für die *Maximum tolerated dose* (MTD) hätten sich bei der EPA erheblich verändert: *“...provisional U.S. Environmental Protection Agency policy recognized that a 10 % target organ weight increase meets the cri-*

teria“ (BELLMANN et al., 1991). Zitiert wird aus einem Nachrichtenblatt (Chemical Regulation Reporter May 9, 1986: 158). Die Guidelines der EPA enthielten jedoch weder zu jener Zeit noch später eine entsprechende Äußerung (US EPA, 1986; 1998). Ein solches Kriterium für die MTD wäre ein sicherer Weg, um eine relevante Kanzerogenität zu übersehen und ein falsch negatives Ergebnis zu erzeugen. Dies wird im Rückblick auf die Lebensverkürzung durch eine schwere Lungensilikose beim Menschen evident, die früher auch in Deutschland häufig auftrat und in unserem Experiment mit einer Verdreifachung des Lungengewichts noch nicht festzustellen war. Ein messbar lebensverkürzender Fibrosegrad lässt sich mit GBS bei Ratten nicht induzieren, eher würden die Tiere an dem großen Staubvolumen ersticken. Die Erfahrung, dass beruflich Belastete an einer Lungenfibrose durch Quarz- oder Asbeststaub oder auch am Lungenkrebs durch diese Stäube sterben können, ist ein wichtiges Kriterium für die Wahl der Dosis im Rattenversuch. Zu *Dose levels and dose selection* heißt es in den Health Effects Test Guidelines Carcinogenicity (US EPA, 1998): „A rationale for the doses selected must be provided. The highest-dose level should elicit signs of toxicity without substantially altering the normal life span due to effects other than tumors.“

Aus dem gesamten Zusammenhang folgt, dass eine schwere Lungenfibrose durch Stäube bei Ratten, die der Todesursache eines Bergmanns mit Silikose oder dem eines Asbestarbeiters mit Asbestose gleichkommt, nicht als Überschreitung der MTD für eine Kanzerogenitätsprüfung angesehen werden kann, obwohl sie eine „minimale Toxizität“ zweifellos erheblich überschreitet. Dieser Sachverhalt spricht auch gegen die Empfehlung einer sogenannten *Maximum functionally tolerated dose* (MFTD) als Kriterium für die höchste zu verabreichende Dosis, die eine Verlängerung der Halbwertszeit für die alveoläre Lungenreinigung bei der Ratte um den Faktor 2 bis 4 nicht überschreiten soll (MUHLE et al., 1990; OBERDÖRSTER, 1995). Daher ist auch der von MCCONNELL (1996) beschriebenen Entwicklung entgegen zu wirken: „It is becoming accepted that exposures that “overload” the lungs’ ability to clear the particulate in a normal way would, by definition, represent a dose that exceeds the MTD“. Hier wird die fragwürdige Overload-Hypothese (Abschnitt 5.2.1) zur Barriere für den Nachweis oder die Anerkennung einer kanzerogenen Wirkung.

Allen Empfehlungen von Expositionsbeschränkungen auf eine Höhe, die den Grenzwert nicht wesentlich überschreiten soll, ist entgegenzuhalten, dass die erzeugten Tumorfrequenzen bei den üblichen Versuchsgrößen rund 10 % übersteigen müssen, oder die Tierzahlen des Versuchs würden unbezahlbare Größen erfordern, um ein niedrigeres zusätzliches Risiko (Exzess-Risiko) statistisch zu sichern (Abschnitt 5.7.1). Infolgedessen sind Risikoabschätzungen in den nicht prüfbaren Bereich hinein nach begründeten Methoden notwendig, um die Kluft zwischen den experimentellen Ergebnissen nach erhöhter Exposition und arbeitsplatztypischen Expositionen zu schließen, anstatt mögliche und wahrscheinliche expositionsbedingte Krebsrisiken zu verschleiern, die bereits im Prozentbereich liegen oder liegen können.

Die Toner-Studie ist ein Beispiel für eine unterdosierte Kanzerogenitätsstudie, die ein eindeutig positives Ergebnis nur bei einer höheren Dosis, oder einer noch höheren kanzerogenen Potenz, oder mit einer erheblich höheren Tierzahl ergeben konnte. Daher sind die Ergebnisse jetzt im Grenzbereich der statistischen Signifikanz zu interpretieren. Unser eindeutiger Nachweis einer kanzerogenen Tonerwirkung im Intratrachealtest spricht dafür, den Inhalationstest als *wahrscheinlich positiv* zu beur-

teilen. Die Tumorfrequenz in der Kontrollgruppe lag mit 2,7 % deutlich höher als das Mittel von 0,9 % in den drei niedrig exponierten Versuchsgruppen (Toner, TiO₂), während 4,4 % Tumortiere in der am höchsten tonerexponierten Gruppe diagnostiziert wurden (Tab. 5.6). Infolgedessen ist eine revidierte Bewertung der 1991 veröffentlichten Daten notwendig, die vor der Neufestsetzung der Allgemeinen Staubgrenzwerte (TRGS 900, 2001) nicht durchgeführt wurde.

Unsere Analyse der Daten ergab u. a. folgendes: Der Prozentsatz PMN war nach 15 Monaten mit einer Belastung der Lunge, die unterhalb des Volumenkriteriums des Grenzwerts lag, beim Toner mit 6,7 % signifikant erhöht ($p < 0,01$), beim TiO₂ bei der halben Grenzwertbelastung mit 4,9 % ($p < 0,05$). Die hohe Tonerdosis (s. oben) ergab zu diesem Zeitpunkt einen PMN-Wert von 43 %. Die Dosis-Wirkungsbeziehungen zwischen dem Partikelvolumen von Toner und Titandioxid und PMN verliefen linear (Abb. 5.2). Der Anstieg der Tumorfrequenz von der Kontrollgruppe bis hin zur oberen Tonerdosis lag gemäß „exaktem“ Trendtest (verallgemeinerter Fisher-Test) an der Grenze der statistischen Signifikanz ($p = 0,049$; Cochran-Armitage Trendtest für Tumorfrequenz in Abhängigkeit von der retinierten Staubdosis: $p = 0,025$). Das Tumorrisiko der obersten Dosisgruppe war mit $5 / 114 = 4,4 \%$ 3,3-mal so hoch wie das der 450 Ratten (6 Tiere mit Tumor, 1,33 %), die nicht oder sehr niedrig exponiert waren (RR = 3,3).

Infolgedessen beträgt das über die Tumorfrequenz der gepoolten Vergleichsgruppen hinausgehende Risiko 3 % nach chronischer Exposition gegenüber Toner von linear umgerechnet 4,5 mg/m³ über 36 h/Woche (oder 4,1 mg/m³ über 40 h/Wo.). Diese Exposition mit ihrem Exzess-Risiko von 3 % liegt zwischen den beiden seit 2001 geltenden Grenzwerten von 6 mg/m³ für einzeln bezeichnete Arbeitsbereiche und 3 mg/m³ für die übrigen Arbeitsplätze. Ihre Ableitung gilt als gesundheitsbasiert und weist kein Krebsrisiko aus. Wenn das für den Toner ermittelte Risiko dem wahren Risiko entspricht, gilt dieses Exzess-Risiko nicht für alle GBS, sondern nur für solche mit der niedrigen Dichte wie die des Toners von 1,2 g/mL. An den meisten Arbeitsplätzen dürfte es wegen der höheren GBS-Dichte rund halb so hoch sein, das bedeutet 1 % bei 3 mg/m³ und 2 % bei 6 mg/m³.

Abgesehen von den unzutreffenden Äußerungen zur Kanzerogenität ist anzuerkennen, dass das umfangreiche Toner-Titandioxid-Experiment, in das auch Quarz integriert war, wesentlich zur Verbesserung der Erkenntnisse über die Zusammenhänge zwischen Retention, Staubelimination und Entzündung während der Lebenszeit der Ratte beitrug.

5.3.2 PMN in der Lungenspülflüssigkeit: Zeichen einer chronischen Entzündung bereits unterhalb einer Exposition in Höhe des Allgemeinen Staubgrenzwerts

Der Gehalt an neutrophilen Leukozyten (PMN) in der Lungenspülflüssigkeit wurde zumindest bis in die jüngste Vergangenheit als empfindlichster Hinweis auf eine chronische Entzündung mit Tumorfolge bewertet. Nach diesem Kriterium wurde der *No Observed Adverse Effect Level* (NOAEL) in dem chronischen Inhalationsversuch von MUHLE et al. (1991) mit TiO₂ durch einen erhöhten PMN-Wert nach 15 Monaten statistisch signifikant überschritten (Abb. 5.2, oberer Teil). Die Konzentration des Staubvolumens in der Atemluft betrug dabei 0,90 µL TiO₂/m³ über 30 h/Woche, um-

gerechnet $0,68 \mu\text{L}/\text{m}^3$ bezogen auf 40 h/Wo. Mit dem Dosismaßstab des retinierten *Volumens* ergeben sich für die beiden GBS Toner und TiO_2 in dem Inhalationsversuch lineare Dosis-Wirkungsbeziehungen mit statistisch signifikant erhöhten Werten unterhalb des MAK-Grenzwertkriteriums von $1 \mu\text{L}$ Staub/g Kontroll-Lunge gemäß GREIM (1997). Mit dem Maßstab *Oberfläche*, für den TRAN et al. (2000) aus ihren Inhalationsversuchen mit zwei Stäuben bei $200 - 300 \text{ cm}^2/\text{Lunge}$ eine Wirkungsschwelle für PMN ableiteten, wird deutlich, dass PMN-Werte aus dem Experiment von 1991 unterhalb dieser hypothetischen Schwelle signifikant erhöht waren. Die Ergebnisse sprechen gegen das Vorliegen einer Wirkungsschwelle in Höhe des Grenzwertkriteriums der MAK-Kommission von 1997.

Das in der Lunge retinierte Staubvolumen stieg über die gesamte Laufzeit von 24 Monaten an, ohne dass ein Gleichgewichtszustand (*steady state*) des Staubgehalts in der Lunge erkennbar wurde, der als wesentliches Kriterium für eine unschädliche Belastung beschrieben wurde (OBERDÖRSTER, 1995; GREIM et al., 2001). Da der Grenzwert für den alveolengängigen Staub (A-Wert, TRGS 900) nach BARIG und BLOME (2001) u. a. auf der Annahme einer mittleren Dichte von $2,5 \text{ g/mL}$ basiert, entspricht der A-Wert von $3 \text{ mg}/\text{m}^3$ einem Volumenwert von $1,2 \mu\text{L}/\text{m}^3$. Dieser Wert ist fast doppelt so hoch wie die TiO_2 -Exposition von $0,68 \text{ mL}/\text{m}^3$ bezogen auf 40 h/Woche. Infolgedessen liegt der NOAEL noch tiefer als $0,7 \mu\text{L}/\text{m}^3$. Auch bei der experimentellen Konzentration von $1,5 \text{ mg}/\text{m}^3$ Tonerstaub, entsprechend $1,2 \text{ mg}/\text{m}^3$ bzw. $1,0 \mu\text{L}/\text{m}^3$ bezogen auf 40 h/Woche, wurde eine Erhöhung des PMN-Anteils festgestellt; sie war bei allen untersuchten Zeitpunkten statistisch hoch-signifikant. Auch bei $0,3 \text{ mg}/\text{m}^3$ Tonerstaub war nicht eindeutig ein *steady state* der Clearanceprozesse erkennbar.

Aber auch in der großen Diesel-Inhalationsstudie von MAUDERLY et al. (1987) führte die niedrigste der drei Dieselruß-Konzentrationen von $0,35 \text{ mg}/\text{m}^3$ innerhalb von zwei Jahren nicht zu einem *steady state* der retinierten Staubmasse in der Lunge (WOLFF et al., 1987). Die retinierte Rußmenge war nach 24 Monaten deutlich höher als nach 18 Monaten, nach 18 Monaten höher als nach 12 Monaten. Bisher fehlt der experimentelle Nachweis eines gedachten und durch modellhafte grafische Darstellungen von OBERDÖRSTER (1995), MILLER (2000) und anderen demonstrierten *steady state*.

Die Ursache dürfte zum Teil darin liegen, dass die Halbwertszeit (gleichbedeutend mit Eliminationsrate) keine Konstante ist, sondern von der im Augenblick gerade retinierten Lungenbeladung abhängt (ROLLER, 2003a). Die Dosis-Wirkungsbeziehungen zwischen Dieselruß und Wirkungsparametern verlaufen meist linear (UBA, 1999). Davon unabhängig betrachtet, kann ein vorhandener *steady state* des Staubgehalts in der Lunge nicht *a priori* ein Beweis für fehlende gesundheitsschädliche Effekte sein. Ein Anstieg des Staubgehalts in Lungen wurde auch bei Frauen ohne berufliche Exposition innerhalb von 80 Lebensjahren gefunden (EINBRODT und DOHMES, 1967). Die Hypothese von KUEMPEL (2000) über die reaktionslose Ablagerung des Staubüberschusses in der Menschenlunge ist nicht durch entsprechende Messergebnisse belegt (Abschnitt 5.4.5).

Das Postulat einer Wirkungsschwelle bei der Ratte in der Höhe des Allgemeinen Staubgrenzwertes mit Hinweis auf die Overload-Hypothese lässt sich nach dieser Analyse der Daten nicht mehr aufrechterhalten.

5.3.3 Die Dosen in der 19-Stäube-Studie waren nicht übermäßig hoch

In einem Brief an den Herausgeber der Zeitschrift *Experimental and Toxicologic Pathology* haben MORFELD und BORM (2007) gefordert, die Urheber der 19-Stäube-Studie sollten bestätigen, dass die Studie einfach überdosiert war. In einer ausführlichen Antwort haben wir dargelegt, dass die Studie tatsächlich nicht überdosiert war, insbesondere im Hinblick auf den Stand der Kenntnisse und offenen Fragen zur Zeit der Planung der Studie in den Jahren 1993-1995 (ROLLER, 2007). Es war seinerzeit keineswegs klar, wie hoch die kanzerogene Potenz von feinen GBS in der Rattenlunge war. Zwei Instillationsversuche mit TiO_2 (45 mg Anatas, 60 mg Rutil) hatten keine statistisch signifikanten kanzerogenen Effekte gezeigt. Während der Planung der 19-Stäube-Studie empfahlen die Vertreter der Bergbau-Berufsgenossenschaft, auf die Prüfung der Kohlen-/Grubenstäube zu verzichten, weil die kanzerogenen Effekte von Industrieruß und TiO_2 in Inhalationsversuchen auf den ultrafeinen Anteil dieser Stäube zurückgeführt wurden; man betrachtete es als klar, dass Kohlen-/Grubenstäube solche Eigenschaften nicht hätten, da die Partikel größer sind. Die Inhalationsstudie mit Toner von MUHLE et al. (1991) war als Beleg für das Fehlen von Kanzerogenität überinterpretiert worden*.

Auch epidemiologische Ergebnisse aus dem Kohlenbergbau wurden als Zeichen des Fehlens einer Kanzerogenität interpretiert (siehe aber Abschnitt 5.4.2). Eine Kanzerogenitätsstudie ist sinnlos, wenn sie „unterdosiert“ ist, d. h. wenn keine hinreichend hohen Dosen eingesetzt werden (siehe auch Abschnitt 5.7.1). Unter dem Eindruck der Diskussion, ob Kohlenstäube überhaupt kanzerogen seien, war es begründet, Dosen einzusetzen, die wenigstens den höchsten Staubmengen in den Lungen von Kohlebergleuten entsprechen. Wir gründeten die Berechnungen auf Werten von 50 bis 100 g Staub pro menschliche Lungen. Der seinerzeit im MIU tätige Pathologe stimmte zu, dass eine instillierte Dosis von 120 mg pro Ratte (d. h. zirka 80 mg langfristig retiniert) als äquivalent zu einem Staubgehalt von 80 g pro Humanlunge anzusehen sei - bezogen auf Lungenfrischgewichte von 1 g bei der Ratte und 1000 g beim Menschen. Wenn man die Dosen anstatt auf das Frischgewicht auf die Lungenoberfläche bezieht, dann müsste die Dosis wesentlich höher sein (ungefähr einen Faktor 6).

Jetzt, nachdem die Studie beendet ist, lässt sich feststellen, dass die Dosen von 60 und 120 mg an groß-feinen GBS angemessen waren. Zum einen reduzierten diese Dosen die Lebenserwartung der Tiere nicht wesentlich und verzögerten die Gewichtsentwicklung der Tiere nicht um 10 % oder mehr (Tab. 3.3, Anhang 8.1, 8.2). Das heißt, dass die Maximal Tolerierte Dosis (MTD) im üblichen Sinn nicht überschritten wurde. Zum anderen analysierten wir, dass die höheren Dosen zu statistisch signifikant höheren Tumorfrequenzen als die niedrigeren geführt haben. Dies bedeutet, dass keine „Sättigung“ mit 60 mg der groß-feinen GBS erreicht wurde. Eine solche Analyse mit Fisher's exact test, ob denn die höhere Dosis zu höheren Tumorfrequenzen führte als die niedrigere, ist nicht üblich bei Kanzerogenitätstest und insofern eine Art von „Luxus“. Gewöhnlich wird ein Kanzerogenitätstest dann als „positiv“ anerkannt, wenn wenigstens eine oder zwei Dosen zu statistisch signifikant höheren Tumorfrequenzen führten als die mitgeführte Kontrolle. Dies ist im Falle der

* Anhand der Studie kann aber ein nicht-tolerierbares Krebsrisiko von 3 % nicht ausgeschlossen werden, siehe Abschnitte 5.3.1 und 5.5.2.

groß-feinen GBS ganz eindeutig der Fall. Weil die Studie so detailliert hinterfragt wurde, haben wir außerdem die Prüfung durchgeführt, ob ein Unterschied zwischen den beiden Dosen besteht.

Die Tabellen 3.7 und 3.8 zeigen die Ergebnisse der statistischen Prüfungen. Die Ergebnisse belegen eindeutig, dass auch im Bereich instillierter Dosen zwischen 60 und 120 mg groß-feinen GBS Dosis-Wirkungsbeziehungen bestehen. Dies wird ferner durch die Analyse der Dosis-Risikobeziehungen der einzelnen Stäube mit dem Multistage-Modell unterstützt (Abb. 4.1) sowie durch die gute Auswertbarkeit und die klaren Ergebnisse in der multivariaten Analyse, die ausführlich in den Abschnitten 4.2 und 4.3 dargestellt ist. Die klaren Dosis-Wirkungsbeziehungen stehen in Widerspruch zu dem Postulat einer Sättigungsdosis in Höhe von 20 mg bei MORFELD et al. (2006). Auf weitere Unstimmigkeiten in der Arbeit von MORFELD et al. (2006), die sich nur mit einem relativ kleinen Teil der 19-Stäube-Studie befasst, wird im Abschnitt 5.3.4 hingewiesen.

5.3.4 Der Versuch, aus einem Teildatensatz der 19-Stäube-Studie einen Schwellenwert abzuleiten, führte zu unplausiblen Ergebnissen

Eine Veröffentlichung von MORFELD et al. (2006) postuliert eine Wirkungsschwelle, die aus einem Teildatensatz der 19-Stäube-Studie abgeleitet wurde. Wörtlich heißt es dort: *„Interestingly, a dose threshold of about 10 mg mass dose (0.95 CI: 5 mg to 15 mg) emerged from our calculations. In addition, our statistical analysis demonstrated that tumor prevalence is saturated beyond 20 mg mass dose.“* and *„Analyzing high-surface-area dusts only an optimal threshold value was estimated to lie between 15 mg and 25 mg mass dose ...“*. In ihrem Brief an den Herausgeber der Zeitschrift *Experimental and Toxicologic Pathology* haben MORFELD und BORM (2007) nochmals ausdrücklich auf diese Arbeit hingewiesen. Auf den Brief an den Herausgeber wurde von MOHR (2007) - bezüglich der Histopathologie - sowie von ROLLER (2007) - bezüglich der Statistik - geantwortet. Es wurde dargelegt, dass diese Wirkungsschwelle nicht gut begründet ist und insgesamt einen Dosis-Wirkungsverlauf erfordern würde, der den bisherigen Erfahrungen mit Kanzerogenitätsdaten sowie biologischen Plausibilitäten widerspricht. Da die Antwort bei ROLLER (2007) ausführlich ist, seien hier lediglich wenige wesentliche Punkte angesprochen.

Die Problematik der Ableitung der Wirkungsschwelle von MORFELD et al. (2006) lässt sich am einfachsten an dem o.g. Wortzitat zu den high-surface-area-Partikeln verdeutlichen, wonach eine Wirkungsschwelle für diese Stäube zwischen 15 und 25 mg instillierter Masse anzusetzen sei. In der Table 1 von MORFELD et al. (2006), welche die dort ausgewerteten Daten zusammenfasst, sind lediglich zwei high-surface-area-GBS aufgeführt: Ruß und TiO₂. Es handelt sich dabei um die Stäube, die wir als Ruß UF und TiO₂ UF bezeichnet haben. Die niedrigsten ausgewerteten Dosen sind für beide Stäube bei MORFELD et al. (2006) mit 15 mg angegeben (die Dosisgruppe mit der Nenndosis 7,5 mg Ruß UF wurde dort aus unbekanntem Grund nicht berücksichtigt). Die Tumorhäufigkeiten (als „prevalence“ bezeichnet) für die 15 mg-Dosen sind bei MORFELD et al. (2006) mit 66,7 % bzw. 51,2 % angegeben. Es ist offensichtlich, dass hier „etwas nicht stimmt“. Es kann nicht eine Wirkungsschwelle zwischen 15 und 25 mg liegen, wenn 15 mg bereits mit 67 % tumortragenden Tieren assoziiert sind.

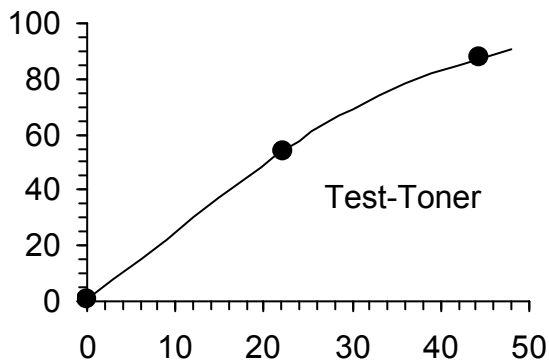
MORFELD und BORM (2007) betonen, dass ihre Analysen deshalb besonders aussagestark seien, weil sie in Form einer Cox-Regression die Überlebenszeiten der einzelnen Tiere berücksichtigt haben. Tatsächlich unterscheiden sich die Verteilungen der Überlebenszeiten in den relevanten Versuchsgruppen aber nur wenig, so dass darin kaum solch gravierende Unterschiede in den Ergebnissen begründet sein können. MORFELD et al. (2006) haben als „time-to-tumour“-Modell die Cox-Regression verwendet, die ursprünglich für die Analyse von sogenannten Ausfallzeiten entwickelt wurde - im Falle der Tumoren wäre das die Zeit bis zum Tod durch den Tumor. Dies erscheint deshalb problematisch, weil die Lungentumoren hier häufig nicht die Todesursache sind (dies ist auch an der Ähnlichkeit der Überlebenszeiten in Gruppen mit wenigen und mit vielen Tieren mit Tumor zu erkennen). Die Überlebenszeit dürfte daher häufig weniger die - für eine „Ausfallzeiten-Analyse“ interessante - Information über die Zeit bis zum Auftreten des Tumors enthalten als vielmehr lediglich die Information über die Zeit bis zur zufälligen Entdeckung des Tumors bei einem aus anderen Gründen gestorbenen Tier. Der Zeitraum zwischen dem Auftreten des Tumors und dem Tode kann bei einzelnen Tieren sehr unterschiedlich sein.

Leider enthält die Arbeit von MORFELD et al. (2006) keine Angaben über die relativen Risiken bzw. relativen Raten für die einzelnen Dosisgruppen gemäß Modell; es findet sich weder eine Tabelle, die berechnete Raten bei verschiedenen Dosen zeigt, noch eine grafische Darstellung. Zwar sind sogenannte „dose coefficients“ angegeben, es fehlen aber nicht nur berechnete Werte der relativen Raten gemäß Modell, sondern auch Angaben über weitere Modellparameter, sodass der Verlauf des Modells über den gesamten Dosisbereich auch nicht vom Leser direkt berechnet werden kann. Gleichwohl kann aus den Angaben „Dosischwelle 10 mg“ und „Sättigungsschwelle 20 mg“ auf einen Verlauf des Modells geschlossen werden, der genau diese Werte enthält. Wir haben in unseren Analysen auf die Lebenszeit-Tumorrisiken abgehoben. Hazardraten und Lebenszeitrisiken stehen miteinander in Verbindung und aus den Beschreibungen bei MORFELD et al. (2006) kann hilfsweise - in Ermangelung näherer mathematischer Angaben - ein Modell für das Lebenszeitrisiko formuliert werden, das die Eigenschaften des „Morfeld-Modells“ besitzt, nämlich:

- Schwelle bei 10 mg, gemeinsam für alle Stäube
- Sättigungsdosis bei 20 mg, gemeinsam für alle Stäube („*The dose saturation parameter σ is defined to be a value on the dose scale above which the rate of the response does not increase, despite increase of dose.*“)
- *dose coefficient*, gemeinsam für alle Stäube
- zusätzlicher Modellparameter zur Anpassung an die einzelnen Partikeltypen („*type of dust was an important tumor prevalence predictor*“).

Hypothese von Pott und Roller (2005)**Hypothese von Schwelle und Sättigung
ähnlich Morfeld et al. (2006)**

% Ratten mit Lungentumor(en)



% Ratten mit Lungentumor(en)

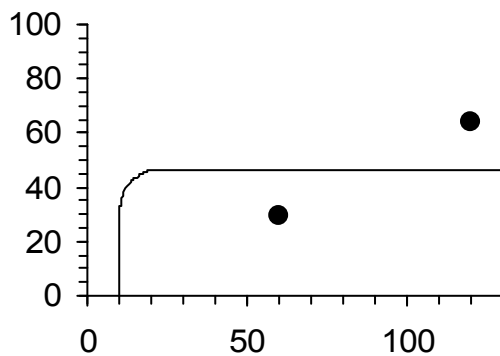
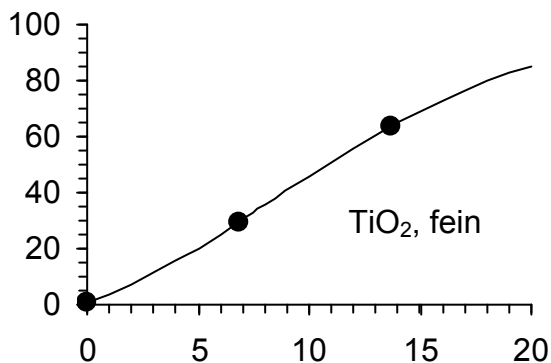
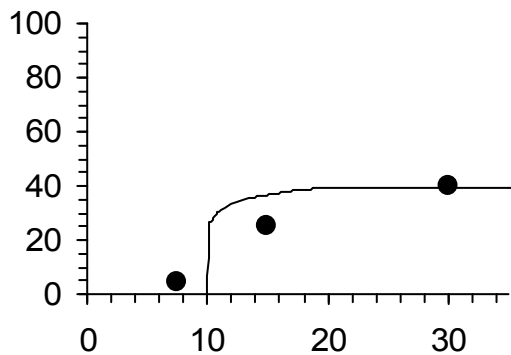
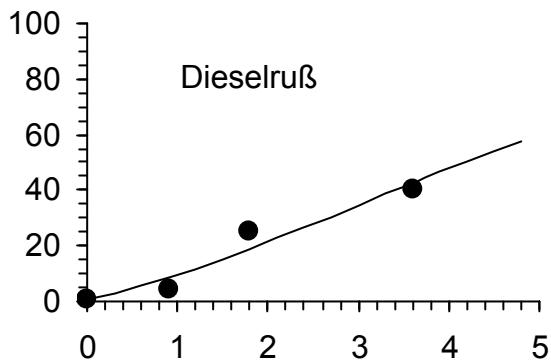
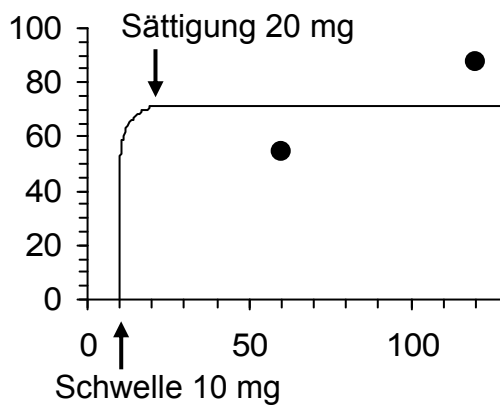
Retiniertes Staubvolumen
[µL/g Kontroll-Lunge]Instillierte Staubmasse
pro Lunge [mg]

Abb. 5.8 Zwei gegensätzliche Hypothesen über den Verlauf von Dosis-Wirkungsbeziehungen am Beispiel von drei GBS der 19-Stäube-Studie. Links: Multistage-Modell und Staubvolumen als Dosismaß wie in den Abschnitten 4.1 und 4.3 und wie bei POTT and ROLLER (2005). Rechts: Schwellenwert- und Sättigungs-Modell mit der instillierten Staubmasse und mit den Eigenschaften, die bei MORFELD et al. (2006) beschreiben sind: kein Risiko unterhalb von 10 mg Massendosis, kein Anstieg des Risikos oberhalb von 20 mg Massendosis. Alle Tumorhäufigkeiten entsprechend MOHR et al. (2006)

Ein solches Modell kann nur durch eine Funktion beschrieben werden, die einer „Sprungfunktion“ ähnelt: kein erhöhtes Risiko bis zur Schwelle von 10 mg, dann steiler Risikoanstieg (Sprung) zwischen 10 und 20 mg, oberhalb von 20 mg kein weiterer Risikoanstieg mehr. In der Abb. 5.8 sind solche Funktionen beispielhaft für einige Stäube den Dosis-Risikobeziehungen gegenübergestellt, die sich in unserer Analyse mit dem Multistage-Modell ergeben haben (siehe Abb. 4.1). Der zusätzliche Modellparameter zur Anpassung an die einzelnen Partikeltypen in dem Modell nach Morfeld führt dazu, dass je nach Partikeltyp ein unterschiedlich hohes „Sättigungsniveau“ des Risikos erreicht wird. Ein solch partikelspezifisches maximales Risikoniveau ist ebenso wenig plausibel wie der gesamte Verlauf der Modelle auf der rechten Seite der Abb. 5.8.

Im Unterschied zu den unplausiblen Verläufen der „Sprungfunktionen“ der Abb. 5.8 zeigen die Abb. 4.3, 4.5 und 4.6 eine vernünftige Interpretation der Dosis-Wirkungsbeziehungen der GBS der 19-Stäube-Studie mit den unterschiedlichen mittleren Partikelgrößen: Das Lungentumorrisiko von Partikeln mit ähnlichen mittleren Partikelgrößen hängt vom retinierten Staubvolumen ab. Es ergibt sich keine Evidenz einer Wirkungsschwelle. Außerdem hängt die kanzerogene Potenz von der Partikelgröße ab. Ein bestimmtes retiniertes Volumen an ultrafeinen Partikeln führt zu einem höheren Lungentumorrisiko als dasselbe Volumen an groß-feinen Partikeln. Dieser Unterschied ist sehr klar und in Abb. 4.3 gut erkennbar; er ist statistisch hoch-signifikant. Gemäß Abb. 4.3 und 4.5 erscheint es angemessen und vernünftig, verschiedene GBS in einer gemeinsamen Analyse zu kombinieren und relevante Schlussfolgerungen für die gesamte Gruppe der GBS zu ziehen, wenn Partikelgröße und Partikelvolumen berücksichtigt werden. Es gibt dann keinen erkennbaren Grund, z. B. nach Ruß und nach TiO_2 zu differenzieren. Es mögen kleinere Unterschiede in den Partikelgrößenverteilungen oder anderen Eigenschaften der von uns verwendeten Ruß- und TiO_2 -Proben vorhanden sein. Diese Unterschiede mögen verantwortlich sein für verbleibende Unterschiede in den Entfernungen der Datenpunkte von den berechneten Modellverläufen z. B. der Abb. 4.3. Aber die Unterschiede der kanzerogenen Potenzen innerhalb der Partikelgrößenklassen sind vernünftig gering im Vergleich mit den Unterschieden zwischen den Größenklassen. Es erscheint nicht begründet, aus diesen Daten relevante Unterschiede in den kanzerogenen Potenzen von GBS unterschiedlicher chemischer Zusammensetzung - und dabei eine gemeinsame Wirkungsschwelle für alle Stäube - abzuleiten.

Im nächsten Abschnitt 5.3.4 wird ein neuerer Kanzerogenitätsversuch von ERNST et al. (2005) dargestellt. Die dort beobachtete Lungentumorhäufigkeit von **47 %** bei 17 alt gewordenen Ratten nach 10 Instillationen von je **5 mg** ultrafeinem Ruß (es handelt sich dabei um den gleichen Ruß-UF wie in der 19-Stäube-Studie, dessen Gruppen - außer der 7,5 mg-Nennndosis - auch von MORFELD et al., 2006, ausgewertet wurden) schließt die Möglichkeit einer Wirkungsschwelle in dem Dosisbereich von 10 mg vollends aus.

5.3.5 Mehr histologisch untersuchte Gewebsschnitte pro Lunge erforderlich, um kleine Tumoren mit höherer Wahrscheinlichkeit zu finden

Die Anzahl der Gewebsschnitte der Rattenlunge, die auf Tumoren und Tumorstufen untersucht werden, sollten bei zukünftigen Versuchen mit niedrigeren Dosen

wesentlich erhöht werden, um auch beginnende Tumoren mit höherer Wahrscheinlichkeit zu erfassen.

Die nicht statistisch signifikant erhöhten Tumorfrequenzen von 2,6 und 5,1 % in zwei 1986 und 1987 begonnenen Versuchen mit nicht ultrafeinem Titandioxid (Anatas und Rutil) dürften zu einem wesentlichen Teil auf die zu geringe Zahl der untersuchten Gewebsschnitte zurückzuführen sein (s. Abschnitt 5.5.1, Tab. 5.7). Für die 19-Stäube-Studie wurden die Schnitzzahlen bereits erhöht (in der Regel 10 bis 15 pro Lunge), um die Ursache möglicher Unterschätzungen zu verringern. Mit einer von 45 auf 60 mg Anatas erhöhten instillierten Dosis wurde daraufhin eine Tumorfrequenz von 29,5 % gefunden im Vergleich zu 5,1 % im ersten Experiment.

Tumoren sind mikroskopisch als solche bereits diagnostizierbar, wenn sie eine Größe von etwa 0,2 mm erreicht haben und der Gewebsschnitt durch die Mitte des Tumors verläuft. Über die Latenzzeit zwischen der tatsächlichen Entstehung der ersten Ansammlung von Tumorzellen und dem histologisch erkennbaren Tumor sind uns keine Daten bekannt. In dieser Zeitspanne liegt eine absolute Blindzone für den Tumornachweis, der besonders für die Risikoextrapolation von einem hoch positiven Ergebnis in den niedrigeren Dosisbereich eine Fehlerquelle in Richtung auf Unterschätzung führen muss. Auch die Wahrscheinlichkeit, einen beginnenden Tumor in der Größe von 2 - 2,5 mm mit nur drei Schnitten durch die fünf Lungenlappen einer Lunge so zu treffen, dass er diagnostizierbar ist, liegt statistisch nur bei etwa 7 % Prozent (ERNST et al., 2005). Die am Lebensende gefundenen Tumoren sind zwar nach Verabreichung höherer Dosen und früh entstehenden Tumoren am Ende der Lebenszeit in der Regel viel größer, haben aber mit ihrem Wachstum nach individuell unterschiedlichen Latenzzeiten begonnen. Die Wünsche an das Versuchsdesign gehen einerseits dahin, mit den Dosierungen näher an die realen Expositionen des Menschen heranzukommen. Andererseits verlängern niedrigere Dosen die Latenzzeit bis zur Entstehung eines Tumors, und die Nachweisgrenze für eine statistisch signifikant erhöhte kanzerogene Wirkung liegt bei 50 exponierten Ratten bei einer Tumorfrequenz von etwa 10 %, wenn die Kontrollgruppe tumorfrei ist (s. Abschnitt 5.7.1). Das statistisch signifikant nachweisbare Risiko liegt also weit oberhalb eines für den Menschen durch die Arbeitsplatzexposition zumutbaren Bereichs. Infolgedessen ist es erforderlich, insbesondere bei den als „niedrig“ eingeschätzten Dosen durch eine hohe Anzahl von Schnitten die Trefferwahrscheinlichkeit kleiner Tumoren und der Tumorstufen zu erhöhen, um sie mit hoher Wahrscheinlichkeit zu finden und damit die Empfindlichkeit des Testmodells zu verbessern.

Die Bedeutung der Untersuchung einer größeren Schnitzzahl („Intensivhistologie“) wurde von ERNST et al. (2005) nach Instillation von amorphem Siliziumdioxid und von Kohlenstaub empirisch untersucht. Von den Tieren, die ein hohes Alter erreichten wurden von jeder Gruppe 17 Ratten (bzw. 22 Kontrolltiere) auf Lungentumoren untersucht. Dabei wurden neben der Routinehistologie von 6 Schnitten pro Lunge auch 60 Schnitte pro Lunge mikroskopisch auf präneoplastische Veränderungen sowie Lungentumoren begutachtet. Tab. 5.3 gibt eine Übersicht über die Ergebnisse dieses Versuches. Von besonderem Interesse ist dabei der amorphe Siliziumdioxidstaub, mit dem in der 19-Stäube-Studie keine signifikante Erhöhung der Lungentumorfrequenz festgestellt worden war. Abb. 5.9 zeigt die Ergebnisse von ERNST et al. (2005) mit diesem Staub. Die Unterschiede zwischen Routinehistologie und Intensivhistologie sind deutlich: bei Untersuchung von 6 Schnitten pro Lunge (d. h. nur

jeder 10. Schnitt begutachtet) wurden 2 Lungen mit Tumor unter 17 Lungen gefunden und keine zusätzliche Veränderung, die als Präneoplasie einzustufen gewesen wäre; dagegen wurden bei Begutachtung von 60 Schnitten pro Lunge 6 Lungen mit Tumor gefunden und zusätzlich 7 Lungen mit präneoplastischen Veränderungen. Kein Tumor wurde mit der Intensivhistologie in 22 Lungen der Kontrolltiere gefunden.

Tab. 5.3 Ergebnisse eines Kanzerogenitätsversuchs mit Instillation von Staubsuspensionen bei Ratten von ERNST et al. (2005). In dem Versuch wurde die Nachweisempfindlichkeit von Routinehistologie (6 Schnitte je Lunge) und „Intensivhistologie“ (60 Schnitte je Lunge) verglichen.

	10 x 0,3 ml NaCl-Lösg. + Tween® 80		1 x 3 mg Quarz		1 x 3 mg Quarz + 7 Inj. à 20 mg PVNO s.c. im Abstand von 4 Mon.		30 x 0,5 mg SiO ₂ , amorph		10 x 0,5 mg Ruß-UF		10 x 1 mg Kohlenstaub	
Bezeichnung (s. Fußnote)	a)	b)	c)	d)	c)	d)	a)	b)	c)	d)	a)	b)
Zahl untersuchter Lungen	17	22	17	17	17	17	17	17	17	17	17	17
Zahl untersuchter Schnitte je Lunge	6	60	6	6/60	6	6/60	6	60	6	6/60	6	60
Anzahl Tiere mit mind. 1 Lungentumor	0	0	12	12	8	8	2	6	6	8	0	0
Anzahl Tiere mit mind. 1 Präneoplasie* in der Lunge	1	1	16	16	6	6	0	7	4	4	0	3

- a) Ergebnisse nach Auswertung von 6 Schnitten, und zwar der 3. Schnittebene von je 10 Schnitten der 6 Gewebsblöckchen jeder Lunge; es handelt sich um die gleichen Ratten wie unter b).
- b) Ergebnisse nach Auswertung von 60 Schnitten der gleichen Lungen wie a), also von 10 Schnitten der 6 Blöckchen; der Unterschied zu a) zeigt den zusätzlichen Erkenntnisgewinn.
- c) Ergebnisse nach Auswertung der gleichen 17 Lungen wie d); im Unterschied dazu wurden von den 7 Lungen, von denen 60 Schnitte vorliegen, nur 6 Schnitte berücksichtigt wie bei a).
- d) Ergebnisse nach Auswertung von 17 Lungen, davon 10 Lungen mit insgesamt nur 6 vorhandenen Schnitten und von 7 mit 60 Schnitten.

* Präneoplastische Läsionen: alle fokalen/multifokalen bronchiolo-alveolären Hyperplasien sowie Plattenepithelmetaplasien Grad 4 und 5

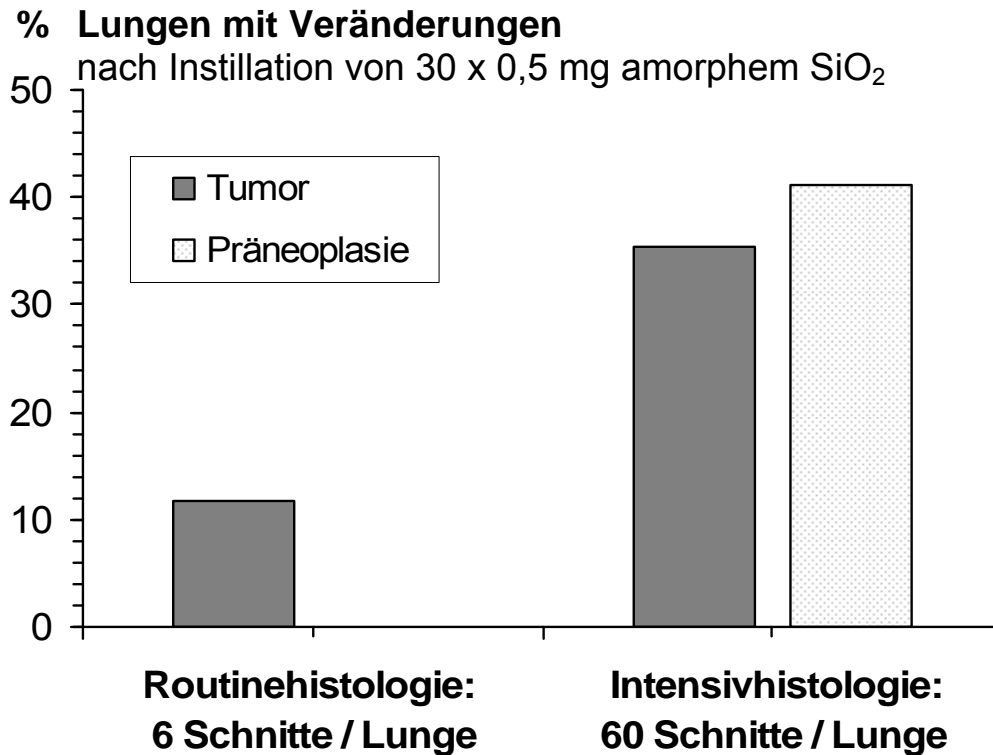


Abb. 5.9 Unterschied in der Empfindlichkeit zwischen Routinehistologie und „Intensivhistologie“ in einem Instillationsversuch mit amorphem Siliziumdioxid AEROSIL® 150 bei weiblichen Wistar-Ratten (Daten von ERNST et al., 2005)

Die Häufigkeit 6 / 17 (35 %) versus 0 / 22, d. h. der kanzerogene Effekt des amorphen SiO₂, der mit Intensivhistologie entdeckt wurde, ist statistisch signifikant ($p = 0,004$), während das Ergebnis der Routinehistologie „negativ“ ist (2 / 17, 12 %, versus 0 / 22, $p = 0,18$). Es ist offensichtlich, dass das übliche Design des Kanzerogenitätsversuchs zu dem falschen Schluss führte, das amorphe SiO₂ habe kein kanzerogenes Potenzial bei Ratten. Die Höhe und die Bedeutung dieses großen Unterschieds im Falle des amorphen SiO₂ ist sicherlich nicht die Regel, und der große Aufwand sollte daher nur besonderen Fällen vorbehalten bleiben, über die in jedem Einzelfall entschieden werden muss. Das Beispiel zeigt aber eindrucksvoll, wie vorsichtig man mit dem Propagieren einer Wirkungsschwelle nach der Auswertung von Kanzerogenitätsversuchen sein sollte. Gerade wenn relativ niedrige Dosierungen eingesetzt werden, kann die Zahl der Gewebsschnitte die Bewertung des Versuchs oder der Wirksamkeit einzelner Dosierungen entscheidend beeinflussen. **Der „No-Observed-Effect-Level“ hängt von der Empfindlichkeit der Untersuchungsmethode ab und sollte alleine deshalb nicht als „Schwelle“ bezeichnet werden!**

Anzumerken ist, dass mit 10 x 1 mg Kohlenstaub (die Magerkohle aus der 19-Stäube-Studie) auch mit 60 Schnitten pro Lunge bei 17 alt gewordenen Ratten kein Tumor gefunden wurde. Auch dies sollte aber nicht als Hinweis auf eine Wirkungsschwelle missdeutet werden. Trotz der höheren Schnitzzahl ist die Tierzahl, auf die sich das „Risiko“ bezieht, mit 17 Tieren klein. Der statistische 95%-Vertrauensbereich der Häufigkeit 0 / 17 reicht bis 19,5 %. Es wurden mit 60 Schnitten je Lunge 3 Tiere

mit präneoplastischen Läsionen gefunden, auch dies spricht gegen eine Wirkungsschwelle in diesem Dosisbereich. Die Wirkungsschwelle von 10 mg instillierten Staubes von MORFELD et al. (2006) wurde sowohl für feine als auch für ultrafeine („high-surface-area“) Stäube abgeleitet. Zusammen mit den sonstigen in Abschnitt 5.3.4 dargestellten Gründen schließt die Lungentumorhäufigkeit von bis zu 47 % mit 5 mg ultrafeinem Ruß in dem Versuch von ERNST et al. (2005) eine solche Wirkungsschwelle aus.

5.3.6 Entzündungsreaktionen nach Partikelexposition in der Menschen- lunge: Kohlengrubenstaub, Dieselruß, Feinstaub und andere

Nach Ansicht der MAK-Kommission besteht im Grundsatz kein Zweifel daran, dass auch die Exposition des Menschen z. B. gegenüber Kohlengrubenstaub mit entzündlichen Fremdkörperreaktionen verbunden ist. Hinsichtlich des allgemeinen Wirkungscharakters heißt es in der MAK-Begründung zu Steinkohlengrubenstaub (GREIM, 1998a): *„Kohlengrubenstaub kann als schwerlöslicher Staub in der Lunge exponierter Menschen bzw. Tiere akkumulieren und sowohl zu einer Beeinträchtigung der Lungenclearance als auch zu entzündlichen Gewebsveränderungen führen.“* Die Bergarbeiter-Pneumokoniose wird folgendermaßen erläutert: *„Es handelt sich um eine chronisch fortschreitende, anfänglich vorwiegend knötchenförmige Fibrose des Lungengewebes mit Beteiligung der Lymphbahnen und erheblicher Schrumpfungseigung“*. Es werden dort ferner zwei Stadien in Form der *„einfachen Bergarbeiter-Pneumokoniose (coal workers´ simple pneumoconiosis, CWSP)“* und der *„progressiven massiven Fibrose (PMF = Schwielensilikose; Schattengröße mindestens $\geq A$ im Röntgenbild nach ILO (1980)“* genannt. Bei der Betrachtung des Wirkungsmechanismus werden Entzündungsmediatoren, reaktive Sauerstoffspezies (ROS), Zytokine und Wachstumsfaktoren für die Stimulation der verschiedenen Formen der Lungenfibrose und des Lungenemphysems verantwortlich gemacht. Steinkohlengrubenstaub enthält in der Regel einen mehr oder weniger großen Anteil an Quarz (Tab. 2.1; Abschnitte 2.1, 5.4.2, 5.6.1). Bei GREIM (1998a) ist ein eigener Abschnitt zur Bewertung der spezifischen Schädlichkeit von Quarz als Bestandteil des Steinkohlengrubenstaubs aufgeführt, wobei der Quarzgehalt, insbesondere aufgrund epidemiologischer Daten und ihrer Interpretation, nicht als das eigentliche Schädigungsprinzip angesehen wird: *„Der Kohlengrubenfeinstaub wird als das wesentliche kausale Agens für die Entwicklung der Bergarbeiter-Pneumokoniose angesehen. Jedoch kann dessen Quarzgehalt nicht als das eigentliche Schädigungsprinzip unabhängig vom Inkohlungsgrad der abgebauten Kohle und unabhängig vom Silikatgehalt des Kohlengrubenfeinstaubes akzeptiert werden.“*

Bereits NAGELSCHMIDT (1960) und NAGELSCHMIDT et al. (1963) schlossen aus ihren Untersuchungen über den Staub- und Kollagengehalt in Lungen von Kohlenbergleuten mit progressiver massiver Fibrose (PMF), dass die Quarztheorie als Ursache der PMF durch die vorgelegten Daten nicht gestützt wird. Von Seiten der Histopathologie werden die tierexperimentellen Lungenveränderungen durch Quarz folgendermaßen beschrieben: *„Die vorwiegend mikroskopisch, immunhistochemisch, elektronenoptisch und morphometrisch zu erhebenden Befunde zur formalen Pathogenese quarzinduzierter Reaktionsmuster sind den Bildern beim Menschen durchaus vergleichbar“* (MÜLLER und WIETHEGE, 2000). Für den Menschen heißt es dort: *„Die in Präparaten ehemaliger Bergleute für uns täglich nachvollziehbaren Befunde der ‚Staublungenveränderungen‘ sind bei demselben Patienten innerhalb der Lungen*

bezüglich Aktualität, Ausmaß und Aktivität durchaus variabel entwickelt.“ An anderen Stellen: „Quarz als ‚direktes‘ Kanzerogen kann aus umfangreichen morphologischen Befunden beim Menschen nicht wissenschaftlich begründet abgeleitet werden.“ und „... kann aus den Befunden aber der Weg zur Tumorrealisation grundsätzlich auch für Quarz über einen chronischen Entzündungsprozess mit Mediatorfreisetzung aus Entzündungszellen und daraus abzuleitender Schädigung der genetischen Information bis zur unkontrollierten autonomen Tumorzelle diskutiert werden.“ Die pathophysiologischen und histopathologischen Abläufe nach Exposition gegenüber Quarzstaub und GBS sind demnach *qualitativ* nicht zu unterscheiden, solange nicht das typische Bild einer ausgeprägten Silikose entwickelt ist.

Ein Bericht von MORFELD et al. (2005) beschreibt den Abschluss der vierten Phase einer über viele Jahre im saarländischen Steinkohlenbergbau durchgeführten Studie zur Pneumokoniose und zum Krebsrisiko. Auf die Ergebnisse zum Krebsrisiko wird hier weiter unten eingegangen, zunächst sei auf die Ergebnisse zum Pneumokonioserisiko eingegangen, deren Zahlenwerte in Anlagebänden zur dritten Phase der Studie beschrieben sind (<http://www.uk-koeln.de/institute/arbeitsmedizin>). Die Anlagenbände zu der Studie enthalten detaillierte Angaben zu Expositionen und zu den Expositions-Risikobeziehungen für Pneumokoniose. Abgeschätzt mit einer leicht ansteigenden Rückwärtsextrapolation ergibt sich zum Beispiel für den Zeitraum 1934-1998 ein Mittelwert der kumulativen Kohlengruben-A-Staub-Exposition in Höhe von 17606,26 mg/m³-Schichten. Umgerechnet auf eine 40-jährige Exposition mit 210 Schichten pro Jahr entspricht dies einem Langzeit-Mittelwert in Höhe von 2,1 mg/m³. Das 95. Perzentil liegt bei 28539,06 mg/m³-Schichten. Dies bedeutet, dass für 95 % aller Bergleute eine Exposition entsprechend einem Langzeit-Mittelwert von weniger als 3,4 mg/m³ anzusetzen ist; zum Vergleich: der Allgemeine Staubgrenzwert (AStGw) nach TRGS 900 beträgt 3 mg/m³. Trotz dieser relativ niedrigen Exposition traten beim Stand 1998 unter 4461 Bergleuten 604 Fälle mit dem Pneumokoniosegrad 1/1 ILO 1980 auf, für den Stand 2002 sind 786 Fälle \geq 1/1 angegeben. Für den Stand 1998 sind außerdem Ergebnisse von Cox-Regressionsanalysen angegeben. Für das Gesamtkollektiv ist dort z. B. für den Pneumokoniosegrad 1/1 unter der sogenannten niedrigen Imputation ein Koeffizient von 0,05736 aufgeführt, bezogen auf die kumulative Exposition in der Einheit mg/m³-Schichten/1000. Das relative Risiko gemäß Cox-Regression, das sogenannte Hazard Ratio (HR), in Abhängigkeit von der kumulativen Exposition sollte sich somit folgendermaßen berechnen lassen:

$$\text{HR(kumulative Exposition)} = \exp[0,057 \times \text{kumulative Exposition}/(\text{mg/m}^3\text{-Schichten}/1000)].$$

Für eine Langzeit-Exposition entsprechend dem AStGw ergibt sich dann:

$$\text{HR}(3 \text{ mg/m}^3, 40 \text{ J., } 210 \text{ Schichten/J.}) = \exp(0,057 \times 3 \times 40 \times 210/1000) = 4,2.$$

Das Risiko für eine Pneumokoniose mit (mindestens) dem Schweregrad 1/1 ILO 1980 könnte demnach gemäß dieser Studie im Kohlenbergbau auch bei Einhaltung des AStGw der TRGS 900 vervierfacht sein. Dabei versteht sich, dass solche Pneumokoniosegrade mit Entzündungsreaktionen verbunden sind.

Die Begründungen des Allgemeinen Staubgrenzwerts der MAK-Kommission von 1983 und 1997 stützten sich - neben Daten zur Clearance-Beeinträchtigung bei Rat-

ten - ganz wesentlich auf epidemiologische Daten zur staubbedingten „Chronischen Bronchitis“ (CBR) (HENSCHLER, 1983; GREIM, 1997). Auch diese Erkrankung beruht auf Entzündungsreaktionen. Der Grenzwert wurde dabei keineswegs an einem Expositionsbereich ausgerichtet, in dem - im Sinne einer Wirkungsschwelle - nicht mit dem Auftreten der Erkrankung zu rechnen ist. Stattdessen wurde ein rechnerisch ermitteltes Erkrankungsrisiko von 5 % - im Sinne eines zumutbaren Risikos - zur Festlegung des Grenzwerts herangezogen. In der Begründung von 1983 heißt es: „Dabei ist folgende Situation zu beachten: Es besteht eine Grundprävalenz der CBR und das Phänomen eines Schwellenwertes ist nicht erkennbar. Ein MAK-Wert im eigentlichen Sinn lässt sich somit nicht festlegen.“ (HENSCHLER, 1983). Aus Tab. 14 bei HENSCHLER (1983) ist ein Anstieg des CBR-Risikos mit zirka 1 % Exzess-Risiko pro 1 mg/m^3 zusätzlich zu einem relativ hohen Hintergrundrisiko an CBR von 22 % (bei Nichtrauchern und Exrauchern) abzulesen.

Seinerzeit wurde aus den Daten ein Feinstaub-Grenzwert von 6 mg/m^3 abgeleitet. Die Situation war 1997 nicht grundsätzlich anders, es wurde der Grenzwert für alveolengängigen Staub aber weiter auf $1,5 \text{ mg/m}^3$ abgesenkt. In der Begründung heißt es: „Es liegen keine Ergebnisse über Erfahrungen am Menschen vor, von denen eine Staubkonzentration ohne Wirkung im Sinne eines NOAEL ableitbar wäre. Aus den epidemiologischen Studien liegen nur Daten über Konzentrationen vor, bei denen bereits Effekte beobachtet wurden. Für die vorliegende Begründung wurden Daten aus der DFG-Studie „Chronische Bronchitis“ (verändertes Auswertungskonzept) und Daten aus neueren epidemiologischen Studien aus der ehemaligen DDR verwendet. Dabei diente die Beeinträchtigung der Lungenfunktion als Zielkriterium. ... Aus den Daten der drei in der DFG-Studie erfassten Betriebe wurden auf der Grundlage des Vorliegens einer chronisch bronchialen Reaktion für Feinstaub ein möglicher Grenzwert von $1,7 \text{ mg/m}^3$ abgeleitet. Bei diesem Wert ist nur eine geringfügige Erhöhung der Grundprävalenz um 5 % zu erwarten.“ (GREIM, 1997).

Aus dem Zusammenhang ist anzunehmen, dass mit der Formulierung „Erhöhung der Grundprävalenz um 5 %“ nicht gemeint ist, dass sich die Grundprävalenz um den Faktor 1,05 erhöht, sondern dass hier zusätzlich zur Grundprävalenz eine absolute Prävalenz in Höhe von 5 % berechnet wurde. Die Bewertung dieses Exzess-Risikos als „geringfügig“ erfolgte 1997 ganz offensichtlich in der - heute zu revidierenden - Annahme, dass damit kein Krebsrisiko verbunden sei. Die Einschränkung der Bewertung eines Risikos dieser Art wird in der Begründung von 1983 deutlich zum Ausdruck gebracht: „Um jedoch einer unberechtigten Verallgemeinerung dieser Begründung, insbesondere im Hinblick auf carcinogene oder stärker toxische Stoffe zu begegnen, wird sie hier beschränkt auf ein Wirkungskriterium, das den Grad einer Gesundheitsbeeinträchtigung hat wie eine chronisch bronchiale Reaktion (CBR)“. In dem Moment, in dem Krebserkrankungen als mögliche Folge der Entzündungsreaktionen anzusehen sind - so wie es die „Entzündungshypothese“ (Abschnitt 5.2.1) vorsieht - ist ein Risiko in Höhe von 5 % nicht mehr als „geringfügig“ zu betrachten.

In jüngerer Zeit wurden auch Entzündungsreaktionen als Ursache schädlicher Wirkungen von Feinstäuben in der allgemeinen Umwelt auf die menschliche Gesundheit intensiver diskutiert, insbesondere als Ursache der in umfangreichen epidemiologischen Untersuchungen in den USA gefundenen Assoziationen zwischen Feinstaubbelastung und Atemwegserkrankungen, Mortalität an Herz-Kreislaufkrankungen sowie an Lungenkrebs (DOCKERY et al., 1993; POPE et al., 1995, 2002; KREWSKI

et al., 2005). POPE (2000) hat vor diesem Hintergrund explizit partikelbedingte Entzündungsreaktionen in der Lunge unter allgemeinen Umweltbedingungen angesprochen „*Based on preliminary epidemiologic evidence, it is speculated that a systemic response to fine particle-induced pulmonary inflammation, including cytokine release and altered cardiac autonomic function, may be part of the pathophysiological mechanisms or pathways linking particulate pollution with cardiopulmonary disease.*“ Zu dieser Frage wurden deshalb auch medizinische Untersuchungen an Probanden durchgeführt. In einer Studie von SALVI et al. (1999) wurden 15 gesunde Nichtraucher Dieselemissionen in einer Konzentration der Partikelfraktion PM₁₀ von 300 µg/m³ eine Stunde lang ausgesetzt. Sechs Stunden nach Expositionsende wurden den Probanden endobronchiale Biopsien entnommen und zur Entnahme von bronchialen Zellen und Proteinen eine Lavage durchgeführt. Die Autoren kamen zu dem Ergebnis, dass die einstündige Exposition bei den Probanden eine ausgeprägte Entzündung der Lunge hervorrief, die von neutrophilen Leukozyten, Mastzellen und Lymphozyten geprägt war. Die Autoren schlossen aus, dass gasförmiges NO₂ als Emissionsbestandteil die Effekte auslöste, da sie in einer gesonderten Studie an Probanden nach vierstündiger Exposition gegenüber 2 ppm NO₂ keine entzündliche Reaktion feststellten.

In einer ähnlichen Untersuchung von SALVI et al. (2000) wurden die Ergebnisse bestätigt und in ihrer Aussage hinsichtlich beteiligter Proteine verfeinert. Weiterhin wurde die Auslösung von Entzündungsreaktionen durch Kurzzeitexposition gegenüber Dieselruß auch bei noch niedrigerer Konzentration bestätigt. STENFORS et al. (2004) verwendeten in einem Versuchsdesign ähnlich SALVI et al. (1999, 2000) eine zweistündige Exposition gegenüber 108 µg/m³ PM₁₀ aus Dieselmotoremissionen. Auch hier wurde eine Entzündungsreaktion beobachtet, obwohl die Konzentration gasförmiger Emissionsbestandteile gering war. Die Konzentration an NO₂ lag gemäß den angegebenen Messergebnissen bei 0,2 ppm, das ist ein Faktor von 25 niedriger als der MAK-Wert von 5 ppm gemäß DFG (2002; aktuell bestand bei Redaktionsschluss kein MAK-Wert für NO₂ in Deutschland). Die Konzentration an Formaldehyd lag bei 43,5 µg/m³, das ist ein Faktor von 8,5 niedriger als der bei Redaktionsschluss aktuelle MAK-Wert von 370 µg/m³ gemäß DFG (2006) und ein Faktor von 27 niedriger als der entsprechende zulässige Momentanwert von 1200 µg/m³. Außerdem wurde von NIGHTINGALE et al. (2000) eine Entzündungsreaktion der Atemwege bei gesunden Probanden nach zweistündiger Exposition gegenüber 200 µg/m³ PM₁₀ aus Dieselmotoremissionen beschrieben.

Insgesamt zeigt sich, dass aus verschiedenen Bereichen deutliche Hinweise darauf vorliegen, dass Entzündungsreaktionen in der menschlichen Lunge durch GBS unter Arbeitsplatz- oder Umweltbedingungen ausgelöst wurden. Dabei erscheint es problematisch, so etwas wie eine Wirkungsschwelle festzustellen. Auf die bei HENSCHLER (1983) beschriebene hohe Grundprävalenz von 22 % an chronischer Bronchitis sei nochmals hingewiesen; die Betroffenen waren offensichtlich nicht „krank“ im Sinne einer Arbeitsunfähigkeit. Es ist vielmehr davon auszugehen, dass „Entzündung“ auch als Kontinuum aufgefasst werden kann. Zwar mögen sich im klinischen Sinn einer Unterscheidung zwischen „gesund“ und „krank“ Definitionen für die An- oder Abwesenheit von „Entzündung“ finden lassen, es ist aber fraglich, ob sich anhand dieser Definitionen auch realistische Zustände definieren lassen, in denen z. B. durch ROS von Entzündungszellen tatsächlich keinerlei Risiko ausgeht.

So ist es zum Beispiel „Lehrbuchwissen“, dass ROS von Phagozyten produziert werden und dass es dafür einen biologischen Grund gibt. In dem verbreiteten Lehrbuch der Pharmakologie und Toxikologie von FORTH et al. (1998) heißt es: *„Die Radikalbildung von Phagocyten steht eindeutig im Dienste der **Infektabwehr**“* (S. 349). Warum sollten ROS und Mediatoren nicht auch während der Endozytose selbst kleiner Mengen von Mikroben und GBS gebildet werden? Warum sollte nicht die potenzielle Schädigung des eigenen Gewebes der Preis sein, den der Organismus für den Schutz vor pathogenen Keimen zu bezahlen hat? Bei FORTH et al. (1998) heißt es weiter: *„Naturgemäß schädigen die O_2^- -abgeleiteten Metaboliten nicht nur phagozytierte Keime, sondern auch das Wirtsgewebe, zumal phagozytierende Zellen O_2^- in den SOD-armen Extrazellularraum abgeben. ... Im Falle von Infektionskrankheiten scheint die simultane Wirtsgewebsschädigung ein kaum verzichtbarer Preis für eine effiziente Infektabwehr zu sein. Unglücklicherweise antworten Phagocyten jedoch weitestgehend ähnlich auf nichtinfektiöse **Entzündungsreize**, im Prinzip auf alles, was als „fremd“ erkannt wird, vorzugsweise, wenn es korpuskulärer Natur ist.“*

Die Bildung von ROS mag also ein Schutzmechanismus des Organismus gegen „Eindringlinge“ sein, und sicherlich gibt es auch Schutzmechanismen des Organismus gegen ROS. Aber arbeiten diese Mechanismen mit 100%iger Effizienz? Wieder FORTH et al. (1998): *„Das Hydroxyradikal reagiert diffusionslimitiert nichtenzymatisch mit einer Vielzahl biologischer Strukturen wie SH-Gruppen, Imidazolabkömmlingen und Aromaten. Es besteht daher theoretisch kaum eine Chance, dass ein wie auch immer gearteter Entgiftungsmechanismus mit diesen extrem schnellen Reaktionen in vivo konkurrieren könnte. Man muss vielmehr davon ausgehen, dass OH^{\cdot} die biologischen Strukturen schädigt, wenn immer die zuvor geschilderten Oxidationsschutzmechanismen dessen Bildung nicht verhindern können“*. Realistischerweise ist stets mit einer Grundbelastung an ROS-Bildung in der Lunge zu rechnen. Wie will man die Annahme rechtfertigen, Schutz- und Reparaturmechanismen böten einen 100%igen Schutz gegenüber allen umweltbedingten Fremdstoffen und Infektionen, zusätzlich einen 100%igen Schutz gegen berufsbedingte Staubexpositionen bis zu einem bestimmten - und bestimmbar - Schwellenwert und erst oberhalb dieses Schwellenwertes sinke die Effizienz der Schutzmechanismen unter 100 %?

In Diskussionen wurde gelegentlich geäußert, es müsse eine Schwelle für ROS-bedingte Gewebsschädigung geben, es könne nicht jede noch so geringe Entzündungsreaktion zu einem Tumor führen. Dies sei bereits evolutionsbedingt, andernfalls wäre die Menschheit längst ausgestorben. Eine solche Argumentation ist nicht stichhaltig und enthält einen schweren logischen Fehler. Selbstverständlich führt nicht jede - noch so geringe - Entzündungsreaktion mit 100%iger Sicherheit zu einem Tumor. Es lässt sich aber überhaupt nicht ausschließen, dass auch relativ geringe ROS-Einwirkungen auf Lungenepithelzellen mit einem gewissen - gegebenenfalls sehr niedrigen - Risiko einer Tumorbildung verbunden sind. Angenommen, eine lebenslange Exposition gegenüber GBS in Konzentrationen, die in hoch belasteten Regionen in der allgemeinen Umwelt vorkommen, sei für einen Menschen mit durchschnittlicher Empfindlichkeit mit einem GBS-bedingten Tumorrisiko in Höhe von 1 zu 1 000 assoziiert. Ein solches Risiko würde weder zum Aussterben der Population führen noch wäre es mit üblichen epidemiologischen Methoden erkennbar.

Vor dem Hintergrund der oben beschriebenen Entzündungsreaktionen unter verschiedenen Expositionsumständen und den Betrachtungen zur ROS-vermittelten

Infektabwehr erscheint die Hoffnung völlig unrealistisch, auf diese Weise einen Arbeitsplatzgrenzwert abzuleiten, der mit einer biologischen Schwelle für ein erhöhtes Krebsrisiko bei der weitaus überwiegenden Mehrheit exponierter Menschen identisch ist. Die These, rein naturwissenschaftlich hier - bei einer Arbeitsplatzexposition deutlich größer Null - zu einer klaren Grenze zwischen „Hintergrundrisiko“ und einem expositionsbedingt erhöhten Krebsrisiko zu kommen, ist nicht haltbar.

5.4 Epidemiologische Daten - Relevanz der Daten von Ratten für den Menschen

5.4.1 Epidemiologische Daten zu Dieselmotoremissionen und Umwelt-Feinstaub

5.4.1.1 Vorbemerkung zu Dieselmotor-Emissionen

Die MAK-Kommission hat Dieselmotor-Emissionen (DME) bereits vor Jahren in den Abschnitt III „Krebserzeugende Arbeitsstoffe“ der MAK- und BAT-Werte-Liste aufgenommen (DFG, 2006). Dabei sind DME jedoch nicht in den Listen der Kategorien 1 bis 5 aufgeführt, sondern sie werden in dem Kapitel über besondere Stoffgruppen im Abschnitt über Pyrolyseprodukte folgendermaßen erwähnt: „*So enthalten Dieselmotor-Emissionen zwar auch krebserzeugende PAH, in ihrem Fall sind aber wahrscheinlich die Rußpartikeln für den kanzerogenen Effekt ausschlaggebend. Er wurde in Tierversuchen nachgewiesen und Dieselmotor-Emissionen wurden deswegen nach **Kategorie 2** eingestuft*“.

IARC (1989) hat *Diesel engine exhaust* der Gruppe 2A (*probably carcinogenic to humans*) zugeordnet. Eine EU-Einstufung von DME besteht nicht. Sie waren jedoch in Übereinstimmung mit der MAK-Bewertung namentlich in der Gefahrstoffverordnung im Jahre 2003 erwähnt, wo die Einstufung als krebserzeugender Stoff in § 35 folgendermaßen deutlich gemacht war: „*Krebserzeugende Gefahrstoffe im Sinne des Sechsten Abschnitts sind auch ... Dieselmotoremissionen*“ (GEFSTOFFV, 2003). Dementsprechend waren sie auch in der bis zum Jahre 2004 gültigen TRGS 905 in die Kanzerogenitäts-Kategorie 2 eingestuft. Entsprechend der Einstufung gab es für DME keinen MAK-, sondern einen TRK-Wert, der gemäß der bis zum Jahre 2004 gültigen TRGS 900 für den Nichtkohlenbergbau und Bauarbeiten unter Tage bei 0,3 mg/m³ und im übrigen bei 0,1 mg/m³ lag (jeweils alveolengängiger Staub, sogenannte A-Fraktion). Im Jahre 2004 wurde die Gefahrstoffverordnung novelliert und die Situation war dann eine andere. Die GEFSTOFFV (2004) sieht keine TRK-Werte mehr vor, bei Redaktionsschluss dieser Arbeit gab es keinen Arbeitsplatzgrenzwert für DME. DME waren dann nicht mehr im Verzeichnis krebserzeugender, erbgutverändernder oder fortpflanzungsgefährdender Stoffe der TRGS 905 aufgeführt, sondern sie waren alsdann in ein unter der Bezeichnung TRGS 906 neu geschaffenes Verzeichnis krebserzeugender Tätigkeiten oder Verfahren nach § 3 Abs. 2 Nr. 3 GefStoffV aufgenommen. Der entsprechende Eintrag in diesem Verzeichnis lautete: „*Tätigkeiten oder Verfahren, bei denen Beschäftigte in Bereichen arbeiten, in denen Dieselmotoremissionen freigesetzt werden*“.

Diese Einstufungen deuten zusammen mit einer 2005/2006 öffentlich geführten Diskussion gewisse Schwierigkeiten bei der Bewertung von DME an. Auf der einen Sei-

te steht die Einstufung „nur“ für berufliche Tätigkeiten, die die Einstufung des „Stoffes“ vermeidet, auf der anderen Seite wurde im Zuge der am 1. Januar 2005 gültig gewordenen Feinstaub-Grenzwerte für die Umwelt öffentlich Dieselruß gerade als bedeutendes Umweltkanzerogen diskutiert. So wären nach einer Berechnung von WICHMANN (2004) durch eine flächendeckende Einführung von Dieselrußfiltern bei Kraftfahrzeugen jährlich 1 680 Lungenkrebstodesfälle in Deutschland zu vermeiden. Im Jahr 2005 wurden erheblich verstärkte Anstrengungen der Automobilindustrie deutlich, solche Rußfilter bei Neuwagen einzubauen.

Ein widersprüchlicher Eindruck ergibt sich auch bei Betrachtung der Bewertung der US-amerikanischen Umweltbehörde. Nach US EPA (2003b) sind DME „*wahrscheinlich krebserzeugend für den Menschen*“ infolge Inhalation bei Exposition in der allgemeinen Umwelt“ (Zitat: „diesel exhaust (DE) is *likely to be carcinogenic to humans* by inhalation from environmental exposures“). Für Exposition gegenüber DME liegt eine Fülle von Daten aus Kanzerogenitätsversuchen an Ratten sowie aus epidemiologischen Studien vor, dennoch gibt US EPA (2003b) kein Unit Risk für DME an. Es wird dort ausgeführt, dass die Daten aus Inhalationsversuchen an Ratten als ungeeignet für eine quantitative Risikoabschätzung beurteilt wurden. Die Ratte sei das einzige Tiermodell mit direkter inhalativer Exposition und expositionsbedingter Tumorbildung in der Lunge, und Information zum Wirkungsmechanismus (*mode-of-action*) spreche dagegen, dass die hohen Expositionen bei Ratten sich für eine Aussage zur Dosis-Wirkungsbeziehung bei Umweltexpositionen des Menschen eignen. Ferner seien keine geeigneten Daten vorhanden, die eine hinreichend verlässliche Aussage zu den Expositions-Risikobeziehungen in den epidemiologischen Studien zuließen.

Eine Ursache des zwiespältigen Eindrucks sind daher sicherlich Unsicherheiten in der Interpretation der epidemiologischen Studien. Eine weitere Ursache mag in einer gewissen Kontroverse über das wesentliche kanzerogene Agens liegen, das für die beobachteten Tumorbildungen verantwortlich zu machen ist. Dies wird bei DFG (2006) kurz angesprochen mit dem Hinweis auf PAH und auf Rußpartikeln, wobei das wesentliche Agens in letzteren vermutet wird. Bei US EPA (2003b) wird relativ stark auf mutagene bzw. kanzerogene Effekte einzelner organischer Verbindungen abgehoben, die an Dieselpartikeln anhaften und die bei Mensch und Tier bioverfügbar sein dürften. Es wurde aber mehrfach dargelegt, dass sich durch die löslichen Anteile und durch Metalle die in Versuchen an Ratten beobachteten Tumorzahlen und die von WICHMANN (2004) dem Dieselruß zugeordneten Krebsrisiken nicht erklären lassen (Abschnitt 5.2.2, 5.4.1.4; POTT et al., 1997; UBA, 1999; ROLLER, 2005, 2006; ROLLER et al., 2006).

5.4.1.2 Epidemiologie - Risikoerhöhungen für Lungenkrebs

Übersichten über die zahlreichen epidemiologischen Studien des 20. Jahrhunderts, die sich mit der Frage „Lungenkrebs durch DME“ befassten, finden sich bei WICHMANN (1987), JÖCKEL et al. (1995), UBA (1999) sowie HOFFMANN und JÖCKEL (2006). Die Studien beziehen sich z. B. auf berufliche Expositionen von Lkw- bzw. Busfahrern, Eisenbahnarbeitern und Kali-Bergleuten. Bei der Betrachtung der Studienergebnisse fällt auf, dass die Maßzahlen für die Erhöhung des Lungenkrebsrisikos (RR, SMR, OR) meist zwischen 1,0 und 2,0 liegen. Eine tatsächliche Risikoverdopplung ist zwar bei einem absoluten Basisrisiko vom mehreren Prozent eine

beachtliche („ethisch hoch-signifikante“) Risikoerhöhung, aufgrund der unvermeidbaren Unsicherheiten epidemiologischer Untersuchungen (Bias und Confounding) reicht aber die Feststellung eines relativen Risikos von 2,0 in einer einzelnen Studie in der Regel nicht aus, um einen Kausalzusammenhang zu sichern. Manche Epidemiologen sehen offensichtlich einen solchen Kausalzusammenhang im Falle von „Lungenkrebs durch DME“ als gegeben an, denn einige epidemiologische Reviews resümieren in diese Richtung (BHATIA et al., 1998; LIPSETT und CAMPLEMAN, 1999); HOFFMANN und JÖCKEL (2006) sprechen sich ganz klar für einen Kausalzusammenhang aus. Andere Autoren halten jedoch Störeinflüsse aufgrund der zeitlichen Entwicklung der Lungenkrebsmortalität im 20. Jahrhundert und aufgrund einer schwierig zu kontrollierenden Bedeutung des Rauchverhaltens für wesentlich (COX, 1997; MORGAN et al., 1997; CRUMP, 2001). US EPA (2003b) bezeichnet die Evidenz aufgrund epidemiologischer Daten als „stark, aber geringer als hinreichend“ (*strong but less than sufficient*).

5.4.1.3 Expositionen

Einen besonderen Diskussionspunkt stellt die Höhe der Expositionen an den Arbeitsplätzen dar. MCCLELLAN (1989) hatte eine quantitative Risikoabschätzung unter zwei Szenarien durchgeführt: je eine regelmäßige Exposition am Arbeitsplatz gegenüber $125 \mu\text{g}/\text{m}^3$ Dieselpartikeln und gegenüber $500 \mu\text{g}/\text{m}^3$. Diese Expositionskonzentrationen wurden aufgrund von Messergebnissen von WOSKIE et al. (1988a, b) als realistisch erachtet. Der Autor hat sich offenbar später von dieser Einschätzung distanziert, trotzdem kann der Frage nach realistischerweise möglichen Expositionshöhen nachgegangen werden. Relativ detaillierte Expositionsermittlungen liegen aus dem Bereich des ostdeutschen Kalibergbaus vor, wo dieselbetriebene Maschinen eingesetzt wurden. Als Maß der Dieselpartikelexposition wurde dabei das sogenannte TC (*total carbon*) verwendet, also die Konzentration des partikelförmigen Kohlenstoffs in der Luft einschließlich organischer Verbindungen. Der höchste Median der Schichtmittelwerte ergab sich dabei für den Bereich „Gewinnung“, er lag bei $390 \mu\text{g}/\text{m}^3$, im Bereich „Wartung“ lag der Median der Schichtmittelwerte bei $100 \mu\text{g}/\text{m}^3$, die arithmetischen Mittelwerte lagen nur wenig höher (SÄVERIN et al., 1998, 1999; UBA, 1999).

Als Vergleichswerte seien relativ hohe Werte aus der allgemeinen Umwelt betrachtet. Gemäß BImSchV 22 2002 (als Umsetzung der EU-Rahmenrichtlinie zur Luftqualität) beträgt der ab 1. Januar 2005 einzuhaltende über 24 Stunden gemittelte Immissionsgrenzwert für Partikel PM_{10} $50 \mu\text{g}/\text{m}^3$, bei 35 zugelassenen Überschreitungen im Kalenderjahr. Die Partikelfraktion PM_{10} enthält gewöhnlich nur zu einem geringeren Massenanteil Dieselpartikeln. Nach veröffentlichten Messergebnissen des Landesamtes für Umweltschutz NRW ist ein Jahresmittelwert von größer gleich $40 \mu\text{g}/\text{m}^3$ PM_{10} als hoch, aber an einem industrienahen Standort im Jahr 2003 realistisch, anzusehen (LUA, 2005). Von WICHMANN (2004) wird die Lungenkrebs erzeugende Wirkung von Dieselpartikeln mit der Lungenkrebs erzeugenden Wirkung der Partikelfraktion $\text{PM}_{2,5}$ in Großstädten gleichgesetzt. Nach LUA (2005) ist ein Jahresmittelwert für $\text{PM}_{2,5}$ von $20 \mu\text{g}/\text{m}^3$ als hoch anzusehen. Der TRK-Wert war seinerzeit anhand der Konzentration des elementaren Kohlenstoffs (EC, *elemental carbon*) definiert. Dabei wurde davon ausgegangen, dass damit spezifisch der Rußkern von Dieselpartikeln erfasst wird. Der Jahresmittelwert 2003 für eine extrem stark befahrene Straße

innerhalb einer nordrhein-westfälischen Großstadt lag für die EC-Fraktion bei rund $8 \mu\text{g}/\text{m}^3$ (LUA, 2005).

In der Bewertungsbegründung von US EPA (2003b) wird insbesondere auf biolösliche organische Verbindungen in Dieselpartikeln abgehoben. Dies ist bei kritischer Würdigung der PAH-Gehalte von DME nicht verständlich. So stehen z. B. den oben genannten Partikelkonzentrationen in industrialisierten Regionen Nordrhein-Westfalens Konzentrationen an Benzo[a]pyren (BaP) von weniger als $0,003 \mu\text{g}/\text{m}^3$ ($3 \text{ ng}/\text{m}^3$) gegenüber. Als BaP-Quellen sind dabei nicht in erster Linie Dieselfahrzeuge, sondern z. B. Industriebetriebe in Betracht zu ziehen. BaP ist dabei nicht als Einzelsubstanz zu betrachten, sondern BaP dient sowohl in der Umwelt als auch am Arbeitsplatz als Leit- oder Referenzsubstanz für krebserzeugende Pyrolyseprodukte aus organischem Material bzw. PAH. Für den Anteil von BaP in Kraftfahrzeug-Emissionen gibt es mehrere Quellen. Für den in dem Inhalationsversuch von HEINRICH et al. (1986a) benutzten Dieselmotor wurde z. B. ein BaP-Anteil von 1 zu 100.000 an der emittierten Gesamtpartikelmasse ermittelt (POTT und HEINRICH, 1987). Bei UBA (1999) sind im Auftrag des Umweltbundesamtes ermittelte sogenannte Emissionsfaktoren für Kraftfahrzeuge zitiert. Diese Faktoren sind in der Einheit mg/km angegeben, können also nicht unmittelbar als Expositionsmaß verwendet werden. Sie lassen aber Aussagen über die Relationen der einzelnen Emissionsbestandteile zueinander zu. Tab. 5.2 zeigt eine Übersicht über diese Emissionsfaktoren für Gesamtpartikeln, Partikelkern und BaP, sowie die Relation von BaP zu Gesamtpartikeln. Man erkennt, dass - wie bei dem für den o.g. Inhalationsversuch verwendeten Dieselmotor - für die im 20. Jahrhundert gebräuchlichen „nicht-emissions-optimierten“ Dieselfahrzeuge ein Massenanteil von 1 zu 100.000 für BaP angenommen werden kann, keinesfalls jedoch wesentlich mehr als 2 zu 100.000. Bezieht man diesen maximalen Anteil auf den maximalen Schichtmittelwert an TC unter Tage gemäß UBA (1999) von rund $400 \mu\text{g}/\text{m}^3$, dann ergibt sich eine maximale BaP-Konzentration in diesen DME von:

$$400 \mu\text{g}/\text{m}^3 \times 2 \times 10^{-5} = 0,008 \mu\text{g}/\text{m}^3 = 8 \text{ ng}/\text{m}^3.$$

5.4.1.4 Expositions-Risikobeziehungen

Aufgrund der Mess-Ergebnisse im Kalibergbau (SÄVERIN et al., 1998, 1999), der Ergebnisse von WOSKIE et al. (1988a,b) sowie aufgrund der Luftbelastungen in verkehrsreichen Großstadt-Situationen ergibt sich folgende Schlussfolgerung: Es ist unwahrscheinlich, dass beruflich dieselexponierte Personen, z. B. als Beschäftigte städtischer Verkehrsbetriebe oder als Eisenbahnarbeiter, regelmäßig jahrzehntelang Schichtmittelwerten von mehr als $400 \mu\text{g}/\text{m}^3$ an Rußkernen von Dieselpartikeln (EC) ausgesetzt waren. Es ist ferner unwahrscheinlich, dass dabei die durch Dieselmotoren bedingten BaP-Konzentrationen als Langzeit-Mittelwert größer als $0,008 \mu\text{g}/\text{m}^3$ ($8 \text{ ng}/\text{m}^3$) waren. Auf dieser Grundlage lassen sich Expositions-Risikobeziehungen betrachten.

Oben wurde angegeben, dass die relativen Risiken in den epidemiologischen Studien zwischen 1 und 2 lagen. ROLLER und POTT (2001) haben als mittleren Wert ein relatives Risiko von 1,4 angenommen und zu der Spanne möglicher hoher beruflicher Expositionen zwischen 100 und $400 \mu\text{g}/\text{m}^3$ in Beziehung gesetzt. Eine wesentliche Grundlage für Bewertungen des kanzerogenen Potenzials von DME war eine Studie bei US-amerikanischen Eisenbahnarbeitern von GARSHICK et al. (1988).

Jüngst erschien ein erweitertes Update dieser Studie; dort wurde für die Gesamtkohorte ein relatives Risiko für Lungenkrebs in Höhe von 1,4 festgestellt (GARSHICK et al., 2004). Es ist daher angemessen, als „typische“ Risikoerhöhung für epidemiologische Studien nach beruflicher DME-Exposition ein relatives Risiko von 1,4 bei Männern anzunehmen. Die Abb. 5.10 zeigt Expositions-Risikobeziehungen unter der Annahme, dass ein relatives Risiko mit chronischen Arbeitsplatzexpositionen in Höhe von 100 bzw. 400 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ verbunden ist und dass die Expositions-Risikobeziehungen in diesem Bereich linear verlaufen.

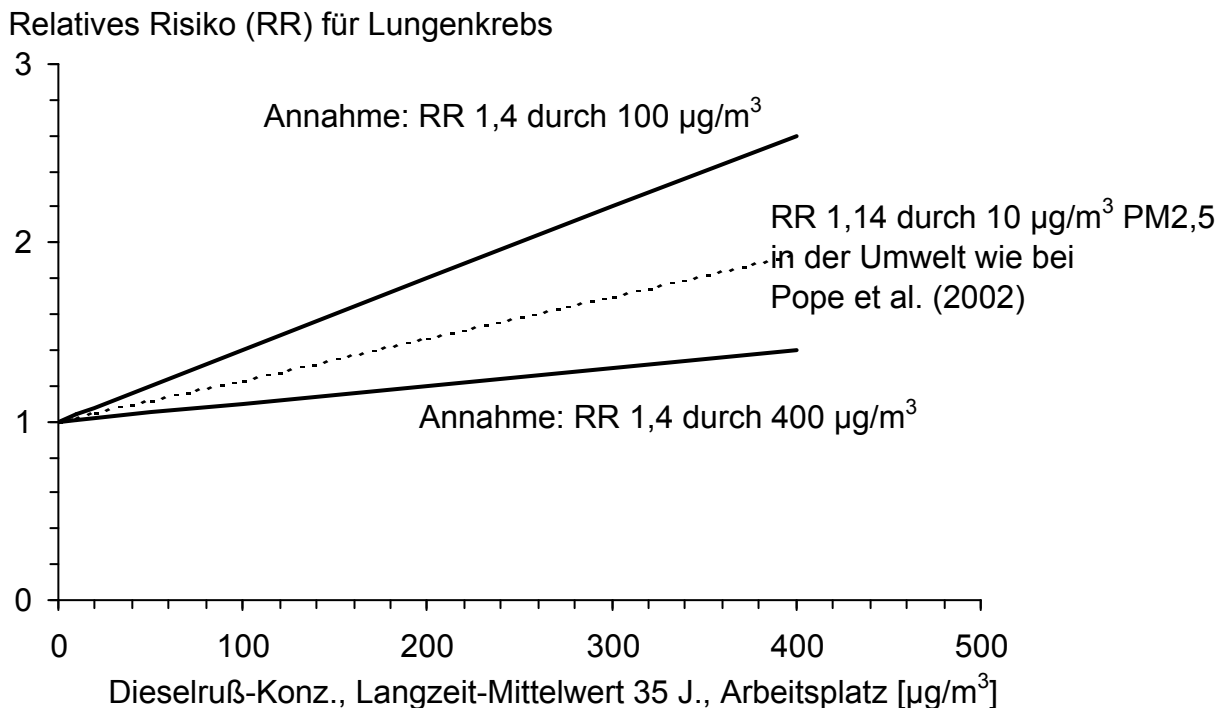


Abb. 5.10 Mögliche Expositions-Risikobeziehungen für Lungenkrebs durch Dieselruß aufgrund epidemiologischer Daten. Drei Szenarien: RR 1,4 durch 100 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ bzw. 400 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ Dieselpartikeln am Arbeitsplatz für 35 Jahre, RR 1,14 durch 10 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ Dieselpartikeln (bzw. PM_{2,5}) in der Umwelt (Umweltexposition in Arbeitsplatzexposition umgerechnet; Linearität angenommen, gestützt durch die Ergebnisse bei POPE et al., 2002)

In Abb. 5.10 ist gestrichelt eine Gerade eingetragen, die aufgrund der Ergebnisse einer außerordentlich umfangreichen prospektiven Mortalitätsstudie in der Allgemeinbevölkerung in den USA berechnet ist (POPE et al., 2002). In dieser Studie mit einer Kohortengröße von zirka 500 000 Männern und Frauen wurde eine Assoziation des Lungenkrebsrisikos mit der Luftbelastung in Form der Partikelfraktion PM_{2,5} gefunden. Eine Erhöhung der PM_{2,5}-Konzentration in der allgemeinen Umwelt entsprach dabei einem relativen Risiko zwischen 1,08 und 1,14. Unter bestimmten Voraussetzungen ist die Partikelfraktion PM_{2,5} mit der Dieselpartikelkonzentration vergleichbar, von WICHMANN (2004) wurde die Wirkung von PM_{2,5} mit der Wirkung von Dieselpartikeln gleichgesetzt. Die gestrichelte Gerade in Abb. 5.10 gibt daher eine lineare Expositions-Risikobeziehung für Arbeitsplätze unter der Voraussetzung an, dass 10 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ Dieselpartikeln in der Umwelt das Lungenkrebsrisiko um den Faktor 1,14 er-

höhen und dass der Faktor von 6 für die Umrechnung Umwelt - Arbeitsplatz gemäß CSICSAKY et al. (1993) gilt. Man erkennt, dass die aus „Umweltdaten“ abgeleitete Expositions-Risikobeziehung gut mit den für Arbeitsplätze vermuteten Expositions-Risikobeziehungen übereinstimmt: Sie liegt inmitten der Spannweite.

Zur Berechnung des Exzess-Lebenszeitrisikos gehen wir von einem Basisrisiko für Lungenkrebs von 5 % aus. Aus der Mitte der epidemiologisch festgestellten Risikoerhöhungen an Arbeitsplätzen, aus plausiblen Annahmen zu relativ hohen Expositionen und in Übereinstimmung mit der großen Mortalitätsstudie in den USA ergibt sich eine „Verdoppelungsdosis“ von zirka $430 \mu\text{g}/\text{m}^3$ Dieselpartikeln, d. h. nach einer 35-jährigen Exposition an einem Arbeitsplatz gegenüber einem Langzeit-Mittelwert von $430 \mu\text{g}/\text{m}^3$ Dieselpartikeln ist mit einer Verdoppelung des Lungenkrebsrisikos zu rechnen. Mit dem Basisrisiko von 5 % ergibt sich daraus ein Arbeitsplatzrisiko in Höhe von 1,2 % pro $100 \mu\text{g}/\text{m}^3$ Dieselpartikeln. Der Anteil des Rußkerns bzw. der Anteil organischer und sonstiger Substanzen in Dieselpartikeln variiert etwas; wenn man gemäß der Argumentation bei POTT und ROLLER (1997) und UBA (1999) einen EC-Anteil von 70 % einsetzt, dann erhält man ein Arbeitsplatzrisiko in Höhe von 1,7 % pro $100 \mu\text{g}/\text{m}^3$ EC (elemental carbon, „Rußkern“).

Unter der Hypothese, dass die Rußkerne von Dieselpartikeln allenfalls als Träger von organischen Verbindungen eine Rolle spielen, dass aber das entscheidende kanzerogene Agens in den organischen Verbindungen, z. B. PAH, besteht, ist zu prüfen, welche kanzerogene Potenzen vorhanden sein müssten, um die beobachteten Lungenkrebsrisiken plausibel zu erklären. Dazu können bestehende quantitative Risikoabschätzungen für organische Pyrolyseprodukte wie PAH herangezogen werden. Grundlage für die Risikoabschätzungen von LAI (1992), UBA (1999) sowie US EPA (2004) für PAH waren epidemiologische Studien bei Kokereiarbeitern amerikanischer Stahlwerke. Von COSTANTINO et al. (1995) wurde ein Update dieser Studien veröffentlicht. Es ergibt sich dort - in Übereinstimmung mit den Risikoabschätzungen von LAI (1992) und UBA (1999) - eine Verdoppelungsdosis von $6 \mu\text{g}/\text{m}^3$ Benzo[a]pyren (BaP). Das heißt nach einer 35-jährigen Exposition an einem Arbeitsplatz gegenüber Pyrolyseabgas mit einem Langzeit-Mittelwert von $6 \mu\text{g}/\text{m}^3$ BaP ist mit einer Verdoppelung des Lungenkrebsrisikos zu rechnen. Wichtig dabei ist, dass es sich hier nicht um das allein durch BaP bedingte Lungenkrebsrisiko handelt, sondern BaP dient lediglich unter messtechnischen Gesichtspunkten als Leit- oder Referenzsubstanz für die Gesamtheit der in Kokereiabgas enthaltenen Lungenkrebs erzeugenden Stoffe. Dies dürften in erster Linie krebserzeugende PAH sein, die Wirkung gegebenenfalls vorhandener weiterer Lungenkrebs erzeugender Stoffe wie z. B. Nitro-PAH ist dabei miterfasst.

In Abb. 5.11 ist die Expositions-Risikobeziehung gemäß der Studie von COSTANTINO et al. (1995) als untere dicke Linie eingezeichnet. POPE et al. (2002) fanden für eine Konzentrationserhöhung von $10 \mu\text{g}/\text{m}^3$ $\text{PM}_{2,5}$ ein relatives Risiko für Lungenkrebs von 1,14. Nach den Daten aus deutschen Großstädten ist bei einer solchen Feinstaubbelastung eine BaP-Konzentration im Bereich von $1 \text{ ng}/\text{m}^3$ anzunehmen (LUA, 2005). Die gestrichelte Gerade in Abb. 5.11 zeigt die entsprechende Expositions-Risikobeziehung, die sich ergibt, wenn man die Zuordnung RR 1,14 durch $1 \text{ ng}/\text{m}^3$ BaP in der Umwelt mit dem Faktor 6 auf die Arbeitsplatzsituation überträgt. Die dritte Gerade in Abb. 5.11 schließlich kommt dadurch zustande, dass der oben berechnete Anteil von $8 \text{ ng}/\text{m}^3$ BaP in $400 \mu\text{g}/\text{m}^3$ Dieselpartikeln in Beziehung zum rela-

tiven Risiko von 1,4 (wie z. B. bei GARSHICK et al., 2004) gesetzt wurde. Es wird sehr deutlich, dass PAH in DME ganz erheblich höhere kanzerogene Wirkungsstärken als in Kokereiabgas haben müssten, wenn sie die entscheidenden Kanzerogene in diesen Emissionen wären.

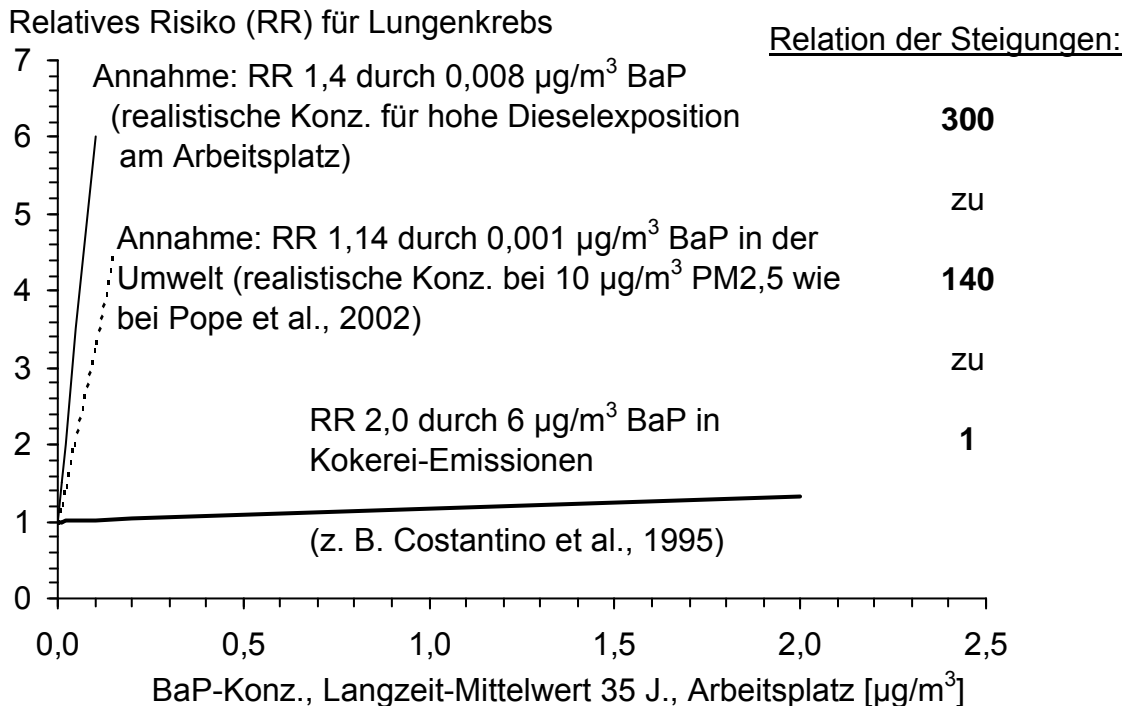


Abb. 5.11 Drei Szenarien für Expositions-Risikobeziehungen für Lungenkrebs durch partikelgetragene Pyrolyseprodukte: Die flache Kurve entspricht den epidemiologischen Daten aus Kokereien bei COSTANTINO et al. (1995), die steilen Kurven ergeben sich hypothetisch, wenn die entsprechenden epidemiologisch ermittelten Risikoerhöhungen plausiblen PAH-Konzentrationen in Dieselaabgas zugerechnet werden.

Die Umwelt-PAH müssten gemäß Abb. 5.11 eine rund 100-fach höhere Potenz als die Kokerei-PAH haben, die PAH in DME an Arbeitsplätzen müssten eine um den Faktor 300 höhere kanzerogene Potenz haben. Dies ist nicht plausibel. Sicherlich gibt es Unterschiede in PAH-Profilen, es ist aber völlig unklar, welcher unbekannte PAH in DME nach Massenanteil oder kanzerogener Potenz die Kanzerogenität von BaP um Größenordnungen überragen sollte. Die Bildung von Hypothesen, dass PAH und andere organische Kanzerogene durch besonders effektive Darbietung an die Zielzellen auf einer großen Dieselpartikel-Oberfläche oder durch Wechselwirkungen mit Schwermetallen um Größenordnungen stärker kanzerogen werden, bewegt sich weit in den spekulativen Bereich. Durch die Daten von Kanzerogenitätsversuchen mitinhalativer Exposition von Ratten lassen sich solche Annahmen jedenfalls nicht belegen: Wie weiter unten beschrieben wird, ist die kanzerogene Potenz von DME einerseits und von ultrafeinem Industrieruß und Titandioxid, die andererseits praktisch PAH-frei waren, einander sehr ähnlich. Daher ist die Annahme begründet, dass die epidemiologisch gefundenen statistischen Assoziationen zwischen DME-

Expositionen und einem erhöhten Lungenkrebsrisiko zumindest zu einem wesentlichen Anteil kausal auf der Exposition gegenüber dem EC-Anteil der Partikeln beruht.

5.4.1.5 Quantitative Risikoabschätzungen

Für Dieselmotor-Emissionen liegen auch mehrere neuere quantitative Risikoabschätzungen anhand epidemiologischer Daten vor. In einem im Jahre 1997 ins Internet eingestellten Draft-Report hat die kalifornische Umweltbehörde Cal/EPA mehrere quantitative Risikoabschätzungen beschrieben. Die Gesamtspanne an Unit Risk-Werten, die dort aus Tierversuchen abgeleitet wurden, reicht von $1,6 \times 10^{-5}$ bis 28×10^{-5} pro $\mu\text{g}/\text{m}^3$ Dieselpartikeln (siehe UBA, 1999). Die Spanne an Unit Risk-Werten, die dort aus epidemiologischen Daten abgeleitet wurden, reicht dagegen von 23×10^{-5} bis 230×10^{-5} pro $\mu\text{g}/\text{m}^3$. Es findet sich also ein Faktor von rund 10, um den sich die Bereiche unterscheiden - im Sinne eines höheren Risikos beim Menschen. Bei Cal/EPA (1998) ist als Punktschätzung ein Unit Risk von 3×10^{-4} pro $\mu\text{g}/\text{m}^3$ Dieselpartikeln ausgewiesen, mit einem Bereich von $1,3 \times 10^{-4}$ bis $2,4 \times 10^{-3}$ pro $\mu\text{g}/\text{m}^3$ Dieselpartikeln, auf der Grundlage epidemiologischer Daten. Umgerechnet mit dem Faktor 6 nach CSICSAKY et al. (1993) entspricht die Punktschätzung einem Risiko am Arbeitsplatz von $0,5 \%$ pro $100 \mu\text{g}/\text{m}^3$ Dieselpartikeln.

STEENLAND et al. (1998) haben auf der Grundlage von Daten US-amerikanischer Lkw-Fahrer (Fall-Kontrollstudie) berechnet, dass für einen Lkw-Fahrer, der für ein volles Arbeitsleben von 45 Jahren gegenüber $5 \mu\text{g}/\text{m}^3$ EC exponiert ist, ein Exzess-Lungenkrebsrisiko von 1,6 % (zusätzlich zu einem Hintergrund-Lungenkrebsrisiko von 5 %) anzunehmen sei. Dies bedeutet rechnerisch ein Risiko am Arbeitsplatz von 32 % pro $100 \mu\text{g}/\text{m}^3$ Dieselpartikeln, ein im Vergleich zu den anderen epidemiologischen Daten besonders hoher Wert.

STAYNER et al. (1998) geben eine Übersicht über mehrere Risikoabschätzungen aus der Literatur. Auf der Grundlage der Versuche an Ratten sind Bereiche des spezifischen Risikos von 1,7 bis 220×10^{-6} pro $\mu\text{g}/\text{m}^3$ Dieselpartikeln angegeben, auf der Grundlage epidemiologischer Daten von 100 bis 920×10^{-6} pro $\mu\text{g}/\text{m}^3$ Dieselpartikeln. Die Risikogrößen werden bei STAYNER et al. (1998) als „Unit Risk“ bezeichnet, aus den Erläuterungen der Tabellen in der Arbeit geht aber hervor, dass es sich nicht um ein Unit Risk in der Definition der US EPA, d. h. bezogen auf eine kontinuierliche Exposition in der allgemeinen Umwelt, handelt. Vielmehr ist erläutert, dass sich die Zahlen auf eine Exposition unter Arbeitsplatzbedingungen (8 h/d) für 45 Jahre beziehen. Die Werte sind also im Sinne des „Spezifischen Arbeitsplatzrisikos“ von Csicsaky et al. (1993) zu verstehen und es ist keine weitere Umrechnung auf Arbeitsplatzbedingungen erforderlich. Bei dem Wert von 220×10^{-6} pro $\mu\text{g}/\text{m}^3$ Dieselpartikeln handelt es sich innerhalb der Liste der auf Tierversuche gestützten Risikoabschätzungen um einen besonders hohen Wert, die Mehrzahl der Werte der entsprechenden Tabelle bei STAYNER et al. (1998) liegt bei kleiner als 10×10^{-6} pro $\mu\text{g}/\text{m}^3$ Dieselpartikeln. Damit ergibt sich zur Mehrheit der Diesel-Risikoabschätzungen aus Versuchen an Ratten für die epidemiologie-basierten Risikoabschätzungen ein mehr als 10-fach höheres Risiko. Der Bereich der auf Grundlage epidemiologischer Daten berechneten Werte entspricht Risiken von 1% bis 9% pro $100 \mu\text{g}/\text{m}^3$ Dieselpartikeln.

DAWSON und ALEXEEFF (2001a) haben die Daten der Eisenbahnarbeiter-Kohortenstudie von GARSHICK et al. (1988) neu ausgewertet. Mit Hilfe eines Multi-stage-Modells und unter Bezug auf die Lungenkrebsraten in Kalifornien leiteten sie eine Spanne für das Unit Risk von $2,1 \times 10^{-4}$ bis $5,5 \times 10^{-4}$ pro $\mu\text{g}/\text{m}^3$ Dieselpartikeln ab. Die Risikoabschätzung wurde von CRUMP (2001) kritisiert und von den Autoren verteidigt (DAWSON und ALEXEEFF, 2001b). Der Bereich der auf Grundlage epidemiologischer Daten berechneten Werte entspricht für den Arbeitsplatz Risiken von 0,35 % bis 0,9 % pro 100 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ Dieselpartikeln.

WICHMANN (2004) hat aufgrund der epidemiologischen Studie von POPE et al. (2002) eine Zahl von 1.680 Lungenkrebsfällen pro Jahr berechnet, die durch eine Minderung der durchschnittlichen Belastung der allgemeinen Umwelt in Deutschland mit Dieselpartikeln um $3 \mu\text{g}/\text{m}^3$ vermieden werden könnten. Diese Lungenkrebsrate ist in der Veröffentlichung als Vermeidungspotenzial bezeichnet, das durch den regelmäßigen Einsatz von Dieselrußfiltern erreicht werden könne. Dabei ist die Wirkungsstärke der Partikelfraktion $\text{PM}_{2,5}$ - wie bei POPE et al. (2002) untersucht - mit der Wirkungsstärke von Dieselrußpartikeln gleichgesetzt. Bezogen auf eine jährliche Zahl von Todesfällen von insgesamt 830.000 (in Deutschland im Jahre 2001 gemäß WICHMANN, 2004) entspricht die Zahl von 1.680 expositionsbedingten Fällen einem Lebenszeitrisiko von $1\,680 / 830\,000 = 0,2 \%$. Damit ist einer Dieselpartikelkonzentration von $3 \mu\text{g}/\text{m}^3$ in der allgemeinen Umwelt ein Exzess-Risiko von 0,2 % zugeordnet bzw. es folgt ein Unit Risk von $6,7 \times 10^{-4}$ pro $\mu\text{g}/\text{m}^3$ Dieselpartikeln. Umgerechnet mit dem Faktor 6 nach Csicsaky et al. (1993) entspricht dieses Umwelt-Unit Risk einem Risiko am Arbeitsplatz von 1,1 % pro 100 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ Dieselpartikeln. Es liegt damit innerhalb der Spanne, die von anderen Autoren (s.o.) aus Studien an Arbeitsplätzen abgeleitet wurden. In den Abschnitten 5.2.2 und 5.4.1.4 ist erläutert, dass dieses partikelbezogene Risiko durch die an die Partikeln adsorbierten PAH nicht erklärt werden kann. Bei ROLLER (2005) ist ausführlich dargestellt, dass auch andere bekannte Kanzerogene wie bestimmte Metalle - für die in anderem Zusammenhang ihrerseits Wirkungsschwellen weit oberhalb umweltrelevanter Expositionen diskutiert werden - dieses Risiko nicht erklären können.

5.4.2 Erhöhtes Lungentumorrisiko bei Kohlenbergleuten, durch Healthy worker-Selektionseffekte schwer zu entdecken

Bei Steinkohlenbergleuten wurden - zum Teil umfangreiche - epidemiologische Studien im Hinblick auf die Frage nach einem erhöhten Lungenkrebsrisiko durchgeführt. Eine neuere Übersicht findet sich bei HOFFMANN und JÖCKEL (2006). Dort wird - wie auch in anderen Publikationen - beschrieben, dass in Kohortenstudien das Standardized Mortality Ratio (SMR) bei den Bergleuten in der Regel kleiner ist als 1 - sowohl für Lungenkrebs als auch für alle Krebslokalisationen und alle Todesursachen (siehe auch MORFELD et al., 1997a,b, 2005). Die Studien gelten somit als „negativ“ („kein Risiko“). HOFFMANN und JÖCKEL (2006) betonen aber, dass alle 6 Fall-Kontrollstudien, in denen eine Assoziation zwischen Kohlen- oder Kohlengrubenstaubexposition und Lungenkrebs untersucht wurde, ein erhöhtes Risiko der Exponierten anzeigen. Drei der Fall-Kontrollstudien weisen außerdem Expositions-Wirkungsbeziehungen auf. Die Odds Ratios (OR) sind dabei adjustiert für Rauchen und zum Teil auch für andere Confounder wie Asbestexposition.

Die Ergebnisse aus Kohortenstudien und aus Fall-Kontrollstudien lassen sich also folgendermaßen zusammenfassen: Niedrigeres Lungenkrebsrisiko der Bergleute im Vergleich zur Allgemeinbevölkerung in Kohortenstudien - höheres Lungenkrebsrisiko der Exponierten gegenüber den Nicht-Exponierten in Fall-Kontrollstudien. Als Erklärung für diesen scheinbaren Widerspruch werden verbreitet Healthy worker- und Healthy worker survivor-Effekte herangezogen (MORFELD et al., 1997a,b; BOLM-AUDORFF et al., 1998; BECKLAKE, 1998; HOFFMANN und JÖCKEL, 2006). Einerseits gibt es seit langem eine Regel, nach der für Krebserkrankungen kein Healthy worker-Effekt existiert. Andererseits erscheint ein Effekt der Selektion von weniger staubsensiblen und zu Entzündungen der Atemwege neigenden Personen an staubreichen Arbeitsplätzen plausibel. BECKLAKE (1998) schreibt: *“There is evidence that changes to less dusty assignments, or job turnover rates early in a mining career are related to airway hyperresponsiveness. For instance, recent studies in U.S. coal miners have shown that those employed in dusty jobs are less likely than their unexposed coworkers to exhibit increased airway hyperresponsiveness.”*

Wenn die langjährig hoch durch Staub belasteten Bergleute eine wenig empfindliche Gruppe darstellen, könnten Patienten mit fibrosierender Alveolitis das andere Ende der Empfindlichkeitsskala bilden, deren Lunge für den krebserzeugenden Effekt von chronischen Entzündungsreaktionen besonders empfänglich ist. Von 326 Todesfällen mit idiopathischer Lungenfibrose aus sechs Studien waren 34 (10,4 %) mit einem Bronchialkarzinom gestorben (PANOS et al., 1990). In einer neueren Untersuchung an 209 Fällen mit fibrosierender Alveolitis (95 Frauen, 114 Männer) starben 22 an einem Bronchialkarzinom. Das Alter zum Todeszeitpunkt betrug als Mittelwert 55,7 Jahre und lag damit etwa 10 Jahre unter dem Durchschnitt der Karzinompatienten (GUSCHALL et al., 1998). Es wäre zu prüfen, ob der Healthy worker-Selektionseffekt in den nicht-positiven älteren Studien an Kohlenarbeitern, die die Basis für die Beurteilung von MAUDERLY (1994) bildeten, hinreichend berücksichtigt wurde.

Besondere Beachtung hat in der jüngsten Diskussion eine Kohortenstudie im Saarbergbau gefunden (MORFELD et al., 2005). Die Studie bezieht sich auf 4579 Steinkohlenbergleute des Saarlandes (Follow-up 1980-2002). Neben Mortalität wurde auch die Krebsmorbidity untersucht. Die mittlere kumulative Exposition wird mit 1 400 bis 1 900 mg/m³ x Schichten Quarz-A-Staub und 16 000 bis 22 000 mg/m³ x Schichten Nicht-Quarz-A-Staub (je nach angesetzttem „Imputationsverfahren“) angegeben, bei einer durchschnittlichen Beschäftigungsdauer unter Tage von 30,4 Jahren (210 Schichten pro Jahr). Die 143 aufgetretenen Lungenkrebstodesfälle entsprechen einem SMR von 0,89. Die Autoren schließen - vorbehaltlich gewisser Limitationen aus der begrenzten Fallzahl - aus der Studie, dass sich „trotz langer und hoher Staubexposition und 22-jährigem Follow-up“ insgesamt keine nachteilige Wirkung der Staubexpositionen im untertägigen Steinkohlenbergbau auf die Krebsmortalität und -morbidity festmachen ließ. Das erhöhte Lungenkrebsrisiko bei den Bergleuten mit Pneumokoniose wurde mit einer erhöhten Empfindlichkeit dieser Bergleute hinsichtlich Lungenerkrankungen zu erklären versucht. Vor dem Hintergrund der aktuellen Diskussion werden die Daten der Studie von MORFELD et al. (2005) im Datenumfeld nachfolgend in einzelnen Punkten diskutiert.

1. Die Studie von MORFELD et al. (2005) bezieht sich auf 4579 Steinkohlenbergleute des Saarlandes. Für das Follow-up wird der Zeitraum 1980-2002 angegeben. 1181 Todesfälle traten auf, darunter 399 Krebstodesfälle. Die 143 Lungenkrebstodesfälle entsprechen einem Anteil von 12,1 % an allen Todesursachen und einem Anteil von 35,8 % an allen Krebstodesfällen. Solche Mortalitätsanteile gelten zwar in der modernen Epidemiologie als beschränkt aussagekräftig, da sie von der Altersstruktur und von der Häufigkeit anderer Todesursachen abhängen; die genannten Zahlen fallen aber im Vergleich mit der männlichen Allgemeinbevölkerung in Deutschland und im Saarland sowie im Vergleich mit anderen Arbeiterkohorten als deutlich höher auf. Die entsprechenden Anteile waren z. B. 1995 in Deutschland 7,0 und 26,7 %, 1990 waren sie im Saarland 8,4 und 31,8 % (Tab. 5.4*). Der Anteil Lungenkrebs an allen Todesursachen war in der Bergarbeiterkohorte z. B. auch höher als in einer Kohorte amerikanischer Kokereiarbeiter, die besonders stark mit PAH belastet waren und für Risikoabschätzungen für PAH herangezogen wurden, die Anteile betragen dort 11,1 und 45,1 % (COSTANTINO et al., 1995). Der Anteil von Rauchern und Ex-Rauchern wird bei MORFELD et al. (2005) im Teilkollektiv „mit Angaben zum Rauchverhalten“ mit 71 % angegeben. Für 98 (der insgesamt 143) Lungenkrebsfälle lagen keine Angaben zum Rauchverhalten vor. Bei allen Einschränkungen, denen solche Vergleiche unterliegen, bleibt in jedem Falle festzustellen, dass die Lungenkrebshäufigkeit bei saarländischen Kohlenbergleuten gemäß den rohen Zahlen vergleichsweise hoch erscheint. Daher sollte sie genau analysiert werden, um das Risiko zu erkennen, das unterhalb der „Nachweisgrenze“ liegt und infolgedessen möglich ist.
2. Das Standardized Mortality Ratio (SMR) in der Saar-Kohorte betrug für alle Todesursachen 0,87, für Lungenkrebs 0,89. Das SMR für Lungenkrebs ist somit das Verhältnis von 143 beobachteten zu 160,8 erwarteten Lungenkrebstodesfällen. Um Unterschiede in der Gesamtsterblichkeit zu berücksichtigen, kann ein relatives SMR (RSMR) für Lungenkrebs berechnet werden. Hierzu ist die Zahl der erwarteten Lungenkrebstodesfälle mit dem SMR für alle Todesursachen zu multiplizieren, um entsprechend der höheren Lebenserwartung der exponierten Kohorte zu korrigieren. Man erhält dann ein RSMR von $143 / 139,8 = 1,02$ mit einem 95%-Vertrauensbereich (VB) von 0,86 bis 1,20. Diese Zahlen erscheinen auf den ersten Blick niedrig, die obere 95%-Vertrauensgrenze entspricht aber wegen des hohen Hintergrundrisikos für Lungenkrebs rechnerisch einem erheblichen absoluten Lungenkrebsrisiko. Nach den Mortalitätsdaten der männlichen Allgemeinbevölkerung des Saarlandes ist von einem Hintergrundrisiko für Lungenkrebs in Höhe

* Die Tabelle zeigt einen Vergleich des Anteils „Lungenkrebs“ an allen Todesursachen und an allen Krebstodesfällen in der Morfeld-Kohorte und in mehreren Vergleichspopulationen. Die Tabelle sollte nicht als „Proportional-Mortality-Ratio“-Analyse missverstanden werden, sie soll vielmehr die Anteile von Lungenkrebs an der Mortalität veranschaulichen. Die Zahlen sind auch deshalb von Interesse, weil der Anteil von Lungenkrebs an allen Todesursachen in einem großen Kollektiv (wie z. B. der Allgemeinbevölkerung eines Landes) als gute Approximation des „Lebenszeit-Lungenkrebsrisikos“ gelten darf (ROLLER et al., 2006). Die Zahlen zeigen daher auch, welche erhebliche absolute Lungenkrebsrisiken sich hinter vermeintlich geringen Erhöhungen des relativen Risikos verbergen können.

Tab. 5.4 Anteil der Todesursache „Lungenkrebs“ (entsprechend ICD/9 Nr. 162) an allen Todesursachen und an allen Krebstodesfällen in verschiedenen männlichen Kollektiven bzw. Populationen (Statistisches Landesamt Saarland, <http://www.gbe.saarland.de>; Krebsregister Saarland, <http://www.krebsregister.saarland.de>; WHO, 2003)

Personenkreis (männlich)	Anteil von „Lungenkrebs“	
	an allen Todesursachen	an allen Krebstodesfällen
Saarbergbau (Morfeld et al., 2005)	12,1 % 143 / 1 181	35,8 % 143 / 399
Saarland 1970-2004 (Alter ab 20 J.)	---	32,4 % 17 050 / 52 622
BRD 1952	2,4 % 6 296 / 259 945	14,7 % 6 296 / 42 782
BRD 1981	6,0 % 21 068 / 349 076	26,6 % 21 068 / 79 065
Saarland 1980	7,5 % 503 / 6 672	34,9 % 503 / 1 442
NRW 1990/91 (Pesch et al., 1994)	8,4 % 7 556 / 90 295	30,0 % 7 556 / 25 185
Saarland 1990	8,4 % 511 / 6 058	31,8 % 511 / 1 606
Deutschland 1995	7,0 % 28 887 / 410 663	26,7 % 28 887 / 108 334
Saarland 1995	9,2 % 548 / 5 967	32,9 % 548 / 1 667
Saarland 2000	8,6 % 496 / 5 737	30,1 % 496 / 1 648
Saarland 2004	8,5 % 480 / 5 617	29,1 % 480 / 1 651
Kokereiarbeiter USA (Costantino et al., 1995)	11,1 % 255 / 2 291	45,1 % 255 / 566

von rund 8 % auszugehen. Die Studie an den Saarbergleuten kann daher ein absolutes Exzess-Lebenszeitrisiko für Lungenkrebs in Höhe von $(1,2 - 1,0) \times 8 \% = 1,6 \%$ für den Durchschnitt der gesamten Kohorte nicht ausschließen. Selbstverständlich ist dieses Risiko hier nicht nachgewiesen, es kann jedoch auch nicht ausgeschlossen werden; dieser Hinweis ist im Hinblick auf den Vergleich mit Risiken, die aus Versuchen mit Ratten abgeleitet wurden, wichtig.

3. Gemäß mehreren Tabellen bei MORFELD et al. (2005) waren 95 % der Bergleute gegenüber kumulativen Expositionen an Nicht-Quarz-A-Staub exponiert, die (je nach Expositionsermittlungs-Verfahren) bei rund 23 000 oder 37 000 $\text{mg}/\text{m}^3 \times$ Schichten anzusetzen sind. Bei einer Expositionsdauer des Menschen von 40 Jahren und 210 Schichten pro Jahr entspricht ein Langzeitmittelwert von $3 \text{ mg}/\text{m}^3$ - wie der derzeitige Allgemeine Staubgrenzwert der TRGS 900 - einer kumulativen Exposition von $25\,200 \text{ mg}/\text{m}^3 \times$ Schichten. Demnach liegt eventuell nur für rund 5 % der Bergleute der Studie eine höhere kumulative Exposition vor als einer 40-jährigen Exposition gegenüber dem Allgemeinen Staubgrenzwert entspricht. Bei MORFELD et al. (2005) ist nicht angegeben, wie viele der 5 % am stärksten exponierten Bergleute bereits verstorben waren. Insgesamt werden 1 181 Todesfälle angegeben, der Anschaulichkeit halber sei für die Rechenbeispiele auf 1 200 aufgerundet. Wir nehmen als Grundlage für Berechnungen der statistischen Power der Einfachheit halber einmal an, für 1 100 der schwächer exponierten, verstorbenen Bergleute betrage das Lungenkrebsrisiko im Mittel 8 % und im Vergleich dazu stelle sich für 100 der stärker exponierten, verstorbenen Bergleute die Frage eines expositionsbedingt erhöhten Lungenkrebsrisikos. Gesucht sei die statistische Wahrscheinlichkeit (Power), unter den 100 am stärksten exponierten, verstorbenen Bergleuten eine statistisch signifikante Erhöhung des Lungenkrebs-Lebenszeitrisikos zu finden, falls tatsächlich ein bestimmtes erhöhtes Risiko bestünde. Gemäß einer Berechnung für eine einfache Kohortenstudie ohne Berücksichtigung von Alters- und Empfindlichkeitsunterschieden beträgt z. B. die Power 37 %, mit 100 Individuen ein zusätzliches Risiko von 5 % gegenüber einem Hintergrundrisiko von 8 % in einem Vergleichskollektiv von 1 100 Individuen festzustellen. Diese Nachweiswahrscheinlichkeit ist zu gering, um ein „positives“ Ergebnis erwarten zu dürfen, auch wenn tatsächlich ein expositionsbedingtes Lebenszeitrisiko in Höhe von 5 % bestünde. Um eine „reelle Chance“ auf den Nachweis eines erhöhten Risikos unter 100 Individuen gegenüber einem Hintergrund von durchschnittlich 8 % zu haben (Power 80 %), müsste das wahre Risiko mehr als verdoppelt sein, das zusätzliche Risiko also mehr als 8 % betragen. Wenn es aber ein wahres expositionsbedingtes Lungenkrebsrisiko von 8 % bei den am stärksten exponierten Bergleuten der MORFELD-Kohorte gäbe, dann würde dies unter präventivmedizinischen Gesichtspunkten ein sehr hohes Risiko bedeuten und die Saar-Bergleute wären deutlich empfindlicher gegenüber einer krebserzeugenden Wirkung von Kohlengrubenstaub als Ratten (s.u., Punkt 7). Es ist klar, dass von MORFELD et al. (2005) nicht nur 1 200 verstorbene Bergleute untersucht wurden, sondern insgesamt 4579 Bergleute. Da Lungenkrebs aber besonders im höheren Lebensalter auftritt und das Lebenszeitrisiko zu bewerten ist, mögen bei Einsatz komplexerer statistischer Methoden die Power-Werte zu modifizieren sein, am Problem einer geringen Power der Studie zum Nachweis eines zusätzlichen Lebenszeitrisikos von 1 bis 5 % (bzw. eines entsprechend niedrigeren zusätzlichen Lungenkrebsrisikos z. B. bis zum Alter von 60 Jahren) ändert sich aber grundsätzlich nichts. Empfindlichkeitsunterschiede und Selekti-

onseffekte können die Analyse zusätzlich erschweren (breite Konfidenzintervalle in der G-Estimation mit 27 oder 28 Kovariablen bei MORFELD et al., 2005).

4. Wie bereits in einer früheren Phase der Studie (MORFELD et al., 1997a) traten auch gemäß MORFELD et al. (2005) signifikant höhere Lungenkrebsrisiken bei Bergleuten mit Pneumokoniose auf. Unter 786 Bergleuten (333 davon verstorben) mit Pneumokoniose mindestens des Grades 1/1 ILO 1980 traten 56 Lungenkrebstodesfälle auf, entsprechend einem signifikant erhöhten SMR von 1,74 (95%-VB 1,31-2,26). Dagegen fanden sich unter 3987 Bergleuten (848 davon verstorben) ohne eine solche Pneumokoniose nur 87 Lungenkrebstodesfälle, entsprechend einem signifikant erniedrigten SMR von 0,68 (95%-VB 0,55-0,84). Das Verhältnis der SMR-Werte der beiden Gruppen zueinander beträgt $1,74 / 0,68 = 2,56$. Das Lungenkrebsrisiko eines Bergmannes mit Pneumokoniose mindestens des Grades 1/1 ist somit rund zweieinhalbmal so hoch wie das Risiko eines Bergmannes ohne diese Pneumokoniose. Pneumokoniose ist grundsätzlich von der Staubexposition abhängig. Daher kann es nur so sein, dass Bergleute mit Pneumokoniose im Mittel stärker exponiert waren als Bergleute ohne Pneumokoniose. Es ist sehr schwer vorstellbar, dass sie dabei entgegen einem etwaigen Healthy worker-Selektionseffekt eine stärkere Disposition für Pneumokoniose und Lungenkrebs aufweisen und dass ihr erhöhtes Lungenkrebsrisiko allein von persönlichen Gewohnheiten und einer stärkeren Disposition, aber in keiner Weise von der Exposition abhängig ist. Der Umstand, dass Cox-Regression keine statistisch signifikante Abhängigkeit des Lungenkrebsrisikos von der Exposition gezeigt hat, ist auch unter dem Gesichtspunkt zu sehen, wie hoch der Risikoanstieg sein müsste, um „signifikant“ zu sein und wie hoch die Expositionen waren (siehe Punkt 3).
5. Das Risiko für eine Pneumokoniose mit (mindestens) dem Schweregrad 1/1 ILO 1980 könnte gemäß der Studie im Saarbergbau bei langfristiger Exposition gegenüber 3 mg/m^3 (wie der Allgemeine Staubgrenzwert der TRGS 900) vervierfacht sein (siehe Abschnitt 5.3.6). Dabei versteht sich, dass solche Pneumokoniosgrade mit Entzündungsreaktionen verbunden sind. Demnach sind die Expositionen in der Studie von MORFELD et al. (2005) in Relation zum Allgemeinen Staubgrenzwert nicht als hoch zu betrachten, vielmehr wäre demnach der Allgemeine Staubgrenzwert als hoch zu betrachten (siehe Punkt 3).
6. Gemäß HOFFMANN und JÖCKEL (2006) wurde in allen 6 Fall-Kontrollstudien, in denen eine Assoziation zwischen Kohlen- oder Kohlengrubenstaubexposition und Lungenkrebs untersucht wurde, ein erhöhtes Risiko der Exponierten anzuzeigen. Drei der Fall-Kontrollstudien weisen außerdem Expositions-Wirkungsbeziehungen auf. Die Odds Ratios (OR) sind dabei adjustiert für Rauchen und zum Teil auch für andere Confounder wie Asbestexposition. HOFFMANN und JÖCKEL (2006) schreiben wörtlich: *„Regarding occupational exposure to coal mine dust, an increase in lung cancer risk can be consistently observed in case-control studies, which probably show less biased estimates than retrospectively performed cohort studies.“*

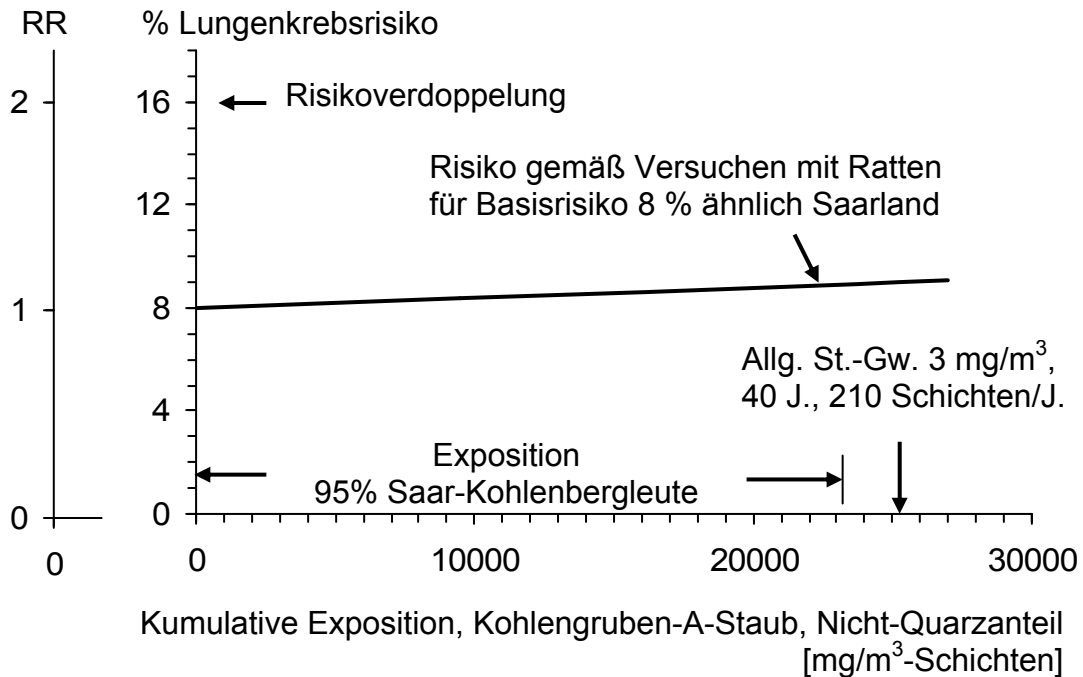


Abb. 5.12 Exposition der Steinkohlenbergleute im Saarland nach MORFELD et al. (2005) im Vergleich zu einer hypothetischen Expositions-Risikobeziehung für das Lungenkrebsrisiko gemäß den Ergebnissen bei Ratten. Gemäß ROLLER und POTT (2006) ergibt sich für eine Arbeitsplatzexposition gegenüber 3 mg/m³, d. h. 40 Jahre, 210 Schichten pro Jahr, entsprechend 25.200 mg/m³-Schichten, ein Exzess Risiko in Höhe von 1 %. Die Exposition von 95 % der Bergleute gegenüber Nicht-Quarz-A-Staub lag unterhalb dieser Exposition (gemäß sogenannter niedriger Imputation). Es ist nicht zu erwarten, dass innerhalb des in seiner Zahl begrenzten Bergarbeiterkollektivs vor dem Hintergrund des relativ hohen Basisrisikos epidemiologisch „statistisch signifikant“ eine Expositions-Risikobeziehung festzustellen ist, auch dann wenn tatsächlich beim Menschen ein ebenso hohes Risiko wie bei der Ratte besteht. Healthy worker-Selektionseffekte können das Risiko weiter verschleiern

- Die Bewertungen von Steinkohlengrubenstaub durch IARC (1997) sowie durch die DFG (GREIM, 1998a) sind nicht auf dem neuesten Stand, weil zu jener Zeit die Ergebnisse der 19-Stäube-Studie noch nicht vorlagen. Die grundsätzliche Ähnlichkeit der Ergebnisse mit nicht-faserigen Stäuben nach Instillation und nach Inhalation wurde dargelegt (DRISCOLL et al., 2000; ROLLER und POTT, 2006). In der Studie wurden zwei Stäube aus gemahlener Kohle geprüft, sowie zwei „grubenechte“ Steinkohlengrubenstäube und ein Gesteinsstaub aus einem Steinkohlenbergwerk, außerdem - als „positive Kontrolle“ - ein reiner Quarzstaub aus Dörentrup (DQ12). Die Stäube führten dosisabhängig zu signifikant erhöhten Lungentumorhäufigkeiten (Tab. 3.1, 3.7, 3.8; Abb. 3.1, 4.1; POTT et al., 2000; POTT und ROLLER, 2005; MOHR et al., 2006). Die Dosis-Wirkungsbeziehungen der 5 Kohlen- bzw. Bergbaustäube sind plausibel - und wegen ähnlicher Lebens-

erwartungen der Versuchsgruppen adäquat - mit dem Multistage-Modell beschreibbar, sie geben weder Hinweise auf eine Wirkungsschwelle noch auf einen relevanten Sättigungseffekt. Die Wirkungsstärke der Kohlen- bzw. Bergbaustäube ist - bezogen auf das Staubvolumen - relativ einheitlich um rund einen Faktor 30 geringer als diejenige von DQ12 und einen Faktor 5 bis 6 geringer als diejenige von ultrafeinen Stäuben bzw. Nanopartikeln. Anhand eines Vergleichs zwischen Instillations- und Inhalationsdaten lässt sich für die Ratte ein absolutes Exzess-Lebenszeitrisiko für Lungentumoren in Höhe von 1 % nach einer arbeitsplatz-äquivalenten Exposition in Höhe von 3 mg/m^3 (Kohlengrubenstaub bzw. andere GBS mit einer Dichte von 2 - 2,5 g/mL) berechnen (Abschnitt 5.5.2; ROLLER und POTT, 2006). Ein Exzess-Risiko in dieser Höhe ist als Arbeitsplatzrisiko nicht zumutbar und kann für Bergleute aufgrund der epidemiologischen Untersuchungsergebnisse keineswegs ausgeschlossen werden (siehe s.o. Punkt 3; Abb. 5.12).

Aufgrund der oben genannten Punkte darf nicht davon ausgegangen werden, dass das Fehlen eines kanzerogenen Potenzials von Steinkohlengrubenstaub belegt ist. Wegen der relativ hohen Hintergrundhäufigkeit von Lungenkrebs und der in Relation dazu niedrigen Expositionen der bei MORFELD et al. (2005) angegebenen kumulativen Expositionen war es vielmehr nicht zu erwarten, dass innerhalb des in seiner Zahl begrenzten Bergarbeiterkollektivs epidemiologisch statistisch signifikant eine Expositions-Risikobeziehung festzustellen war, auch dann wenn tatsächlich beim Menschen ein höheres Risiko als bei der Ratte besteht. Healthy worker-Selektions-effekte können das Risiko weiter verschleiert haben. MORFELD et al. (2005) schreiben zwar *„Als wesentliche Limitation der Studie muss daher - trotz des verlängerten Follow-up über jetzt 22 Jahre - die zu geringe Fallzahl genannt werden“*, sie versäumen es aber, konkrete Angaben zu machen, wie steil eine Beziehung zwischen kumulativer Staubexposition und absolutem Lungenkrebsrisiko sein müsste, um statistisch signifikant erkannt zu werden, und welche expositionsbezogenen Risiken sich demzufolge bei gegebener Power hinter dem „negativen“ Ergebnis verbergen können.

Im Übrigen ist festzustellen, dass es sich bei der Saarbergbau-Kohorte um eine einzelne Studie handelt. Es ist unbestritten, dass die Staubexposition Pneumokoniose-Erkrankungen verursacht. Dabei ist davon auszugehen, dass Fibrosen in den Lungen vorliegen und dass diese die Folge staubbedingter chronischer Entzündungsprozesse sind. Staubbedingte chronische Entzündungsprozesse werden als Ursache der Lungentumoren bei den staubexponierten Ratten sowie bei anderen quarz-exponierten Arbeitern bevorzugt diskutiert. Das Lungenkrebsrisiko bei den Pneumokoniosefällen war höher als bei den Bergleuten ohne nachgewiesene Pneumokoniose. Es ist daher plausibel, einen Ursache-Wirkungszusammenhang zwischen Staubexposition und Lungenkrebsrisiko zu sehen. Dass ein solcher Zusammenhang in der Studie statistisch nicht nachgewiesen werden konnte, ist mit Blick auf die beschriebene Power-Problematik und die gesamte Datenlage (Lungentumoren bei Ratten, erhöhte Lungenkrebsrisiken bei Quarz- und bei Dieselruß-exponierten Arbeitern, erhöhte OR-Werte in Fall-Kontrollstudien mit Kohlestaubexposition) zu bewerten. Eine vermutete stärkere Disposition der betroffenen Männer für Lungenkrebs kann deshalb nicht als Stand des Wissens zur Erklärung der nachweislich höheren Lungenkrebsrisiken der Pneumokoniosefälle akzeptiert werden.

Es ist daher insgesamt davon auszugehen, dass die Exposition gegenüber Steinkohlengrubenstaub zu einem erhöhten Lungenkrebsrisiko führt und dass es methodisch schwierig ist, dieses erhöhte Risiko epidemiologisch zu erkennen, weil die Untertage-Beschäftigung im Steinkohlenbergbau mit einem erheblichen Selektionseffekt verbunden ist, durch den vor allem Männer mit geringer Empfindlichkeit hinsichtlich einer Lungenkrebsbildung unter den höheren Expositionen verbleiben. Ergebnisse von Fall-Kontrollstudien wurden als konkrete Hinweise in diese Richtung interpretiert.

5.4.3 Epidemiologische Studien mit Ruß und Steinstaub

Aus der Rußindustrie (Herstellung und Anwendung) liegen mehrere epidemiologische Untersuchungen vor, die jedoch nach IARC (1996) zur Beurteilung der Ruß-Kanzerogenität alle nur eingeschränkt geeignet sind. Die Studie von HODGSON und JONES (1985) an Beschäftigten der Ruß herstellenden Industrie, die von der IARC-Arbeitsgruppe für besonders informativ gehalten wurde, zeigte ein an der Grenze der statistischen Signifikanz liegendes erhöhtes Lungenkrebsrisiko (RR 1,5; 95%-Vertrauensbereich 1,0 - 2,2).

In IARC (1997) werden zahlreiche Studien an Arbeitern aus Steinbrüchen im Zusammenhang mit Quarz referiert. Die statistisch signifikant erhöhten Lungenkrebshäufigkeiten wurden allein dem Quarzanteil zugeschrieben. Hier wäre auch die Alternative zu betrachten, dass dem GBS-Anteil eine Bedeutung zukommt, wenn der Quarzanteil klein oder die freie Quarzoberfläche durch die Begleitminerale inaktiviert ist, wie es beim Kohlengrubenstaub diskutiert wird. Diese Fragestellung bedarf weiterer Untersuchungen (siehe Abschnitt 5.6.1).

5.4.4 Unterschiedliche Lungentumortypen bei Ratte und Mensch: Präventivmedizinisch irrelevant

Die Lungentumortypen der Ratte sind histopathologisch zum Teil denen des Menschen nicht ähnlich und die Häufigkeit der verschiedenen Typen ist anders verteilt als beim Menschen. Es ist jedoch nicht gerechtfertigt, bestimmte Tumortypen der Ratte, die beim Menschen nicht gleichartig oder nur selten auftreten, für die Beurteilung im Hinblick auf den Menschen auszuklammern oder sie für die statistische Analyse voneinander zu trennen, zumal da die statistische Signifikanz bereits nach Zusammenfassung aller Tumoren erst auf einem Niveau erreicht wird, das weit über der Grenze der Zumutbarkeit liegt. Die Nachweisgrenze würde bei getrennter Bewertung noch weiter angehoben werden.

Tab. 5.5 zeigt Häufigkeitsverteilungen des Vorkommens einzelner Tumortypen bei Mensch und Ratte. Das beim Menschen in zirka 35 % der autopsierten Lungenkrebsfälle gefundene kleinzellige Karzinom wurde bei der Ratte nicht diagnostiziert. Im Falle der durch Asbest verursachten Lungentumoren wäre die Unterschätzung des Tumorrisikos für den Menschen mit den Ergebnissen der Ratte durch Ausschluss eines Teils der Lungentumoren noch größer als sie ohnehin evident ist (WARDENBACH et al., 2000). Im Hinblick auf die Gefährdung des Menschen ist entscheidend,

Tab. 5.5 Relative Häufigkeiten der Lungentumortypen bei Mensch und Ratte

Herkunft des Gewebes	n	Adenom	Adenokarzinom	Epitheliom	Plattenepithelkarzinom	Kleinzellkarzinom	Großzellkarzinom	Sonstige Karzine
Biopsie	635 ^a		23 %		41 %	30 %	1 %	5 %
Operation	163 ^a		40 %		45 %	10 %	5 %	< 1 %
Autopsie	107 ^a		18 %		31 %	36 %	7 %	8 %
Frauen	^b		36 %		25 %	23 %	9 %	16 %
Männer	^b		15 %		46 %	25 %	13 %	14 %
Ratten	368 ^c	12 %	32 %	27 % ^d	27 %			1,7 %

^a Ergebnisse aus der Klinik „Bergmannsheil“, Bochum 1989 (MÜLLER und REICHEL, 1990).

^b Krebsregister der DDR 1978 - 1982 (MEHNERT et al., 1992). Bei Frauen und Männern insgesamt rund 6870 Neuerkrankungen, davon ca. 70 % histologisch gesichert; Anteil der Frauen etwa 10 %.

^c Ergebnisse aus Teil 1 der 19-Stäube-Studie (POTT et al., 2000).

^d Diese 27 % gutartigen epithelialen Tumoren wurden nach der Klassifizierung von BOORMAN et al. (1996) in drei Typen unterteilt: Nicht keratinisierende 3,4 %, zystisch keratinisierende 15 %, keratinisierende 8 %.

dass ein Stoff in der Lunge Tumorbildungen induziert, unabhängig von den Tumortypen. Das gilt insbesondere dann, wenn mehrere Tumortypen in einer Versuchsgruppe erzeugt wurden, was die Regel ist. „*Benign and malignant tumors will be combined when scientific defensible*“ (US EPA, 1986). Außerdem wird beim Menschen immer deutlicher, „dass sich pulmonale bösartige Neubildungen durch eine besonders hohe Heterogenität mit variablen Expressionen biologisch verschiedener Tumortypen auszeichnen“ (MÜLLER und THEILE, 1994), sodass eine Trennung verschiedener Typen für den Vergleich eines Lungenkrebsrisikos von Ratte und Mensch auch wissenschaftlich nicht gerechtfertigt ist.

5.4.5 Die Rattenspezifität des Overload-Phänomens: Eine nach wie vor unbewiesene Hypothese

Der Begriff *Overload* entstand aus der Annahme, dass es eine **Nicht-Über**ladung der Lunge gäbe, die keinen gesundheitsrelevanten Effekt und keine Verzögerung der alveolären Lungenreinigung von Partikeln zur Folge hat. MORROW et al. (1991) gingen zunächst von einer Wirkungsschwelle bei 1 µL Staub/g Lunge aus. Es folgten Berechnungen mit niedrigerem Ergebnis: 300 µL/g Lunge (BELLMANN et al., 1991), 60 µL/g (BELLMANN et al., 1994) und schließlich entwickelte YU (1996) eine mathematische Formel für das Verhältnis zwischen retiniertem Partikelvolumen und der

alveolären Clearance-Rate, die keine Schwelle enthält. Für diesen Fall bedeutet das, dass es den „Knick“ in der Kurve zwischen *eindeutig risikofreier Beladung* und einer *Überladung* nicht gibt, der Übergang ist fließend; auch die Allgemeinbevölkerung ist betroffen, falls die Analogie zur Ratte besteht. Die Problematik wird im Einzelnen von ROLLER (2003a) erörtert. Die MAK-Kommission kommentiert, dass der von ihr festgesetzte Allgemeine Staubgrenzwert von $1,5 \text{ mg/m}^3$ für alveolengängigen Staub mit der Dichte von 1 g/mL bei der Ratte mit einer Verzögerung der alveolären Lungenreinigung auf etwa die doppelte Zeit verbunden ist (GREIM, 1997). Es handelt sich hier also nicht um eine wissenschaftlich nachgewiesene Overloadschwelle, die diese Bezeichnung verdienen würde, sondern um einen Wert in einem Bereich, in dem die Verzögerung der Lungenreinigung zweifelsfrei feststand und in dem bereits ein Anstieg der PMN nachgewiesen worden war (s. Abschnitt 5.2.1).

In dem in ILSI (2000) definierten Wortsinn bedeutet *Overload* nicht allein eine Staubanreicherung in der Lunge; denn diese Anreicherung wurde bei allen untersuchten Spezies gefunden. Sie dürfte grundsätzlich bei allen Säugern stattfinden. Mit dem *Overload-Phänomen* wird darüber hinaus und insbesondere ein Komplex von funktionellen und pathologisch-anatomischen Folgen auf die Staubüberladung bezeichnet, die letztlich als Voraussetzung für die Tumorentstehung in der Rattenlunge betrachtet wird, aber - so diese Hypothese - erst dann beginnt, wenn ein angenommener Gleichgewichtszustand zwischen Deposition und Elimination (*steady state*) nicht besteht, sondern die retinierte Staublast weiter zunimmt. Die Folgen sind Schädigung der Alveolarmakrophagen, weitere Verlangsamung der alveolären, durch Makrophagen vermittelten Lungenreinigung, Anstieg der Staubmenge in den Alveolen, chronische granulozytäre Entzündung, oxidativer Stress und Proliferation der Epithelzellen mit Mutationen (insgesamt lässt sich in den Diskussionen das genaue Kriterium für die Überschreitung der postulierten Schwelle nicht genau fassen, s. Abschnitt 5.2.1). Während das Overload-Phänomen nach ILSI (2000) bei Ratte, Maus und Hamster nachgewiesen wurde, wurde es für den Menschen infrage gestellt oder als *nicht vorhanden* angenommen. Die Arbeit von KUEMPEL (2000) enthält eine Hypothese, nach der das Overload-Phänomen trotz Staubüberladung der Lunge beim Menschen wegen einer andersartigen Kinetik im Unterschied zur Ratte nicht auftritt.

Basis dieser Hypothese ist eine Modellrechnung von Kuempel mit Daten über den Gesamtstaubgehalt der Lungen von Kohlenbergleuten. Demnach bleibt der Staubgehalt im Alveolarbereich konstant, obwohl die überschüssige Staubdeposition, die die Kapazität der durch Makrophagen vermittelten alveolären Lungenreinigung übersteigt, nicht über die Bronchien die Lunge wieder verlässt, sondern im Interstitium der Lunge reaktionslos abgelagert wird. Dieser Hypothese könnte gefolgt werden, wenn sie sich auf differenzierte Messergebnisse darüber stützen könnte, dass nur ein kleiner Anteil der Kohlenstaubmasse im Alveolarraum der Bergleute abgelagert war und der ganz überwiegende Anteil im Interstitium, wo er praktisch unschädlich sein soll, was nach den Darlegungen in den Abschnitten 5.4.6 und 5.3.6 nicht nahe liegt. Es lagen aber - soweit erwähnt - nur Messungen über den Gesamtstaubgehalt der Lungen von 131 Bergleuten vor, die zwischen 1959 und 1973 verstarben. Eine Differenzierung nach Alveolarraum und Interstitium ist also nicht vorhanden, außerdem handelt es sich um lange zurückliegende Expositionen, und die Schätzungen der Expositionskonzentrationen dürften mit entsprechenden Unsicherheiten verbunden sein. Der statistische Zusammenhang zwischen den Gesamtstaubgehalten in den Lungen und den Expositionszeiten und abgeschätzten Expositionskonzentrationen der Berg-

leute wurde von KUEMPEL (2000) mit einer Klasse pharmakokinetischer Rechenmodelle untersucht. Die Schlussfolgerung der Autorin ist, dass ein Modell, das von einer Interstitialisierung bzw. Sequestrierung des größten Teils des Staubs ausgeht, die gemessenen Gesamtstaubgehalte im Zusammenhang mit den angenommenen Expositionen am besten erklärt, wobei eine Beeinträchtigung der alveolären Clearance, also der Alveolarmakrophagen, wie man sie nach den Rattenversuchen erwarten würde, keine oder nur eine relativ kleine Rolle spielt. Ein wichtiger Punkt liegt aber in dieser „relativ kleinen Rolle“, da Kuempel ausführte: *“the no overload or 50 % overload models provide similar fit“*. Eine Beteiligung von Overload-Prozessen wie bei der Ratte lässt sich also keineswegs ausschließen. Wenn diese bezogen auf die Lungengröße beim Menschen relativ geringer ausfallen, so ist damit keinesfalls zwangsläufig auf ein niedrigeres Tumorrisiko zu schließen, wie in Abschnitt 5.4.6 näher erläutert wird. Für den in das interstitielle Gewebe der Lunge transportierten Staub wird ja eine unschädliche Ablagerung angenommen. Das durch interindividuelle Reaktionsunterschiede breite Spektrum der histopathologischen Reaktionen (s. Abschnitt 5.3.6) wird bei dieser Hypothese ausgeblendet. Als unterstützendes Argument für die Interpretation von KUEMPEL (2000) wird die in einem Versuch mit Affen gefundene größere Staubablagerung in den verschiedenen Teilen des interstitiellen Gewebes gesehen (NIKULA et al., 1997), die aber nur den Faktor zwei ergibt. Außerdem wird auf eine schwache Epithelproliferation beim Menschen im Vergleich zur Ratte hingewiesen, deren falsche Bewertung in Abschnitt 5.4.6 diskutiert wird. Für den Menschen ermittelte Kuempel in ihrer Modellrechnung ein Verhältnis von Alveolarstaubmasse zur Staubmasse im Interstitium von etwa 1 zu 10 am Ende der gesamten Beschäftigungszeit von 45 Jahren. Die durch die unterschiedlichen Lebenszeiten, Lungengrößen und Zellteilungshäufigkeiten von Ratte und Mensch gegebene Gesamtdifferenz lässt sich nicht berechnen, weil hierfür notwendige Informationen fehlen, aber sie dürften den Faktor 100 für die Zellteilungsraten in der Lebenszeit weit übersteigen, wie im folgenden Abschnitt erläutert wird.

5.4.6 Falsches Postulat: Gleiche Entzündungsreaktionen und gleicher Proliferationsgrad für gleiche Tumorrisiken

Die gegenwärtig herrschende Ansicht, das Overload-Phänomen sei mit seinen Folgen auf die Rattenlunge beschränkt, beruht wesentlich auf den quantitativ relativ wenig ausgeprägten histopathologischen Veränderungen durch GBS in den Lungen von Hamstern und Mäusen sowie durch Kohlengrubenstaub bei Bergleuten (BROCKMANN et al., 1998) und Affen (NIKULA et al., 1997). Bei diesen Vergleichen mit der Ratte wird sich auf Unterschiede in einzelnen Gewebsschnitten bzw. auf gleiche Lungenvolumina bezogen. Diese quantitativen Unterschiede wurden fälschlich als Maßstab für die Übertragung von Krebsrisiken von der Ratte auf den Menschen verwendet. *Der fundamentale Unterschied zwischen den Dosis-Wirkungsbeziehungen für nicht neoplastische Läsionen in gleichen Lungenvolumina von Ratte und Mensch einerseits und den Dosis-Häufigkeitsbeziehungen für Tumoren in sehr unterschiedlichen Lungenvolumina und Lebenszeiten andererseits wurde bisher nicht berücksichtigt. In keiner der Veröffentlichungen, die eine Übertragbarkeit der Staubkanzerogenität von der Ratte auf den Menschen ablehnten, wurden die Fragen diskutiert, die dieser Unterschied aufwirft* (DRISCOLL, 1996; GREIM et al., 2001; ILSI, 2000; MAUDERLY, 1996; MCCLELLAN, 1996; MILLER, 2000; MOSSMANN, 2000; NIKULA, 2000; OBERDÖRSTER, 1995; 1996; 2002; weitere).

Es ist viel zu einfach gedacht, wenn vom Grad einer chronischen Entzündung in der Rattenlunge und von der Häufigkeit von Proliferationen und Tumoren bei der Ratte darauf geschlossen wird, wie sich Entzündungsgrad und die Proliferationshäufigkeit beim Menschen verhalten müssten, um das gleiche Tumorrisiko zu erreichen. Während die histologische Untersuchung einer repräsentativen Auswahl von Lungenschnitten ausreicht, um den Fibrosegrad bei Mensch und Ratte zu diagnostizieren und zu vergleichen, sind die Voraussetzungen für die Übertragung von Krebsrisiken sehr verschieden. Es bestehen riesige Unterschiede zwischen den Zellteilungsraten von Ratte und Mensch; sie machen genetisch determinierte quantitative Unterschiede der vielgestaltigen Faktoren im Verlauf der Kanzerogenese bei den beiden Spezies *absolut erforderlich*, wenn nach äquivalenter Exposition in den sehr unterschiedlichen Lebenszeiten die Möglichkeit gleicher Krebsrisiken entstehen soll. Hierzu nur der Hinweis von SIMONS (1995), wonach Mäusezellen im Vergleich zum Menschen auf der Basis Körpergewicht und Lebenszeit rechnerisch unter einem etwa 100 000-fach höheren Risiko stehen, Tumorzellen zu werden, aber eine 300-fache Steigerung der Mutationshäufigkeit in den ersten beiden Stufen der Kanzerogenese sei wahrscheinlich eine realistischere Zahl. Die Äußerung von AMES (1989), nach der bei 30 % der relativ kurzlebigen Ratten und Mäuse ebenso wie beim Menschen irgendeine Form von Krebs entsteht, sagt in diesem Zusammenhang wenig aus. Das Gesamtkrebsrisiko verteilt sich bei verschiedenen Spezies und sogar bei verschiedenen Ratten- und Mäusestämmen zu unterschiedlichen Anteilen auf die einzelnen Lokalisationen (z. B. Lungentumorhäufigkeit bei Fischer-Ratten höher als bei Wistar-Ratten, Lebertumorhäufigkeit bei B6C3F₁-Mäusen besonders hoch; man beachte außerdem: Labortiere werden möglichst von äußeren Einflüssen abgeschirmt, das „Spontanrisiko“ des Menschen ist das Ergebnis einer Vielzahl von Einflüssen einschließlich Zigarettenrauchen und Arbeitsplatzexpositionen). Sofern für eine bestimmte Lokalisation beim Menschen tatsächlich ein ebenso hohes oder gar ein niedrigeres „Spontanrisiko“ besteht als beim Labortier, ist daraus zu schließen, dass entweder dieses Organ von weniger schädlichen äußeren Einflüssen erreicht wird oder dass sonstige Schutzmechanismen für dieses Organ beim Menschen besser sind. Daraus ergibt sich aber keine zwingende Notwendigkeit, dass auch bei einem bestimmten Arbeitsstoff die größere Zellzahl und längere Lebenserwartung des Menschen gerade genau soweit kompensiert wird, dass dieselbe Gewebskonzentration dieses Arbeitsstoffes oder seines reaktiven Metaboliten beim Menschen dasselbe Tumorrisiko bewirkt wie beim Nagetier. Die besseren Schutzmechanismen begründen nicht ein niedrigeres Risiko des Menschen, sie sind erforderlich, um ein erheblich höheres Risiko des Menschen zu verhindern.

Die um ein Vielfaches höhere Anzahl an Zellen und Zellgenerationen in der Menschenlunge würden bei gleicher Anfälligkeit von Ratte und Mensch pro Zellteilung gegenüber Mutationen durch krebserzeugende Stoffe bereits bei Kindern zu hohen Krebshäufigkeiten führen. Diese Verhältnisse setzen eine Art von „Zeittraffermechanismus“ bei der Ratte im Verhältnis zum Menschen voraus, der aus mehreren Faktoren resultieren mag, z. B. stärkere persistierende Entzündung, höhere Proliferationsrate und geringere DNA-Reparaturkapazität. Nur durch erhebliche Unterschiede dieser Art kann der Prozess der Kanzerogenese zum Überleben des Menschen über 75 - 80 Jahre führen im Vergleich zur Ratte von 2½ Jahren, wenn nach äquivalenter Exposition ein ähnliches Krebsrisiko resultiert. Wenn sich in einer einzigen Lunge von 1 000 Ratten mit einem Gesamtgewicht von 1 000-mal 1 g eine Tumorzelle zu einem Tumor entwickelt, entsteht bei dieser Rattengruppe eine Tumorhäufigkeit von

0,1 %. Wenn sich in einer Menschenlunge mit der gleichen Lungenmasse wie 1 000 Rattenlungen an irgendeinem Gramm dieser 1 000 g Menschenlunge aus einer Tumorzelle ein Lungenkrebs entwickelt, dann sind diese 1 000 g ungeteilt vom Lungenkrebs betroffen, das bedeutet eine Lungenkrebshäufigkeit von 100 %, und nicht nur von 0,1 % der Gesamtmasse. Dieser quantitativ überragende Unterschied relativiert die vielen Abweichungen, die aus Einzeluntersuchen in Richtung auf eine größere Empfindlichkeit der Ratte im Vergleich zum Menschen fehlinterpretiert wurden.

In Abschnitt 2.3 bei ROLLER et al. (2006) ist in einem allgemeineren Umfeld erläutert, dass die aus der Pharmakologie geläufigen Spezies-Extrapolationsmethoden, z. B. anhand der auf das Organgewicht bezogenen Gewebsdosis, bei kanzerogenen Effekten nicht naheliegender Weise zum richtigen Ergebnis führen. In einer umfangreichen Recherche wurde bei ROLLER et al. (2006) die Fachliteratur auf epidemiologische und tierexperimentelle Daten hin gesichtet, die Aussagen über die quantitative Relation zwischen einem Exzess-Risiko in Höhe von rund 10 % und dem entsprechenden Langzeit-Mittelwert der Kanzerogenexposition unter Arbeitsplatzbedingungen (ED10) - sowohl beim Menschen als auch bei mindestens einer Labortierart - zulassen. Daten, die den Kriterien für quantitative Auswertungen genügten, wurden für elf Stoffe bzw. Stoffgruppen gefunden: Benzol, 1,3-Butadien, Cadmium und seine Verbindungen, Chrom(VI)-Verbindungen, Nickel und seine Verbindungen, Vinylchlorid, Asbest, Kohlenteeraerosol, Dieselmotor-Emissionen, kristallines Siliziumdioxid, Radon. Für fünf Stoffe konnten wegen mangelnder Information allenfalls qualitative bzw. semiquantitative Aussagen getroffen werden: Benzidin, Bischlormethylether, Beryllium und seine Verbindungen, 1,2-Dibromethan, Tabakrauch/Zigarettenrauch. Die Ergebnisse deuten - bei aller Unschärfe der Expositionsermittlungen auch der besten epidemiologischen Studien - darauf hin, dass eine Speziesextrapolation anhand der äquivalenten Exposition ohne besondere Berücksichtigung toxikokinetischer und toxikodynamischer Speziesunterschiede in der Regel nicht zu einer Überschätzung des Risikos des Menschen - so wie es sich aus als positiv bewerteten epidemiologischen Studien ergibt - führt, auch dann, wenn, zum Beispiel aufgrund mechanistischer Daten, eine geringere Empfindlichkeit des Menschen vermutet wurde.

5.4.7 System der Oxidantienabwehr: Unterschiedliche „Kapazitäten“ bei Ratte, Hamster und Mensch

Gegenwärtig lässt sich nicht entscheiden, inwieweit eine schwächere Entzündung der Menschenlunge, geringere Mitose- und Proliferationsrate, höhere Effektivität der DNA-Reparatur, höhere Oxidantien-Abwehr und weitere genetisch bestimmte Vorgaben den Menschen in 75 - 80 Lebensjahren letztlich an ein ähnliches Krebsrisiko heranführen, das die Ratte nach äquivalenter Exposition gegenüber GBS bereits in 2½ Jahren erreicht. In Anbetracht der guten quantitativen Übereinstimmung von Mensch und Ratte beim Quarzstaub liegt eine Ähnlichkeit auch für GBS nahe. Für den Hamster wurde ein besserer Abwehrmechanismus gegen GBS-induzierte Oxidantien im Vergleich zur Ratte ermittelt und damit die unterschiedliche Empfindlichkeit dieser beiden Spezies gegenüber der Kanzerogenität durch GBS zwar plausibel, aber wahrscheinlich nicht ausreichend erklärt (DRISCOLL et al., 2002). Mehrere für den Menschen relevante Kanzerogene erwiesen sich im Inhalationsexperiment in der Hamsterlunge nicht als tumorerzeugend (Abschnitt 5.2.3). Bisher fehlen Daten für einen validen Vergleich zwischen kanzerogener Wirkungsstärke und Abwehrmecha-

nismen bei Hamster und Mensch, denn: „*At present, we are just beginning to understand the relationships between particle exposure, antioxidant mechanisms, and susceptibility.*“ (DRISCOLL et al., 2002).

Dieser Kenntnisstand impliziert auch die Unsicherheit der Schwellenhypothese, die für nicht primär genotoxische Stoffe aufgestellt wurde (Abschnitt 5.7.2). Die Hypothese und eine Einstufung in K4 setzt nach unserem präventivmedizinischen Verständnis bei den Arbeitnehmern in aller Regel ein insgesamt perfekt funktionierendes System der Abwehrmechanismen unter Expositionen im Grenzwertbereich voraus, das jedoch nicht gegeben zu sein scheint: „*Thus, even low adduct levels due to environmental exposure lead to persistent lesions in the human lung*“ (HARTWIG, 2002). Für regulatorische Zwecke müsste die Höhe der Dosischwelle für jeden Stoff zuverlässig bestimmt werden können, bis zu der das Abwehrsystem perfekt arbeitet. Dies müsste dann auch für Dieselmotor-Emissionen zutreffen, die wegen ihres für die Kanzerogenität nicht ausschlaggebenden PAH-Anteils ebenfalls den GBS zuzurechnen sind und gegenwärtig unseres Erachtens zutreffend in die Gruppe 2a der IARC-Klassifikation (*the agent is probably carcinogenic to humans*) eingestuft sind.

5.4.8 Lungentumorrisiko durch GBS bei Ratte und Mensch: Wesentlicher Unterschied weder nachgewiesen noch naheliegend

Gegen die Einstufung von GBS als tierexperimentell erwiesenes Kanzerogen wurden Hypothesen aufgestellt, nach denen gravierende Unterschiede zwischen den Wirkungsmechanismen von Ratte und Mensch bestehen, die eine Übertragbarkeit der GBS-Kanzerogenität auf den Menschen ausschließen würden. Demnach soll bei der Ratte eine Wirkungsschwelle existieren und erst ab dieser Belastung das sogenannte *Overload-Phänomen* beginnen, das es – so die Hypothese – beim Menschen nicht gibt. Eine weitere Wirkungsschwelle soll durch das System der Abwehr gegen Oxidantien gegeben sein, die bei einer chronischen Entzündung entstehen und einen sekundär genotoxischen Effekt zur Folge haben. Diese Hypothesen wurden in den vorausgegangenen Abschnitten diskutiert.

Aus den Darlegungen in Kapitel 5.4 und den folgenden Abschnitten ergibt sich, dass die Datenlage über die Kanzerogenität von GBS einschließlich der epidemiologischen Ergebnisse mit der Möglichkeit eines ähnlichen Lungentumorrisikos in den Lebenszeiten von 2½ Jahren bei der Ratte und 80 Lebensjahren des Menschen nach äquivalenter Exposition durchaus vereinbar ist. Es gibt kein tragendes Argument gegen eine qualitative Analogie, zumal da die Kanzerogenese durch Quarzstaub bei Mensch und Ratte in der Regel auf einen Wirkungsmechanismus zurückgeführt wird, der über eine chronische Entzündung und ihre Folgeerscheinungen verläuft und der auch für die GBS angenommen wird. Auch ein anderer Weg ist bei beiden Spezies denkbar (Abschnitt 5.2.3). DRISCOLL (1996) schreibt zur Frage der Ähnlichkeiten in der Kanzerogenese durch Quarz und GBS: „*Overall, the observations described above for α quartz and carbon black provide strong support for a key role of inflammatory cell recruitment and activation in the in vivo mutagenic effects of low solubility particle exposure in the rat lung and in all likelihood the development of lung tumors. In this respect, while distinctions are frequently made between particles such as crystalline silica, which are inherently inflammatory, and those such as carbon black, diesel soot, and titanium dioxide, which are relatively less toxic, these distinctions may be inappropriate when one considers the ultimate mechanisms by which these mate-*

rials produce lung tumors in rats.“ Auch IARC (1997) hebt auf diesen Gesichtspunkt ab. Im Abschnitt „*Mechanistic considerations related to carcinogenicity*“ findet sich dort eine schematische Darstellung der Quarzkanzerogenese über Entzündung und Clearance-Beeinträchtigung, die sich grundsätzlich nicht von Darstellungen der GBS-Kanzerogenese wie z. B. in Abb. 5.3 unterscheidet. Die Legende der Abbildung bei IARC (1997) lautet „*A hypothetical inflammation-based mechanism for carcinogenicity of quartz in rats*“, unter der Abbildung heißt es: „*This hypothesis is supported by in-vitro studies as well as in-vivo studies. Other pathways, such as a role for quartz surface-generated oxidants or a direct genotoxic effect, are not ruled out; however, at present there is no convincing evidence for these alternative pathways*“.

Nach diesen Vorstellungen wäre die Wirkungsstärke von Quarzpartikeln wegen besonderer Oberflächeneigenschaften größer als diejenige von GBS, die Mechanismen der Tumorbildung in der Rattenlunge wären aber ähnlich. Diese Feststellung ist wichtig für die Beurteilung der Kanzerogenität von GBS beim Menschen, weil sich Quarz als humankanzerogen gezeigt hat und keine Belege vorliegen, dass sich die Quarzkanzerogenese bei Ratte und Mensch qualitativ wesentlich unterscheidet. Analog zu der Klassifizierung bei der IARC (1997) ist Quarz in die Kategorie 1 der krebserzeugenden Stoffe der MAK-Kommission eingestuft worden (GREIM, 1999), das bedeutet *krebserzeugend für den Menschen*. Auch die Tumorrisiken durch Quarz nach äquivalenter Exposition liegen für Ratte und Mensch nahe beieinander (SCHLÜTER, 2003; ROLLER 2002, 2003b; Abschnitt 5.6.1). Die Mortalität durch intratracheal instillierten Quarz ist bei Ratten akut bis subchronisch erstaunlich gering. Dies zeigte z. B. ein Kanzerogenitätsversuch, in dem die Menge von 45 mg DQ12 sowohl verteilt auf 15 Instillationen als auch einmalig als Einzeldosis an Wistar-Ratten verabreicht wurde (POTT und ROLLER, 1994; POTT et al., 1994). Diese Dosis entspricht der Gesamtstaubmenge pro Gramm Lunge von ziemlich hoch belasteten Bergleuten (beim Menschen als quarzhaltiger Gesamtstaub - bei den Versuchsratten handelte es sich aber um reinen Quarzstaub). Innerhalb eines halben Jahres verstarb keine von 41 einmalig behandelten Ratten und nur eine einzige der 39 mehrfach behandelten Ratten. Es ist äußerst unwahrscheinlich, dass ein Mensch die Entzündungsreaktionen nach intratrachealer Instillation der entsprechenden Menge von etwa 45 g an reinem DQ12 akut bis subakut überleben würde. Vielmehr traten bei Menschen Fälle von sogenannter akuter Silikose mit tödlichem Ausgang bereits nach relativ kurzer Exposition an bestimmten Arbeitsplätzen wie dem Sandstrahlen oder dem Bohren im Tunnelbau auf. Der Quarzgehalt in den Lungen von 2 Bergleuten, die im jungen Alter von Anfang 20 an akuter Silikose starben, betrug 1,5 und 2,3 g, der Gesamtstaubgehalt 4,2 und 6,1 g (EINBRODT et al., 1957). Diese Quarzgehalte in menschlichen Lungen entsprechen ungefähr 2 mg Quarz in der Rattenlunge, also deutlich mehr als ein Faktor von 10 niedriger als eine letale Dosis bei der Ratte. Welche Anteile der kanzerogenen Wirkung bei der Ratte bei Quarz einerseits und bei GBS andererseits auch immer auf Entzündungsprozesse, auf sekundäre Genotoxizität oder auf direkte Partikelwirkungen entfallen mögen, in jedem Falle zeigt das Beispiel quarzhaltiger Stäube Ähnlichkeiten im Lungentumorrisiko nach Inhalation schwerlöslicher granulärer Partikeln bei Mensch und Ratte, die eine einzigartige Empfindlichkeit der Rattenlunge diesbezüglich ausschließen. Nach äquivalenter GBS-Exposition erscheint beim Menschen sowohl ein kleineres als auch ein größeres Krebsrisiko als bei der Ratte möglich (Abschnitte 5.4.1 - 5.4.2 und Kapitel 5.5).

Es ist zu folgern, dass entscheidende Argumente gegen die Annahme sprechen, die quantitativen Unterschiede zwischen den durch GBS induzierten pathogenen Abläufen bei Ratte und Mensch würden auf einen nicht nennenswerten Beitrag zum Krebsrisiko des Menschen bei Einhaltung der Allgemeinen Staubgrenzwerte schließen lassen. Quantitative Risikoabschätzungen sind in Abschnitt 5.4.1.5 und im Kapitel 5.5 näher beschrieben, Kapitel 5.7 enthält Ausführungen zur Risikoakzeptanz und zur Regulation.

5.5 Quantitative Risikoabschätzung anhand der Daten aus Versuchen mit Ratten

Es liegen zahlreiche experimentelle Daten vor, die in eine quantitative Risikoabschätzung für GBS einbezogen werden können. Mehr Stäube wurden mittels Instillation geprüft als mittels Inhalation. Um die breite Datenbasis der 19-Stäube-Studie nutzen zu können, vergleichen wir die kanzerogene Potenz bezogen auf das langfristig retinierte Staubvolumen mit den Dosis-Häufigkeitsbeziehungen nach Inhalation, soweit geeignete Daten vorhanden sind. Ein solcher Vergleich ist möglich und sinnvoll. Eine umfangreiche Publikation von DRISCOLL et al. (2000) beschäftigt sich eingehend mit der Frage nach der Ähnlichkeit bzw. nach den Unterschieden zwischen den Reaktionen nach Inhalation und intratrachealer Instillation von Stäuben. Grundsätzlich wird dort bejaht, dass Versuche mit intratrachealer Instillation toxikologisch relevante Aussagen liefern können. Die Arbeit enthält unter der Abschnittsüberschrift „*Evaluation of material not respirable by rodents*“ die Dosisangabe „100 µg pro Ratte“. Bei dieser Angabe handelt es sich aber nicht um eine allgemeine Dosisempfehlung, sondern der entsprechende Textteil spricht die Untersuchung der Biopersistenz von Materialien an, die beim Menschen, aber nicht bei der Ratte, alveolengängig sind. Es heißt dort: „*In order to minimize the inference of clumping and localized inflammatory responses in a biopersistence study, only intratracheal doses below approximately 100 µg/rat should be used. ... More information is needed to validate results from intratracheal instillation in fiber biopersistence studies against those from short-term (i.e., 1 week) inhalation studies.*“ Ganz offensichtlich beziehen sich diese Aussagen also auf Biopersistenzuntersuchungen von Fasern; eine Aussage, Kanzerogenitätsversuche mit intratracheal instillierten Gesamtdosen granulärer Stäube von mehr als 100 µg pro Ratte seien nicht aussagefähig, lässt sich daraus nicht ableiten.*

An anderer Stelle heißt es bei DRISCOLL et al. (2000): "*However, inferences on how materials may behave in the lung under certain inhalation exposure conditions can be developed from intratracheal instillation studies by inclusion of appropriate control materials. For example, an intratracheal exposure study may be used to compare the lung effects of a new material against physically and chemically similar materials that have an extensive inhalation database.*" Diesem Ansatz sind wir gefolgt (ROLLER

* Aus der Arbeit von BELLMANN et al. (1994) ergibt sich als Grenze zu einem „overloading“ der Rattenlunge mit GBS ein Volumen von 60 nL/g (0,06 µL/g), also weniger als der 10te Teil des Definitionskriteriums von 1 µL/g des Allgemeinen Staubgrenzwerts der MAK-Kommission. Das „Ausblenden“ der Versuchsergebnisse aus Kanzerogenitätsversuchen mit einer Staubretention oberhalb einer formalen Overload-Grenze von z. B. 100 nL/g würde demnach bedeuten, dass Kanzerogenitätsversuche nur bis zu maximal einem Zehntel des Grenzwert-Kriteriums Aussagen liefern könnten, die Frage einer Kanzerogenität beim Grenzwert wäre überhaupt nicht prüfbar - weder mittels i.tr. Instillation noch mittels Inhalationsversuch.

und POTT, 2006). Im Hinblick auf Aufwand und Kosten von Langzeitkanzerogenitätsversuchen darf die Datenbasis für die Inhalation von Dieselruß in obigem Sinne als „*extensive*“ bezeichnet werden, außerdem liegen weitere Daten aus Inhalationsversuchen z. B. mit Industrieruß und Titandioxid vor.

5.5.1 Vergleich zwischen den kanzerogenen Wirkungsstärken von GBS im Inhalationstest und Instillationstest

Für einen Vergleich zwischen den beiden Testmodellen wurden diejenigen Inhalationsversuche mit GBS in Tab. 5.6 zusammengestellt, die mit Retentionsdaten nach etwa einjähriger Exposition veröffentlicht wurden. Die in den Veröffentlichungen angegebenen Staubmassenwerte wurden in Volumenwerte umgerechnet. Die älteren Instillationsversuche enthält Tab. 5.7. Grundsätzlich ist bei Vergleichen von Tumorfrequenzen wie auch von anderen Wirkungen in Betracht zu ziehen, dass die Einzelergebnisse innerhalb einer großen Streubreite liegen, sodass das Verhältnis der Ergebnisse innerhalb einer kleinen Zahl von Versuchsgruppen leicht zu falschen Schlüssen führt. Beispiel für eine besonders schwache kanzerogene Wirkung von GBS-GF ist der Inhalationsversuch mit Titandioxid von LEE et al. (1985) an Sprague-Dawley-Ratten während das Experiment mit Talk mit Fischer-344-Ratten eine besonders starke Kanzerogenität ergab (NTP, 1993). Der Unterschied zwischen den weiblichen Tieren beträgt den Faktor 12 bezogen auf die Tumorfrequenz pro μL Staub in der Lunge. Vermutlich sind die Sprague-Dawley-Ratten weniger empfindlich als die Fischer- und Wistar-Ratten. Andere, unerklärte Einflüsse dürften an dem großen Unterschied beteiligt sein.

Die Abb. 5.13a) enthält Dosis-Tumorfrequenzbeziehungen für diejenigen Inhalationsversuche mit Dieselmotor-Emissionen, für die auch Messwerte der Rußretention zirka ein Jahr nach Expositionsbeginn vorliegen. Für den Vergleich der Dosis-Wirkungsbeziehungen von Inhalationsversuchen und Instillationsversuchen erscheint der Bezug auf die nach zirka 1 Jahr retinierte Staubmenge sinnvoll. Die im zweiten Expositionsjahr zusätzlich retinierte Staubdosis hat für die Kanzerogenität keine erkennbare Bedeutung; darauf lassen Inhalationsexperimente mit mineralischen Fasern nach ein- und zweijähriger Exposition schließen (POTT und ROLLER, 1993). Für die Instillationsversuche kann die langfristig, also auch nach 1 Jahr, retinierte Menge aufgrund von Plausibilitätsbetrachtungen und vorliegender Messdaten (POTT et al., 1994; DASENBROCK et al., 1996; Übersichtsarbeit von DRISCOLL et al., 2000; POTT und ROLLER, 2002, unveröff. Abschlussbericht für die BAuA) als zirka zwei Drittel der instillierten Dosis abgeschätzt und zum Vergleich mit den Inhalationsdaten benutzt werden. Um die Datenbasis zu verbreitern sind in Abb. 5.13a) die Diesel-Daten durch die Ergebnisse von ultrafeinem Industrieruß und ultrafeinem Titandioxid ergänzt, die zum Teil in derselben Versuchsreihe wie der Dieselruß geprüft wurden.

In den Abb. 5.13b) und 5.13c) sind die Ergebnisse von Inhalationsversuchen des Fraunhofer-Instituts in Hannover aus den 90er Jahren mit den beiden Dosismaßen „Staubvolumen (in Verbindung mit Partikelgröße)“ und „Stauboberfläche“ verglichen. Da alle Ergebnisse aus *einem* Labor stammen, sind die Daten gut vergleichbar, gleichzeitig handelt es sich bei diesen Daten um diejenigen Versuche, für die sowohl Messwerte der retinierten Staubmasse nach zirka 1 Jahr als auch Daten zu Dichte

und spezifischer Oberfläche der Stäube veröffentlicht wurden, sodass Staubvolumen und Stauboberfläche berechenbar sind.

Die Abb. 5.14 zeigt den Vergleich der Dosis-Tumorhäufigkeitsbeziehungen für Dieselruß (Bild a) und für ultrafeinen Industrieruß und Titandioxid (Bild b) für das Dosismaß „Staubvolumen“. Der Unterschied in der Steigung der Dosis-Tumorhäufigkeitsbeziehungen, also der kanzerogenen Wirkungsstärke der Partikeln nach intratrachealer Instillation einerseits und nach Inhalation andererseits, liegt zwischen einem Faktor von 2,4 und 8,7. Dieser quantitative Unterschied spricht nicht dafür, dass nach intratrachealer Instillation und nach Inhalation durch die jeweils retinierten Stäube nach grundsätzlich anderen Mechanismen Tumorbildungen ausgelöst werden. Ursache für die höhere Empfindlichkeit des Instillationstests ist vielmehr die Verabreichung der Gesamtdosis innerhalb relativ kurzer Zeit, z. B. 10 wöchentliche Instillationen. Sie geschieht in einem Lebensalter, das dem Alter zwischen 7 und 14 Jahren des Menschen entsprechen würde, allerdings bei unterschiedlichem Reifegrad. Die Erfahrung zeigt, dass Kinder und Jugendliche empfindlicher auf die Krebsinduktion durch einige Agenzien reagieren als Erwachsene (EBBESEN, 1984). Die schnellere Zellproliferation in jungem Alter und die längere Einwirkungszeit in den Instillationsexperimenten mit GBS kombinieren sich. Die weniger gleichmäßige Partikelverteilung nach Instillation kann die Empfindlichkeit durch Ablagerung in größeren Staubagglomeraten („Sequester“) erniedrigen. Die Verteilung der Gesamtdosis auf viele instillierte Einzeldosen verringert diesen Effekt. Bemerkenswert ist, dass auch im Inhalationsexperiment die Partikelverteilung in der Lunge nicht gleichmäßig ist, sondern Ansammlungen von Staubteilchen durch ihre Eigenfarbe bereits makroskopisch auf der Lungenoberfläche deutlich erkennbar sind. Demnach sind die Ergebnisse des Intratrachealversuchs als grundsätzlich ähnlichen Inhalationsversuchen zu betrachten.

Die Abb. 5.13b) und 5.13c) bestätigen darüber hinaus die Analysen des Intratrachealversuchs, wonach die Verwendung der retinierten Stauboberfläche als Dosismaß nicht zu einer besseren Erklärung der Dosis-Tumorhäufigkeitsbeziehungen führt als das retinierte Staubvolumen (in Verbindung mit einer Unterscheidung nach mindestens zwei Partikelgrößenklassen). Augenscheinlich wird die Streuung der Daten in der Abb. 5.13c) mit dem Dosismaß „Stauboberfläche“ größer im Vergleich zu der Abb. 5.13b) mit dem Dosismaß „Staubvolumen“. Insbesondere der Datenpunkt des Titandioxids, der sich bei der Dosis „Staubvolumen“ plausibel in die Gesamt-Dosis-Wirkungsbeziehung einfügt, scheint mit der Dosis „Stauboberfläche“ eine deutlich größere Wirkungsstärke von Titandioxid im Vergleich mit Diesel- und Industrieruß anzuzeigen. Dafür gibt es keine belastbare Erklärung. Wenn man davon ausgeht, dass der Inhalationsversuch mit Toner am Rande eines Effektnachweises steht (Trendtest „marginal positiv“: verallgemeinerter Fischer exact test für den Anstieg der Tumorhäufigkeit mit dem nach zirka 1 Jahr retinierten Staubvolumen $p = 0,049$, Cochran-Armitage Test $p = 0,025$), dann signalisiert die Abb. 5.13c) mit der

Tab. 5.6 Inhalationsversuche zur Kanzerogenität von GBS-F und GBS-UF an verschiedenen Rattenstämmen

Stoff	Durchmesser [μm] ^a	Spezif. Oberfläche [m^2/g]	Dichte [g/mL]	Exposition		Literatur
				[mg/m^3]	[h/Wo., 24 Mo.]	
Kohle			1,4 ^g	200	5 x 5	Martin et al., 1977
<i>Kontrolle</i>	–	–	–	0	–	
TiO ₂ Rutil	MMAD 1,5-1,7 (äquival. mit ~0,8 geom. Durchm.)		4,26 ⁱ	10	5 x 6	Lee et al., 1985, 1986
				50	5 x 6	
				250	5 x 6	
<i>Kontrolle</i>	–	–	–	0	–	
Dieselmotor- emissionen, ~12 % org. Stoffe	MMAD ~ 0,25 0,01-10		1,85 ^k	0,35	5 x 7	Mauderly et al., 1987; Cheng et al., 1984; Wolff et al., 1987; Nikula, 2000
				3,5	5 x 7	
				7,1	5 x 7	
<i>Kontrolle</i>	–	–	–	0	–	
Toner (gleicher Typ wie im Instillations- versuch)	MMAD ~ 4, geom. SA 1,5; MW 3,5	3,6	1,2	0,35	5 x 6	Muhle et al., 1991; Bell- mann et al., 1991
				1,5	5 x 6	
				5,4	5 x 6	
TiO ₂ Rutil	MMAD 1,1		4,3	3,9	5 x 6	
<i>Kontrolle</i>	–	–	–	0	–	
Talk	MMAD 2,7-3,2		2,8 ^q	6	5 x 6	NTP, 1993
				18	5 x 6	
<i>Kontrolle</i>	–	–	–	0	–	

Tab. 5.6 Fortsetzung

Stoff	GBS-Dosis in Lunge				Ratten mit Lu.tum. [abs./untersucht, %]	Tum./retin. GBS [%/µL] ^f	Literatur
	nach ca. 1 Jahr Exposition ^b			n.~2 J. [mg] ^e			
	[mg]	[µL] ^c	[µL/g] ^d				
Kohle	43	31	18	96	4 / 36 11	0,35	Martin et al., 1977
<i>Kontrolle</i>	<i>w Spr.-Dawley</i>			–	0 / 6 0 ^h	–	
TiO ₂ Rutil	<i>w</i> 8,7	2,0	0,87	32	1 / 75 1,3		Lee et al., 1985, 1986
	<i>m</i> 10,1	2,4	0,73	21	2 / 71 2,8		
	<i>w</i> 60	14	6,0	130	0 / 74 0	0	
	<i>m</i> 76	18	5,5	118	1 / 75 1,3		
	<i>w</i> 382	90	38	546	26 / 74 35	0,39	
	<i>m</i> 362	85	26	785	13 / 77 17	0,17	
<i>Kontrolle</i>	<i>w Spr.-Dawley</i>			–	0 / 77 0	–	
	<i>m Spr.-Dawley</i>			–	2 / 79 2,5	–	
Dieselmotorenmissionen	<i>w m</i> 0,24	0,13	0,09	0,6	3 / 223 1,3		Mauderly et al., 1987; Cheng et al., 1984; Wolff et al., 1987; Nikula, 2000
	<i>w m</i> 2,18	1,18	0,79	11,5	8 / 221 3,6 ^m	2,3	
	<i>w m</i> 7,29	3,94	2,63	20,5	29 / 227 12,8	3,0	
<i>Kontrolle</i>	<i>w m F344/Crl</i>			–	2 / 230 0,9	–	
Toner	<i>w</i> 0,12 ⁿ	0,1	0,1	0,19	1 / 112 0,9	–	Muhle et al., 1991; Bellmann et al., 1991
	<i>m</i> 0,16 ⁿ	0,13	0,09	0,24		–	
	<i>w</i> 0,69 ⁿ	0,57	0,55	1,41	0 / 114 0	0	
	<i>m</i> 1,03 ⁿ	0,85	0,60	2,05		0	
	<i>w</i> 5,32 ⁿ	4,4	4,3	13,0	5 / 114 4,4 ^p	^p	
	<i>m</i> 8,7 ⁿ	7,3	5,1	18,1			
TiO ₂ Rutil	<i>w</i> 1,4 ⁿ	0,33	0,32	2,24	2 / 113 1,8		
	<i>m</i> 1,8 ⁿ	0,42	0,30	3,20			
<i>Kontrolle</i>	<i>w m F344</i>			–	3 / 111 2,7	–	
Talk	<i>w</i> 4,7 ^r	1,7	1,7	9,1 ^r	0 / 48 0	0	NTP, 1993
	<i>m</i> 4,4 ^r	1,6	1,6	10,5 ^r	1 / 50 2		
	<i>w</i> 14 ^r	5,1	5,1	29,4 ^r	13 / 50 26	4,7 ^q	
	<i>m</i> 21 ^r	7,5	7,5	24,2 ^r	1 / 50 2		
<i>Kontrolle</i>	<i>w F344/N</i>			–	1 / 50 2	–	
	<i>m F344/N</i>			–	0 / 49 0	–	

Tab. 5.6 Fortsetzung

Stoff	Durchmesser [μm] ^a	Spezif. Oberfläche [m^2/g]	Dichte [g/mL]	Exposition		Literatur
				[mg/m^3]	[h/Wo., 24 Mo.]	
Ruß Printex 90	0,014 MMAD 1.1	230	1,85	6	10 Mo. ^s	Heinrich et al., 1994
					20 Mo. ^s	
NO ₂ + SO ₂ + Formaldehyd	–	–	–	5 + 5 + 3 ppm	10 Mo. ^s	
					20 Mo. ^s	
<i>Kontrolle</i>	–	–	–	0	–	
Ruß Printex 90 ^t	0,014 ^u	227	1,85	7-12 ^v	5 x 18	Heinrich et al., 1995
TiO ₂ P 25	0,021 ^u	48	3,8	7-15 ^w	5 x 18	
Dieselmotor- emissionen, ~40 % org. Stoffe	MMAD 0,25, 0,015-16	Nativ 18 Extrakt 96-130	1,85 ^k	0,8	5 x 18	
				2,5	5 x 18	
				7,0	5 x 18	
<i>Kontrolle</i>	–	–	–	0	–	
Ruß Elftex-12, furnace black	< 0,05 ^x		1,85 ^y	2,5	5 x 16	Nikula et al., 1995
				2,5	5 x 16	
				6,6	5 x 16	
				6,6	5 x 16	
Dieselmotor- emiss., Anteil organ. Stoffe nicht genannt			1,85 ^k	2,4	5 x 16	
				2,4	5 x 16	
				6,3	5 x 16	
				6,3	5 x 16	
<i>Kontrolle</i>	–	–	–	0	–	
				0	–	
Dieselmotor- Emissionen			1,85 ^k	3,5 ± 1,4	3 x 17h	Iwai et al., 2000
					3 Mo.	
					6 Mo.	
					9 Mo.	
					12 Mo.	
<i>Kontrolle</i>	–	–	–	0	–	

Tab. 5.6 Fortsetzung

Stoff	GBS-Dosis in Lunge				Ratten mit Lu.tum. [abs./untersucht, %]	Tum./retin. GBS [%/µL] ^f	Literatur	
	nach ca. 1 Jahr Exposition ^b			n.~2 J. [mg] ^e				
	[mg]	[µL] ^c	[µL/g] ^d					
Ruß Pr. 90	15,4	8,3	5,5		12 / 72 17	2,0	Heinrich et al., 1994	
	15,4	8,3	5,5		7 / 72 9,7	1,2		
NO ₂ +SO ₂ + Form- aldehyd				–	–	1 / 72 1,4		–
				–	–	0 / 72 0		–
Kontrolle	w Wistar			–	–	0 / 72 0		–
Pr. 90 ^t	38	20,5	14	44	39 / 100 39	1,9		Heinrich et al., 1995
TiO ₂ P 25	35	9,2	6,1	39	32 / 100 32	3,4		
Diesel- motor- emis- sionen	2,8	1,5	1,0	6,3	0 / 198 0	0		
	11	5,9	4,0	24	11 / 200 5,5	0,8		
	36	19	13	64	22 / 100 22	1,1		
Kontrolle	w Wistar			–	–	1 / 217 0,5	–	
Ruß Elftex-12	w 6,2	3,4	2,2	17	8 / 107 7,5	2,2	Nikula et al., 1995	
	m 7,9	4,3	2,8	25	2 / 106 1,9			
	w 12	6,5	4,3	37	28 / 105 27	4,1		
	m 15	8,1	5,4	40	4 / 106 3,8			
Dieselmo- toremis- sionen	w 9,8	5,3	3,5	36	8 / 105 7,6	1,4		
	m 12	6,5	4,3	45	5 / 105 4,7	–		
	w 21	11	7,6	81	29 / 106 27	2,5		
	m 28	15	10	90	9 / 106 8,5			
Kontrolle	w F344/N			–	–	0 / 105 0	–	
	m F344/N			–	–	3 / 109 2,8	–	
Dieselmo- toremis- sionen						0 / 48 ^z 0	0	Iwai et al., 2000
	1,35	0,7	0,49			6 / 43 ^z 14,0		
	2,3	1,2	0,83			19 / 47 ^z 40,4		
	4,5	2,4	1,6			10 / 44 ^z 22,7	8,6	
	Kontrolle	w F344			–	–	1 / 48 2,1	

Fußnoten zu Tab. 5.6

- ^a Entweder MMAD (mass median aerodynamic diameter), zum Teil mit Angabe des Bereichs, oder mittlerer Durchmesser von Primärteilchen oder von Agglomeraten/Aggregaten (SA = Standardabweichung; MW = Mittelwert).
- ^b Diese Dosis repräsentiert von den verfügbaren Daten die wirksame Dosis wahrscheinlich am ehesten. Daher konnten nur diejenigen Versuche in die Tabelle aufgenommen werden, für die ein solcher Wert angegeben war oder sich als Mittelwert errechnen ließ.
- ^c Aus der Staubmasse und der Dichte berechnet.
- ^d Das Staubvolumen pro g Lunge ist in Bezug auf den Grenzwert der MAK-Kommission von 1 µL/g Lunge (GREIM, 1997) von Bedeutung. Die Werte in dieser Spalte geben den Faktor an, um den die GBS-Beladung der Lunge den Grenzwert übersteigt. Bei der Berechnung des Staubvolumens pro g Lunge wurde in den meisten Fällen davon ausgegangen, dass das Frischgewicht der unbehandelten Rattenlunge etwa 1,5 g beträgt (GREIM, 1997).
Ausnahmen: Kohle 1,68 g, TiO₂ Sprague-Dawley weibl. 2,35 g, männl. 3,25 g (LEE et al., 1985); im Talk-Experiment (NTP, 1993) wurde das Staubvolumen bereits pro µL/g Lunge angegeben (s. Fußnote r), im Toner-TiO₂-Experiment (BELLMANN et al., 1991; MUHLE et al., 1991) wurde es nach den Angaben der Lungengewichte für die Kontroll-Lungen als Mittelwerte der Daten nach 9 und 15 Monaten berechnet.
- ^e Die nach 2 Jahren gefundene Staubmasse ist als zusätzliche Information angegeben, ohne dass angenommen werden kann, dass die im zweiten Expositionsjahr zusätzlich retinierte Staublast einen deutlichen Anteil an der Tumorfrequenz erzeugt. Inhalationsexperimente mit Asbest ließen keinen Unterschied zwischen den Tumorfrequenzen nach ein- und zweijähriger Exposition erkennen (POTT und ROLLER, 1993). Der am Schluss der Tabelle aufgeführte Versuch von IWAI et al. (2000) weist in die gleiche Richtung. Gleichwohl ist durch das zweite Expositionsjahr mit verstärkenden entzündlichen und fibrogenen Reaktionen zu rechnen, da diese in kurzer Zeit entstehen können.
- ^f Die Tumorfrequenz in % pro µL GBS in der Lunge kann als ein Maß für die kanzerogene Potenz eines Staubes in der Versuchsgruppe verwendet werden und Vergleiche zwischen den kanzerogenen Wirkungsstärken der Versuchsgruppen vereinfachen, sofern die spontane Tumorfrequenz deutlich unter 1 % liegt wie bei Wistar-Ratten. Zur Berechnung wurden die Tumoren der jeweiligen Kontrollgruppe abgezogen; dieses Verfahren führt bei niedrigen Tumorfrequenzen in einer exponierten Gruppe, kleinen Gruppengrößen und mehr als 1 % Tumoren in der Kontrollgruppe zu größeren Unsicherheiten. Daher sind die Ergebnisse nur zum Teil eingetragen. Wegen der deutlich größeren Lungengewichte von Sprague-Dawley-Ratten müssten für einen Vergleich der Rattenstämme die Tumorfrequenzen zum GBS-Volumen pro Gramm Lunge in Beziehung gesetzt werden. Auf dieser Grundlage ist die kanzerogene Wirkungsstärke von TiO₂-F in dem Versuch von LEE et al. (1985) nur noch um den Faktor von etwa sechs schwächer als die von TiO₂-UF in dem Versuch von HEINRICH et al. (1995).
- ^g Nach Angabe für Kohlenstäube in Tab. 2.1.
- ^h Nur 6 Lungen histologisch untersucht, daher keine signifikant erhöhte Tumorfrequenz in der exponierten Gruppe. Unter 485 Tieren makroskopisch kein Lungentumor.
- ⁱ Nach WEAST et al. (1989).
- ^k In Analogie zum Industrieruß wird für die Berechnung des Volumens eine Dichte von 1,85 angenommen, obwohl der Einfluss auf die Dichte des von Dieselruß zu Dieselruß unterschiedlichen Anteils der organischen Stoffe nicht klar ist.
- ^m Signifikant höher als Kontrolle ($p < 0,05$); Tierzahlen pro Gruppe annähernd gleich auf beide Geschlechter verteilt.
- ⁿ Mittelwert aus den Messungen nach 9 und 15 Monaten.
- ^p Aus dem Gesamtversuch lassen sich 4 Gruppen zu einer Gesamtzahl von 450 Ratten einschließlich der nach 21 Monaten getöteten Tiere zusammenfassen, die nach Exposition im Mittel zwischen 9 und 15 Monaten und zwischen den beiden Geschlechtern nur ein etwa 8 bis 50mal niedrigeres Staubvolumen pro Gramm Lunge aufwiesen als die relativ hoch exponierte Tonergruppe mit 4,7 µL/g Lunge: Kontrolle, TiO₂ (0,31 µL), Toner niedrig (0,1 µL) und Toner mittel (0,57 µL).

Unter diesen 450 Ratten wurden 6 Tiere mit Lungentumor gefunden (1,33 %). Die etwa achtmal höhere Volumendosis in der Gruppe *Toner hoch* ist mit 5 Tumortieren unter insgesamt 114 (4,4 %) assoziiert. Der Unterschied zwischen diesen beiden Kollektiven ergibt ein um 3 Prozentpunkte höheres Risiko der am höchsten exponierten Tonergruppe, und ein relatives Risiko von 3,3. Nach dem Trendtest ist der Anstieg der Tumorfrequenz mit dem nach zirka 1 Jahr retinierten Toner-Staubvolumen von der Kontrollgruppe über die Toner-Gruppen hinweg bis einschließlich zur höchsten Tonerdosierung signifikant (verallgemeinerter Fisher's exact test $p = 0,049$, Cochran-Armitage Test $p = 0,025$). Für die Beurteilung des statistisch nicht signifikanten Unterschieds zwischen der höchsten Tonerdosierung allein und der mitlaufenden Reinluft-Kontrollgruppe sind analog zu epidemiologischen Studien die *Zehn Merksätze zur Interpretation von „negativen“ Studien in der arbeitsmedizinischen Epidemiologie* von WOITOWITZ et al. (1996) anzuwenden.

- ^q Nach RAMDOHR und STRUNZ (1967).
- ^r Die veröffentlichten Werte beziehen sich bereits auf das Frischgewicht von 1 g Lunge der Kontrollratten.
- ^s Expositionszeit pro Woche 5 Tage je 17 h. Die Versuchsgruppen mit NO₂ + SO₂ + Formaldehyd dienten zur Untersuchung der Frage nach der Bedeutung der gasförmigen Bestandteile von Dieselmotoremissionen für die Kanzerogenität. Verhältnisse der Expositionen zum MAK-Wert von 2002 (ohne Berücksichtigung der längeren Expositionsdauer pro Tag): NO₂ 1-fach, SO₂ 10-fach, Formaldehyd 10-fach. Die Exposition gegenüber diesem Gasgemisch führte nicht zu einer signifikanten Erhöhung der Lungentumorfrequenz.
- ^t 0,04 % der Masse extrahiert im Vergleich zu 40 % bei Dieselruß mit der gleichen Methode. Mittelwerte pro mg Printex 90: 0,6 pg Benzo[a]pyren (Dieselruß 3,9 ng), 1-Nitropyren < 0,5 ng/mg, (Dieselruß 19,1 ng/mg).
- ^u In Vorversuchen lagen die *mass median aerodynamic diameter (MMAD)* von TiO₂ und Ruß durch die Agglomeration der Primärpartikeln bei etwa 1,5 µm. Um die Deposition in den terminalen Atemwegen zu erhöhen, wurden die größeren Partikeldurchmesser durch einen Zyklon abgeschieden, sodass MMADs von 0,8 µm (TiO₂) und 0,64 (Ruß) entstanden.
- ^v Mittlere Expositionskonzentrationen: 4 Mon. 7,4 mg/m³; 20 Mon. 12,2 mg/m³.
- ^w Mittlere Expositionskonzentrationen: 4 Mon. 7,2 mg/m³; 4 Mon. 14,8 mg/m³; 16 Mon. 7,2 mg/m³.
- ^x Korngröße nicht angegeben. Es kann davon ausgegangen werden, dass der mittlere Durchmesser der Primärteilchen dieses in den USA hergestellten Rußes deutlich unter 0,050 µm liegt, denn die mittleren Durchmesser der von Degussa produzierten Furnaceruße sind im Bereich von 0,014 bis 0,056 µm angegeben (DEGUSSA, 1994).
- ^y Dichte nicht genannt. DEGUSSA (1994) gibt als Dichte für die dort produzierten Ruße allgemein den Bereich von 1,8 bis 1,9 g/mL an, daher wird von 1,85 g/mL ausgegangen.
- ^z 182 der 192 Ratten der vier exponierten Gruppen überlebten länger als 18 Monate, 35 (19 %) entwickelten zumindest 1 Lungentumor. Die Tierzahlen pro Gruppe betreffen Ratten, die mehr als 18 Monate überlebten.

Tab. 5.7 Instillationsversuche zur Kanzerogenität von GBS-F und GBS-UF an weiblichen Ratten, meist Wistar Ratten

Stoff	Mittl. Durchmess. [μm] ^a	Spezif. Oberfl. (BET) [m^2/g]	Dichte [g/mL]	Dosis intratracheal		Literatur
				wöchentl. Instill. x mg	Volum. [μL] ^a	
Aktivkohle			1,4 ^e	10 x 1	7,1	Kawabata et al., 1986
Dieselruß			1,85 ^g	10 x 1	5,4	
Trägerflüssigkeit			–	10 x 0,2 mL	–	
Unbehandelt			–	–	–	
Magnetit			5,18 ⁱ	15 x 15	43	Pott et al., 1987
NaCl-Lösung	–	–	–	20 x 0,3 mL	–	
Hämatit		2,5	5,24 ⁱ	15 x 10	29	Pott et al., 1994; Pott und Roller, 1994
Magnetit		7,0	5,18 ⁱ	5 x 10	9,7	
				15 x 10	29	
Aktivkohle		860	1,4 ^e	10 x 3	21	
				20 x 3	43	
TiO ₂ , Anatas	0,2	9,1	3,84 ⁱ	15 x 3	12	
TiO ₂ , Rutil		5,2	4,26 ⁱ	20 x 3	14	
SiC		6,1	3,22 ⁱ	20 x 3	19	
Dieselruß, LKW		34 ^k	1,85 ^g	15 x 3	24	
Dieselruß, Daimler-Benz	0,2		1,85 ^g	10 x 3	16	
				20 x 3	32	
Ruß Print. 90	0,014	270	1,85	15 x 3	24	
NaCl-Lösung	–	–	–	15 x 0,4 mL	–	
NaCl-Lösung	–	–	–	20 x 0,4 mL	–	
Dieselruß, orig.		12	1,85 ^g	ges. 15 mg ^m	8,1	Dasenbrock et al., 1996
Dieselruß, extrahiert ⁿ		138	1,85 ^g	ges. 15 mg ^m	8,1	
				ges. 30 mg ^m	16,2	
Ruß, 101, extrahiert ⁿ	0,095	22	1,85	ges. 15 mg ^m	8,1	
Ruß Printex 90, extrahiert ⁿ	0,014	271	1,85	ges. 15 mg ^m	8,1	
NaCl-Lösung, 0,25 % Tween 80	–	–	–	3 x 0,2 mL, 13 x 0,3 mL	–	

Fußnoten s.w.u.

Tab. 5.7 Fortsetzung

Stoff	GBS-Volumen in Lunge		Ratten m. prim. Lungentum. [abs./untersucht, %]		Tum./ retinierte GBS [%/µL] ^d	Literatur
	gesamt [µL] ^b	[µL/g Lunge] ^c				
Aktivkohle	4,8	3,2	11 / 23 ^f	48	10	Kawabata et al., 1986
Dieselfuß	3,6 ^h	2,4 ^h	31 / 42 ^f	74	21 ^h	
Trägerflüssigkeit	<i>w F344</i>		1 / 23 ^f	4,3	–	
Unbehandelt			0 / 50 ^f	0	–	
Magnetit	29	19	25 / 34	69	2,4	Pott et al., 1987
NaCl-Lösung	–	–	0 / 40	0	0	
Hämatit	19	13	18 / 34	53	2,8	Pott et al., 1994; Pott und Roller, 1994
Magnetit	6,4	4,3	9 / 36	25	3,9	
	19	13	25 / 37	68	3,6	
Aktivkohle	14	9,5	10 / 37	27	1,9	
	29	19	14 / 39	36	1,2	
TiO ₂ , Anatas	7,8	5,2	2 / 39	5,1	0,65	
TiO ₂ , Rutil	9,4	6,3	1 / 39	2,6	0,28	
SiC	12	8,3	4 / 36	11	0,92	
Dieselfuß, LKW	16 ^h	11 ^h	26 / 40	65	4,1 ^h	
Dieselfuß, Daimler-Benz	11 ^h	7,0 ^h	35 / 58	60	5,5 ^h	
	21 ^h	14 ^h	25 / 38	66	3,1 ^h	
Ruß Print. 90	16	11	24 / 37	65	4,1	
NaCl-Lösung	–	–	0 / 39	0	0	
NaCl-Lösung	–	–	0 / 40	0	0	
Dieselfuß, orig.	5,4 ^h	3,6 ^h	8 / 48	17	3,1 ^h	
Dieselfuß, extrahiert ⁿ	5,4	3,6	2 / 48	4,2	0,78	
	11	7,2	10 / 48	21	1,9	
Ruß, 101, extrahiert ⁿ	5,4	3,6	4 / 48	8,3	1,5	
Ruß Print, 90, extrahiert ⁿ	5,4	3,6	11 / 48	23	4,3	
NaCl-Lös., 0,25 % Tween 80	–	–	0 / 47	0	0	

Fußnoten zu Tab. 5.7

- ^a Berechnet aus Partikelmasse und Dichte.
- ^b Der Anteil der GBS-Dosis, die in der Lunge längerfristig verbleibt, wird im Mittel mit 2/3 der instillierten Dosis angenommen.
- ^c Berechnet unter der Annahme eines mittleren Lungengewichts der Kontrolltiere von 1,5 g. Der Wert zeigt den Faktor an, um den der GBS-Gehalt der Lungen höher liegt als der VoIGw.
- ^d Maß für die kanzerogene Potenz eines Staubes in der betreffenden Versuchsgruppe.
- ^e Dichte von Kohle angenommen, da keine Angabe für die Dichte von Aktivkohle verfügbar.
- ^f Anzahl Ratten, die mindestens 18 Monate überlebten.
- ^g Dichte in Analogie zu Ruß angenommen.
- ^h Die Berechnung berücksichtigt nicht, dass nur der Kohlenstoffkern biobeständig ist. Infolgedessen ist zu erwarten, dass die retinierte Partikelmasse geringer ist und der Effekt pro μL Partikeln entsprechend höher. In dem Experiment von DASENBROCK et al. (1996) waren 47 % der Masse extrahierbar; falls dieser Anteil in der Lunge gelöst wird, errechnet sich die doppelte Wirkung pro μL Ruß.
- ⁱ Nach WEAST et al. (1989)
- ^k Gleiche Herkunft wie der Dieselruß aus dem aktuellen Versuch, aber die BET-Oberfläche, die 1987 gemessen wurde, war deutlich größer als das Ergebnis von 2001. Eine Heterogenität von Dieselruß-Oberflächen lässt sich auch an anderen Beispielen zeigen; aber auch beim Industrie-Ruß Printrax 90 wurden Werte zwischen 227 und 337 m^2/g gemessen.
- ^m 16 - 17 Instillationen ungleicher Einzeldosen.
- ⁿ Dreimal 30 Min. Extraktion mit kochendem Toluol. 47 % der Masse wurden vom Dieselruß extrahiert, bei den beiden Industrierußen < 0,1 %.

Stauboberfläche eine wesentlich größere Wirkungsstärke des (nicht ultrafeinen) Tonerstaubs im Vergleich mit Dieselruß und mit den ultrafeinen Industrierußpartikeln. Auch dies ist völlig unplausibel. Schließlich ist zu bemerken, dass die Oberfläche von Dieselruß nur mit großer Unsicherheit angegeben werden kann. Die durch eine gestrichelte Linie verbundenen Punkte in der Abb. 5.13c) markieren die Spannweite, die sich gemäß dem Messwert von 18 m^2/g für nativen Dieselruß und dem Maximalwert von 130 m^2/g für extrahierten Dieselruß ergibt.

Die Abbildungen 4.3, 4.4 und 5.13 sprechen insgesamt dafür, dass übereinstimmend nach Daten aus Inhalations- und Instillationsversuchen die kanzerogene Dosis von in der Rattenlunge retinierten GBS plausibel durch das langfristig retinierte Staubvolumen in Verbindung mit einer Unterscheidung in mehrere Partikelgrößenklassen zu definieren ist. Der Unterschied in der kanzerogenen Potenz nach Instillation im Vergleich zur Inhalation lässt sich bezogen auf das nach zirka 1 Jahr retinierte Staubvolumen im Mittel mit einem Faktor 5 beziffern.

5.5.2 Risikoabschätzung auf Basis der 19-Stäube-Studie in Kombination mit Daten aus Inhalationsversuchen

Die Regressionsanalysen für die 16 GBS unserer großen Instillationsstudie führten zu dem klaren Ergebnis, dass das retinierte Staubvolumen in Verbindung mit Infor-

mation über die mittlere Partikelgröße derzeit als das für die Auswertung von Dosis-Häufigkeitsbeziehungen am besten geeignete Dosismaß anzusehen ist (Abschnitte 4.2 und 4.3). Die Anpassungsgüte war gleich groß, wenn die Partikelgröße in Form von 3 Größenklassen ausgedrückt wurde (Abb. 4.3) und wenn eine stetige Funktion für die Abhängigkeit des Risikos von der mittleren Partikelgröße verwendet wurde (Abb. 4.5). Die stetige Funktion beschreibt dabei einen Anstieg der kanzerogenen Wirkungsstärke mit abnehmender Partikelgröße bzw. eine Abnahme der kanzerogenen Potenz mit zunehmender Partikelgröße (Abb. 4.6). Ein solcher fließender Übergang erscheint biologisch plausibler als scharfe Grenzen mit einem Sprung der kanzerogenen Potenz beim Wechsel der Größenklassen und gleich großen kanzerogenen Potenzen innerhalb der Größenklassen. In Bezug auf die leichtere Handhabbarkeit erscheint unter praktischen Gesichtspunkten aber die Verwendung von drei Größenklassen ausreichend (im Zusammenhang mit der Regulation mag auch eine Differenzierung in zwei Klassen *fein* versus *ultrafein* bzw. *Nanopartikelgröße* ausreichend sein).

Die Abb. 4.3 zeigt die Dosis-Risikobeziehungen für die drei Größenklassen GBS-UF (ultrafein, „Nanopartikeln“, mittlerer Durchmesser 0,01 - 0,03 μm), GBS-KF (kleinfein, 0,09 - 0,2 μm), und GBS-GF (groß-fein, 1,8 - 4 μm). Aus der Abbildung lässt sich im untersten Bereich der entsprechenden Kurve ein Lungentumorrisiko von rund 5 % bei einem langfristig retinierten Volumen an GBS-GF von 1 $\mu\text{L/g}$ ablesen. Mathematisch beträgt die Steigung dort 4,6 % Exzess-Risiko pro 1 $\mu\text{L/g}$; für GBS-KF lautet der Steigungswert 9,6 % pro $\mu\text{L/g}$, für GBS-UF (Nanopartikeln) lautet er 25,9 % pro $\mu\text{L/g}$. Diese Werte nach Instillation müssen für die Situation nach Inhalation korrigiert und dann auf die Expositionskonzentration in der Atemluft umgerechnet werden. Gemäß Abschnitt 5.5.1 ist die auf das langfristig retinierte Staubvolumen bezogene kanzerogene Potenz nach Inhalation im Vergleich zur Instillation um zirka einen Faktor 5 niedriger. In der Begründung des Allgemeinen Staubgrenzwerts der DFG wird angenommen, dass eine Expositionskonzentration von 1,2 $\mu\text{L/m}^3$ (entsprechend einer Massenkonzentration von 3 mg/m^3 bei Partikeln mit einer materialdichte von 2,5 g/mL) zu einer Lungenbeladung von 1 $\mu\text{L/g}$ nach Langzeitexposition (Arbeitsplatz-Zeitmuster) führen. Mit diesen Umrechnungsbedingungen erhält man für Stäube mit einer Dichte von 2 bis 2,5 g/mL folgende Werte für das expositionsbezogene Exzess-Risiko (ER) für das Szenario einer Langzeitexposition, die beim Menschen einem Arbeitsleben (35-45 Jahre) mit 40 Stundenwoche entspricht (ROLLER und POTT, 2006):

ER zirka: 1 % pro 3 mg/m^3 GBS-GF (1,8 - 4 μm)
 0,2 % pro 0,3 mg/m^3 GBS-KF (0,09 - 0,2 μm)
 0,5 % pro 0,3 mg/m^3 GBS-UF (Nanopartikeln).

Für eine Plausibilitätsprüfung lassen sich diese Werte mit anderen Daten vergleichen. So wird z. B. bei UBA (1999) ein Unit Risk für die Exposition gegenüber Dieselruß in der allgemeinen Umwelt angegeben. Das Unit Risk wurde aus Inhalationsversuchen mit Ratten berechnet und entspricht dem Unit Risk von LAI (1992), es beträgt 1×10^{-4} pro $\mu\text{g/m}^3$ bezogen auf den unlöslichen Rußkern der Dieselpartikeln (sog. genannter elemental carbon, EC). Für eine Umrechnung auf das Zeitmuster der Arbeitsplatzsituation wurde Dividieren durch den Faktor 6 vorgeschlagen (CSICSAKY et al., 1993). Damit ergibt sich ein Exzess-Risiko von 0,5 % pro 0,3 $\mu\text{g/m}^3$.

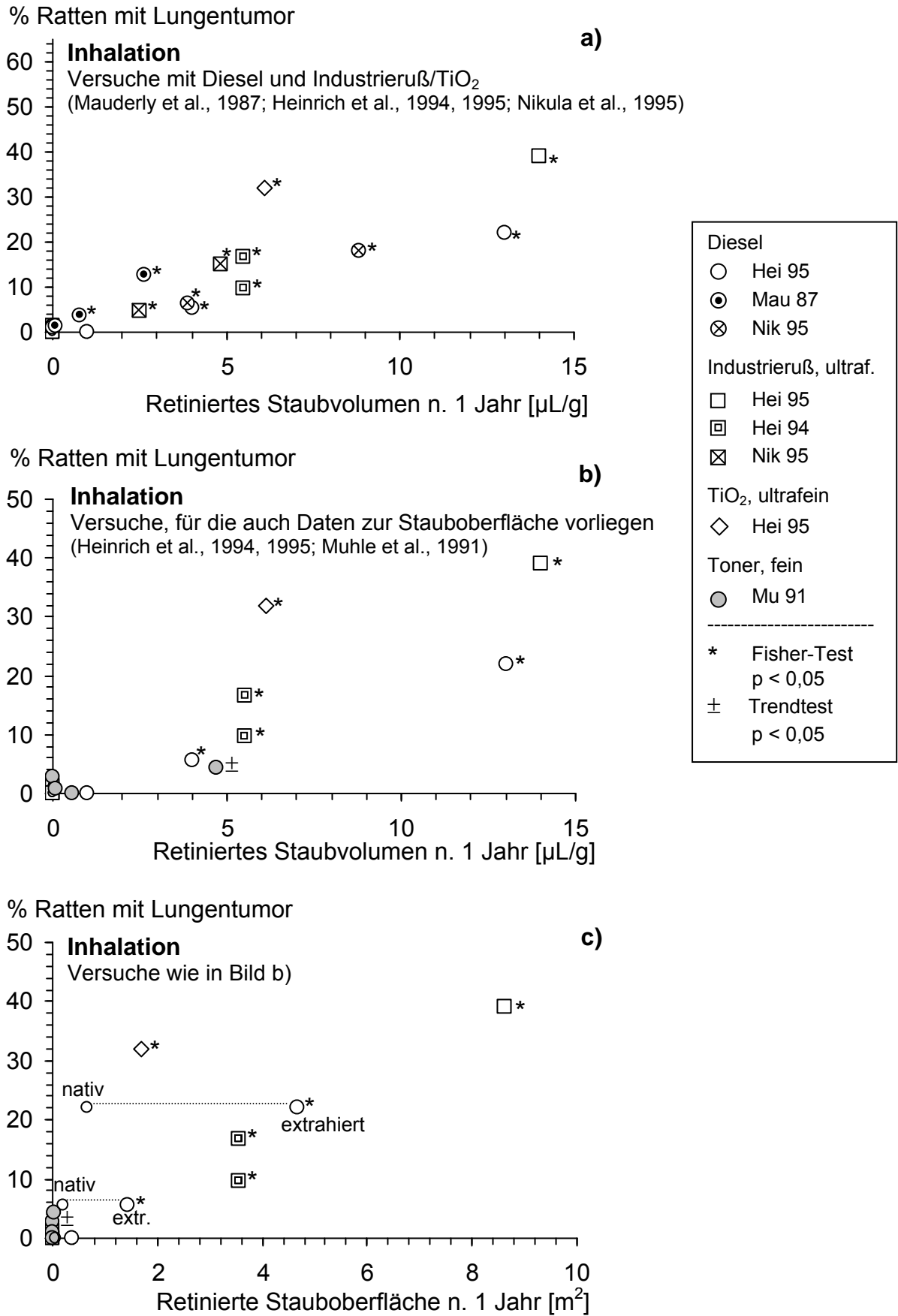


Abb. 5.13 Abbildungs-Unterschrift siehe nächste Seite

Abb. 5.13 Dosis-Tumorhäufigkeitsbeziehungen in Inhalationsversuchen mit Wistar- und Fischer-Ratten (in den Veröffentlichungen von MAUDERLY et al., 1987, und von MUHLE et al., 1997, sind nur kombinierte Tumorhäufigkeiten männliche+weibliche Tiere angegeben; für den Versuch von NIKULA et al., 1995, ist zur Vergleichbarkeit und der Überschaubarkeit halber hier ebenfalls die kombinierte Tumorhäufigkeit männlich+weiblich angegeben; bei HEINRICH et al, 1994, 1995, wurden nur weibliche Tiere verwendet). Die Dosiswerte wurden aus den veröffentlichten Messwerten der Staubmasse nach zirka 1 Jahr Exposition und aus den veröffentlichten Angaben zu Materialdichte und spezifischer Oberfläche der Partikeln berechnet. Die durch eine gestrichelte Linie verbundenen Punkte für Dieselruß markieren die Spannweite, die sich gemäß den von HEINRICH et al. (1995) gemessenen Werten von $18 \text{ m}^2/\text{g}$ für nativen Dieselruß und dem Maximalwert von $130 \text{ m}^2/\text{g}$ für extrahierten Dieselruß ergibt (Anm.: DRISCOLL, 1996, verwendete in seiner Analyse für alle Versuche mit Diesel den Wert $20 \text{ m}^2/\text{g}$). Die Sternchensymbolik bezieht sich auf statistische Signifikanz bei Vergleich der jeweiligen Versuchsgruppe mit der mitlaufenden Kontrollgruppe nach Fisher's exact test. Die oberste Dosisgruppe des Versuchs mit Tonerstaub ist im Einzelvergleich nach Fisher's exact test nicht signifikant, jedoch ist eine Erhöhung der Tumorhäufigkeit über alle Dosisgruppen von der Kontrolle bis zur höchsten Dosisstufe „marginal positiv“ (verallgemeinerter Fisher's exact test $p = 0,049$, Cochran-Armitage Test $p = 0,025$)

Dieser Wert ist identisch mit dem oben abgeleiteten Wert für GBS-UF. Heutzutage halten wir es für eher gerechtfertigt, Dieselpartikeln als klein-fein anzusehen (mittlerer Durchmesser von wirkungsrelevanten Aggregaten $0,2 \mu\text{m}$ - siehe auch SABER et al., 2005, wo ein mittlerer Durchmesser von 215 nm ermittelt wurde), aber das Unit Risk bei UBA (1999) wurde unter der Annahme berechnet, für die biologische Wirkung von Dieselruß seien ultrafeine Partikeln kleiner als 50 nm ausschlaggebend, und in die Berechnungen waren auch Daten von ultrafeinem Titandioxid und ultrafeinem Ruß einbezogen. Wenn daher das Unit Risk von UBA (1999) als Maß der kanzerogenen Potenz von ultrafeinen Partikeln nach Inhalation bei Ratten betrachtet wird, dann stimmt es sehr gut mit dem oben abgeleiteten Wert überein. Auch wenn man nunmehr die Risikoabschätzung für GBS-KF anstatt für GBS-UF auf Dieselruß anwendet, dann unterscheiden sich die Ergebnisse in Anbetracht sonstiger Unsicherheiten, z. B. hinsichtlich der Ratte-Menschübertragung (höheres Risiko nach epidemiologischen Daten gemäß Abschnitt 5.4.15), nicht gravierend. Nach unserer neuen Risikoabschätzung wäre das Unit Risk von UBA (1999) für Dieselruß (EC) um den Faktor 2,5 zu verringern ($0,2 \%$ anstatt $0,5 \%$ pro $0,3 \mu\text{g}/\text{m}^3$). Beim Vergleich mit dem Unit Risk von UBA (1999) für Dieselruß sind zusammengefasst folgende Gesichtspunkte zu berücksichtigen:

- Dieselruß wurde seinerzeit Stäuben mit ultrafeinen Partikelgrößen kleiner als 50 nm gleichgestellt, während wir nunmehr eher Dieselpartikellaggregate mit mittlerer Größe um 200 nm für „repräsentativ“ hinsichtlich der Wirkungsstärke erachten.

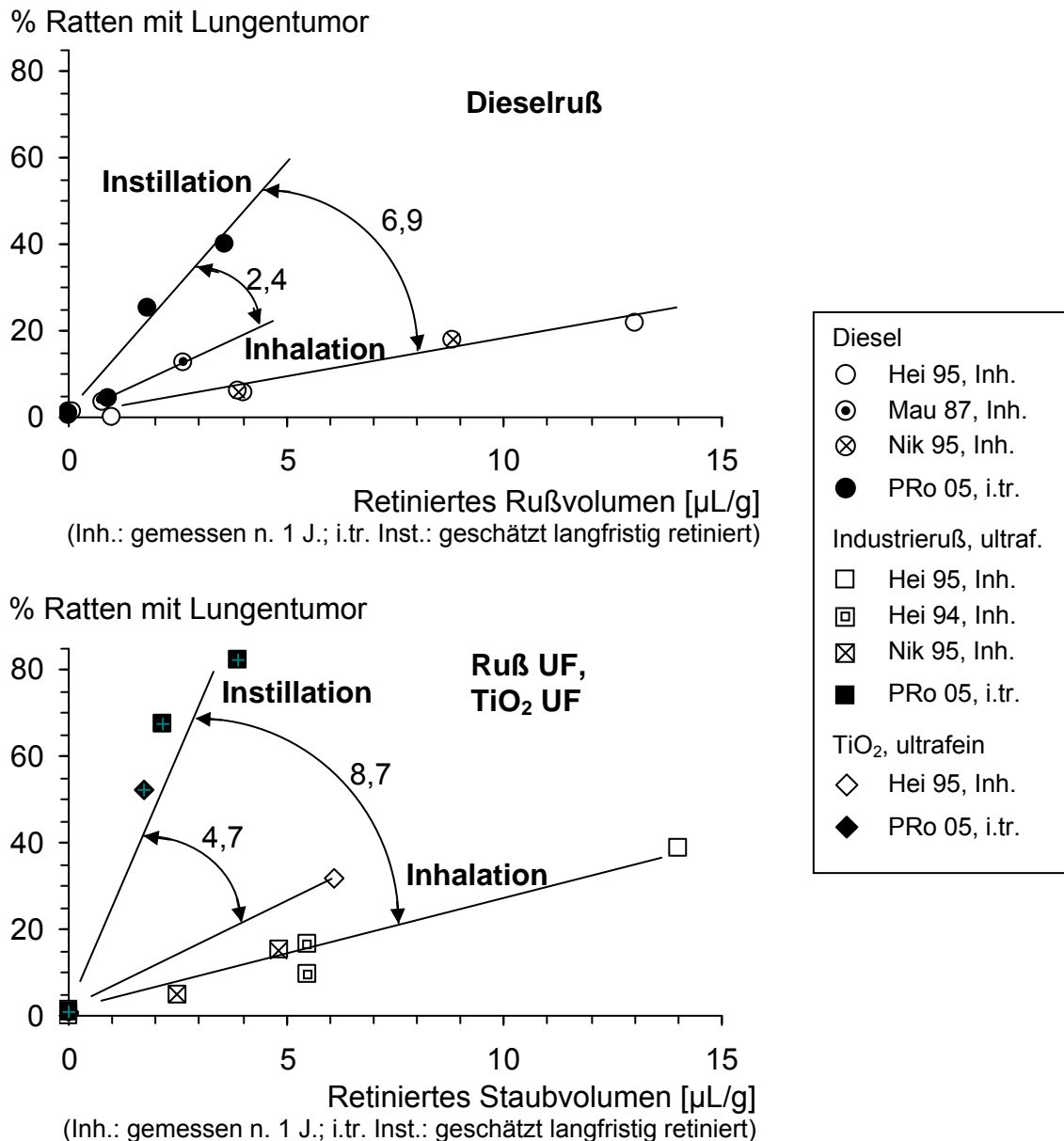


Abb. 5.14 Vergleich von Dosis-Tumorhäufigkeitsbeziehungen in Kanzerogenitätsversuchen mit Inhalation (MAUDERLY et al., 1987; HEINRICH et al., 1994, 1995; NIKULA et al., 1995; siehe auch Abb. 5.13) und mit intratrachealer (i.tr.) Instillation (POTT und ROLLER, 2005)

- Die quantitative Risikoabschätzung bei UBA (1999) wurde unter Verwendung der oberen statistischen 95%-Vertrauensgrenze erstellt, während wir für die vorliegende Arbeit nur Maximum-Likelihood-Schätzungen verwendet haben.
- Trotz der unterschiedlichen Ansätze stimmen die Ergebnisse gut überein.

Für Plausibilitätsbetrachtungen liegen weitere Daten vor. Die Inhalationsstudie mit Tonerstaub von MUHLE et al. (1991) wurde seinerzeit von den Autoren als *negativ* bewertet. In keiner Versuchsgruppe war die Häufigkeit von Ratten mit primärem Lungentumor gemäß Fisher's exact test signifikant gegenüber der mitlaufenden

Kontrolle erhöht. Dabei sind jedoch Überlegungen zur statistischen Power der Studie* sowie die Anwendung von Trendtests wegen des Vorliegens mehrerer Dosisgruppen angebracht (s. auch Abschnitt 5.3.1). In der Studie wurden je Gruppe zirka 120 Ratten eingesetzt (gemäß Tab. 5.6 waren davon in der höchsten Dosisstufe 114 Tiere und in der Kontrollgruppe 111 Tiere auswertbar). Gemäß historischen Kontrollen und gemäß der Summe der niedrigeren Dosisstufen mag von einem Hintergrundrisiko in Höhe von 1,2 % ausgegangen werden (z. B.: Kontrollgruppe und die beiden niedrigeren Dosisgruppen zusammengefasst $4 / 337 = 1,2 \%$). Die statistische Power zum Nachweis eines absoluten Exzess-Risikos in Höhe von 10 % (d. h. Lungentumorhäufigkeit der Exponierten 11,2 % versus Hintergrundrisiko von 1,2 % entsprechend einem relativen Risiko von 9,3) beträgt bei Gruppengrößen von je 120 Individuen zirka 90 %. Die Power einer solchen Studie kann also als ausreichend betrachtet werden, ein tatsächlich vorhandenes Exzess-Risiko in Höhe von 10 % auch nachzuweisen. Die statistische Power zum Nachweis eines absoluten Exzess-Risikos in Höhe von 5 % (d. h. Lungentumorhäufigkeit der Exponierten 6,2 % versus Hintergrundrisiko von 1,2 % entsprechend einem relativen Risiko von 5,2) beträgt bei Gruppengrößen von je 120 Individuen zirka 50 %. Die Power der Studie ist also viel zu gering, um ein tatsächlich vorhandenes Exzess-Risiko in Höhe von 5 % nachzuweisen, d. h. die Wahrscheinlichkeit wäre groß, mit einem solchen Studiendesign ein „negatives“ Ergebnis zu erhalten, auch dann, wenn das wahre Exzess-Risiko der am höchsten Exponierten 5 % betragen würde bzw. wenn deren relatives Risiko (RR) im Vergleich zur Population der Nicht-Exponierten zirka $RR = 5$ betragen würde. Dabei dürfte einerseits Konsens bestehen, dass ein expositionsbedingtes absolutes Krebsrisiko in Höhe von 5 % - oder auch von 1 bis 3 % - als „ethisch hoch-signifikant“ zu betrachten ist. Andererseits betrug die „höchste“ Exposition in dem Toner-Inhalationsversuch zeitlich gewichtet im Mittel nur $4,4 \text{ mg/m}^3$, also nicht viel mehr als der Allgemeine Staubgrenzwert von 3 mg/m^3 gemäß TRGS 900 (ROLLER, 2003a). Dies bedeutet, dass sich hinter dem „negativen“ Ergebnis des Tonerversuchs ein Exzess-Risiko von 5 % beim Allgemeinen Staubgrenzwert verbergen kann. Es ist bereits in Abschnitt 5.3.1 beschrieben, dass die Prüfung auf Anstieg der Lungentumorhäufigkeit mit der Staubbelastung in der Lunge einen p-Wert von mathematisch kleiner als 0,05 und insofern ein „statistisch signifikantes“ Ergebnis ergibt.

Vor diesem Hintergrund kann das Exzess-Risiko der höchsten Dosisstufe in dem Toner-Inhalationsversuch von MUHLE et al. (1991) gemäß folgender Rechnung abgeschätzt werden: $4,4 \% - 1,2 \% = 3,2 \%$. Die Häufigkeit von 4,4 % ist dabei gemäß Tab. 5.6 der höchsten Tonerdosis zugeordnet, die Häufigkeit von 1,2 % ergibt sich als Mittel aus der Kontrollgruppe und den beiden unteren Dosisgruppen. In den beiden unteren Dosisgruppen mit Langzeit-Mittelwerten der Exposition in Höhe von $0,3$ und $1,2 \text{ mg/m}^3$ ($0,35$ und $1,5 \text{ mg/m}^3$ im Experiment) kann dabei auch ein expositionsbedingtes Exzess-Risiko vorhanden sein, dies ist aber rechnerisch verglichen mit dem Hintergrundrisiko relativ gering, sodass die beobachteten Tumorhäufigkeiten in diesen Gruppen in jedem Fall mehr über das Hintergrundrisiko als über das expositionsbedingte Risiko aussagen. Somit lässt sich ein Exzess-Risiko in Höhe von 3,2 % für die Toner-Konzentration von $4,4 \text{ mg/m}^3$ abschätzen, entsprechend einem Exzess-Risiko von zirka 2 % bei 3 mg/m^3 . Dieser Wert ist doppelt so hoch wie der oben abgeleitete von 1 % pro 3 mg/m^3 für GBS-GF. Dieser bezieht sich aber auf Stäube mit

* Überlegungen zur statistischen Power sollten vor Beginn jeder Studie angestellt werden; insbesondere wenn das Ergebnis als „negativ“ bezeichnet wird, sollten sie auch veröffentlicht werden.

einer Dichte von 2 bis 2,5 g/mL, und der Tonerstaub hatte eine Dichte von 1,2 g/mL. Bezogen auf das Staubvolumen stimmen die beiden Risikoabschätzungen daher gut überein.

Mit Tonerstaub wurde außerdem ein anderer Langzeit-Inhalationsversuch durchgeführt (MORIMOTO et al., 2005). Als höchste Expositionskonzentration in diesem Versuch sind 15,2 mg/m³ Tonerstaub angegeben, dies ist als E-Staub zu verstehen, die Konzentration ist somit nicht höher als in dem Versuch von MUHLE et al. (1991). Die längste Beobachtungszeit betrug bei MORIMOTO et al. (2005) 2 Jahre, wobei 2,5 Jahre zu fordern wären. Offensichtlich wurde dabei unter 13 Ratten kein Tier mit Lungentumor gefunden. In Anbetracht der niedrigen Exposition, zu kurzen Beobachtungsdauer und kleinen Tierzahl widersprechen diese Ergebnisse den obigen Risikoableitungen nicht. Auch bei diesem sogenannten negativen Ergebnis sind wiederum die Überlegungen zur Studienpower und Unsicherheit zu berücksichtigen.

Schließlich können zum Vergleich auch Daten nach Quarzexposition betrachtet werden. Eine quantitative Risikoabschätzung für Quarz hat zu einem Wert von 1 % für das Exzess-Lungenkrebsrisiko nach langfristiger beruflicher Exposition gegenüber 0,05 mg/m³ SiO₂ geführt (SCHLÜTER, 2003). Die Abschätzung stützte sich besonders auf eine Inhalationsstudie mit Quarz DQ12. Die umfassende logistische Regressionsanalyse der 19-Stäube-Studie, in die auch Nicht-GBS einbezogen waren, ergab ein Odds Ratio von 30 für Quarz DQ12 im Vergleich mit GBS-GF (Abschnitt 4.2). Wenn man das spezifische Risiko für Quarz um diesen Faktor 30 verringert, dann folgt ein spezifisches Risiko von 3,3 x 10⁻⁴ pro 0,05 mg/m³ bzw. von 2 % pro 3 mg/m³. Auch diese Abschätzung ist innerhalb der Größenordnung des weiter oben berechneten Werts von zirka 1 % pro 3 mg/m³ GBS-GF.

Die beschriebenen Risikoabschätzungen anhand der Daten von Ratten führen demnach zu einem niedrigeren expositionsbezogenen Risiko als die in Abschnitt 5.4.1.5 aufgeführten Risikoabschätzungen nach Dieselrußexposition an Arbeitsplätzen und die Risikoabschätzung von WICHMANN (2004) für Dieselruß in der allgemeinen Umwelt.

5.6 Spezifisch toxische granuläre bio-beständige Stäube

5.6.1 Quarzhaltige Stäube

Siliziumdioxid (SiO₂; engl. *silica*) kann in verschiedenen Modifikationen und Varianten vorliegen. Amorphes SiO₂ wird auch als amorphe Kieselsäure bezeichnet. Für kristallines SiO₂ werden umgangssprachlich zwar auch die Begriffe „kristalline Kieselsäure“ und „Quarz“ verwendet, chemisch/mineralogisch bezeichnet „Quarz“ (bzw. α-Quarz, CAS-Nr. 14808-60-7) jedoch nur eine bestimmte Form von kristallinem Siliziumdioxid, allerdings die häufigste. Tridymit (CAS-Nr. 15468-32-3) und Cristobalit (CAS-Nr. 14464-46-1) sind weitere Modifikationen. Die durch *silica* hervorgerufene Staublungenerkrankung wird als Silikose bezeichnet, die - fortschreitend - in hochgradiger Lungenfibrose mit Schwielenbildung gipfeln und zum Tode führen kann. Wegen der silikogenen Wirkung bestanden für Quarz seit langem besondere Staubgrenzwerte, der MAK-Wert betrug zuletzt 0,15 mg/m³. In den 90er Jahren wurde kristallines Siliziumdioxid in der Form von Quarz und Cristobalit von der IARC (1997) als Humankan-

zerogen bewertet (*Silica, crystalline, inhaled in the form of quartz or cristobalite from occupational sources: Group 1: Carcinogenic to humans*). Eine EU-Einstufung besteht nicht, jedoch wurde in der Folge der IARC-Bewertung kristallines Siliziumdioxid als Kategorie-1-Kanzerogen in den Abschnitt III der MAK- und BAT-Werte-Liste aufgenommen (GREIM, 1999; DFG, 2006). Der MAK-Wert wurde deshalb ausgesetzt. Weiterhin erfolgten Beratungen in den zuständigen Arbeitskreisen des Ausschusses für Gefahrstoffe (AGS) und der AGS beschloss, dass kristallines Siliziumdioxid in Form von Quarz und Cristobalit (alveolengängiger Staubanteil, aerodynamischer Partikeldurchmesser $\leq 12 \mu\text{m}$) krebserzeugende Wirkung am Menschen hat. In der Folge wurde kristallines Siliziumdioxid folgendermaßen in das Verzeichnis krebserzeugender Tätigkeiten oder Verfahren der TRGS 906 aufgenommen *„Tätigkeiten oder Verfahren, bei denen Beschäftigte alveolengängigen^(*) Stäuben aus kristallinem Siliziumdioxid in Form von Quarz und Cristobalit ausgesetzt sind“*.

Im Zuge der AGS-Einstufung wurde das potenzielle Lungenkrebsrisiko durch Quarz intensiv in dem befassten Arbeitskreis diskutiert, die Ergebnisse wurden unter anderem bei dem oben erwähnten Workshop veröffentlicht (SCHLÜTER, 2003; ROLLER, 2003b). Beim Stand des Jahres 2002 war gemäß Daten nach Inhalation von praktisch reinem Quarzstaub bei Ratten auf ein Exzess-Lungentumorrisiko von ungefähr 1 % pro $0,05 \text{ mg/m}^3$ alveolengängigem Quarz zu schließen (unter der Bedingung einer regelmäßigen Exposition über einen Zeitraum, der beim Menschen dem gesamten Arbeitsleben entsprechen würde; ROLLER, 2002, 2003b). Zum Vergleich mit dem quarzbedingten Lungenkrebsrisiko beim Menschen wird bei ROLLER (2003b) auf eine IARC-Analyse eingegangen. Für diese Analyse epidemiologischer Daten wurden 10 Kohortenstudien unter Vereinigung der Datensätze neu ausgewertet (STEENLAND et al., 2001). Die Mediane der kumulativen Expositionen dieser Studien liegen durchweg unterhalb von $12 \text{ mg/m}^3\text{-Jahre}$ (alveolengängiges Siliziumdioxid). Die SMR- oder SRR-Werte der Studien sind überwiegend erhöht (1,2 bis ca. 2), teilweise statistisch signifikant, teilweise an der Grenze zur statistischen Signifikanz. Aufgrund dieser Studien erscheint der Bereich kumulativer Expositionen von $6 \text{ mg/m}^3\text{-Jahre}$ bereits sehr deutlich mit erhöhten Lungenkrebsrisiken assoziiert. Bei angenommener 40-jähriger Expositionsdauer entspricht eine solche kumulative Exposition rechnerisch einer durchschnittlichen Konzentration von $0,15 \text{ mg/m}^3$. Das Exzess-Lungenkrebsrisiko, das mittels Regressionsanalyse anhand der vereinigten Datensätze von den Autoren für eine 45-jährige Exposition berechnet wurde, beträgt 1,1 bis 1,7 % bei $0,10 \text{ mg/m}^3$. Für eine der 10 Kohortenstudien wurde auch eine quantitative Risikoabschätzung gesondert veröffentlicht (RICE et al., 2001). Die Expositions-Risikobeziehung liegt für diese Studie, bei der eine Exposition überwiegend gegenüber Cristobalit anzunehmen ist, mit einem angegebenen Exzess-Risiko von 1,9 % pro $0,05 \text{ mg/m}^3$ ein wenig höher.

Die beiden neueren Arbeiten von ATTFIELD und COSTELLO (2004) sowie STEENLAND (2005) bestätigen die genannten Zahlenwerte des quantitativen Zusammenhangs zwischen Exposition und Lungenkrebsrisiko. ATTFIELD und COSTELLO (2004) untersuchten die Expositions-Risikobeziehungen bei Granitarbeitern in Vermont, USA. Sie kamen zu dem Schluss, dass die Ergebnisse ihrer Studie an Arbeitern, die fast ausschließlich gegenüber Siliziumdioxid und keinen anderen wesentlichen beruflichen Confoundern ausgesetzt waren, eine klare Expositions-Risikobeziehung für Lungenkrebs anzeigen. Für das Szenario einer Exposition gegenüber $0,05 \text{ mg/m}^3$ im Alter von 20 bis 64 Jahren berechneten sie ein Exzess-

Risiko für männliche, weiße Arbeiter in Höhe von 27 zu 1000 (2,7 %). STEENLAND (2005) berechnete das spezifische Risiko für Lungenkrebs auf der Basis einer gepoolten Analyse von 10 Kohortenstudien. Die Berechnung mit Hilfe der Hintergrundraten der männlichen US-Bevölkerung ergab ein Exzess-Risiko in Höhe von 1,7 % (0,2 % - 3,6 %) für das Szenario einer 45jährigen Exposition gegenüber 0,1 mg AQS/m³ am Arbeitsplatz.

Vor diesem Hintergrund ist die immer wieder diskutierte Frage zu sehen, welcher Wirkungsanteil dem Quarz in Kohlengrubenstaub zukommt bzw. ob Quarz überhaupt die Toxizität von Kohlengrubenstaub modifiziert. Einige Gesichtspunkte zu dieser Frage sind bereits weiter oben in den Abschnitten 5.3.6 und 5.4.2 angesprochen, weitere Gesichtspunkte sind im Folgenden beschrieben. Eine sichere Antwort auf die Frage erscheint bis heute nicht möglich.

In der 19-Stäube-Studie wurde ein Grubenstaub mit 16,7 % Quarz und 86 % Asche, der aus der Luft in einer Straße untertage gesammelt worden war, in zwei Dosen instilliert, die insgesamt 10 und 20 mg Quarz in 60 und 120 mg Gesamtstaub enthielten. Dieser Grubenstaub hatte nicht nur eine erheblich geringere kanzerogene Wirkung als die gleiche Quarzdosis des reinen DQ 12, sondern auch eine etwas schwächere Wirkung als das gleiche Volumen der beiden anderen Grubenstäube mit geringerem Quarzgehalt (Ascheanteile etwa 40 und 60 %) und der beiden reinen Kohlenstäube (Asche 5 und 6 %). Aufgrund dieser Ergebnisse haben wir auch die Grubenstäube im Rahmen unserer Studie als GBS bewertet und in die Berechnung der Dosis-Wirkungsbeziehungen einbezogen. Eine Erklärung dafür, dass der hohe Quarzanteil keine erkennbare spezifische Wirkung zeigte, findet sich in einer nahe liegenden Analogie zu dem bekannten Hemmeffekt der Begleitminerale auf die Quarzfibrogenität. Diese Zusammenhänge sind in dem sogenannten R2-Programm der Bergbau-Forschung eingehend untersucht worden. Die Ergebnisse wurden von SCHLIPKÖTER et al. (1982) zusammengefasst. Aus den Forschungsbefunden dieses Programms wurde unter anderem der Schluss gezogen, dass die Verwachsungen der Quarzoberfläche mit dem Mineralanteil im Grubenstaub ansteigen und dadurch die toxische Potenz der Quarzpartikeln sinkt („Maskierung“ der Quarzoberfläche).

Insgesamt ist die Literatur über tierexperimentelle Ergebnisse mit Kohlen- bzw. Grubenstäuben außerordentlich umfangreich. Zu den histologischen Befunden, die an Lungen von Ratten erhoben wurden, die über längere Zeit Kohlenstaub ohne zusätzliche Quarzbeimengungen inhaliert haben oder denen quarzärmer Kohlenstaub intratracheal verabreicht wurde, zählen Ansammlungen staubbelasteter Makrophagen, Entzündungserscheinungen (Alveolitis, alveoläre Lipoproteinose) und leichtere Formen der Fibrose sowie Hyperplasien (RAY et al., 1951b; BUSCH et al., 1981; KARAGIANES et al., 1981; LE BOUFFANT et al., 1982; ROBERTSON et al., 1988; LEWIS et al., 1986, 1989). Die Veränderungen wurden als zu einem großen Teil der sogenannten Mischstaubsilikose (CWP, coal worker's pneumoconiosis) des Menschen ähnlich bezeichnet, wobei die Hyperplasie und eine als Bronchiolisation bezeichnete Umwandlung des Plattenepithels der Alveolen in Zylinderepithel als Ausnahme betrachtet wurde (KARAGIANES et al., 1981; BUSCH et al., 1981).

Mehrfach wurde die Frage untersucht, welche Bestandteile von Grubenstäuben die Toxizität bestimmen und insbesondere welche Bedeutung dem Quarzgehalt zukommt. Die Tabelle 5.8 zeigt beispielhaft Ergebnisse quantitativer Untersuchungen der Arbeitsgruppe von Martin bzw. Le Bouffant, bei denen das Lungengewicht und die über den Hydroxyprolinegehalt ermittelte Kollagenbildung als Effektmaß dienten. Die Befunde zeigen einen deutlichen Anstieg der Effektintensität, wenn zu Kohlenstäuben zusätzlich Quarz beigemischt wurde. Jedoch hatten natürliche Stäube mit ähnlichen Quarzgehalten schwächere Wirkungen als entsprechende Quarzbeimischungen (LE BOUFFANT et al., 1982). Umgekehrt schienen sogar die Verbrennungsrückstände verschiedener Kohlen die Kollagenbildung durch Quarz zu vermindern (MARTIN et al., 1972). Die Steigerung der fibrogenen Wirkung von Kohlenstäuben durch Quarzbeimischungen hatten bereits ROSS et al. (1962) beschrieben, die neben der Kollagenbestimmung eine semiquantitative morphologische Charakterisierung durchführten. Bei einer Beimischung von 5 bzw. 10 % Quarz zu Anthrazit-Kohle war nach 17 Monaten inhalativer Exposition (bei einer Äquivalenzkonzentration von 120 mg/m^3) eine als Grad 1 bis 2 bezeichnete Fibrose feststellbar (Retikulinfasern locker bis dicht, ohne oder mit wenig Kollagenfasern; Skala von 0 bis 5). Hundert Tage nach Ende einer 10monatigen Exposition bei einem Quarzanteil von 40 % wurde dagegen ein Fibrosegrad von 3 bis 4 gefunden (teilweise noch zelluläre bis gänzlich aus Kollagenfasern bestehende, praktisch azelluläre Bereiche). Bereits 1951 (a, b) beschrieben RAY u. Mitarb. verschiedene Fibrosegrade nach intratrachealer Instillation von jeweils etwa 100 mg verschiedener Kohle-Quarzmischungen. Bei aschearmer Anthrazit-Kohle wurden mikroskopisch Kohlepartikeln in einem feinen Netz von Retikulinfasern gefunden. Dieser Befund, der dem Bild nach Gabe von reinem Graphit ähnelte, wurde als Fibrosegrad 0 bis 1 eingestuft. Mit Quarzbeimischungen traten Fibrosegrade bis „4“ etwa in dem Umfang auf, der durch die entsprechende Menge reinen Quarzes erwartet wurde.

Zur Bedeutung des natürlichen Quarzgehaltes von Grubenstäuben wurden in den 70er und 80er Jahren umfangreiche Untersuchungen in Deutschland durchgeführt. Dabei wurde häufig die Methode der intratrachealen Instillation benutzt, da sich Inhalationsversuche als nicht hinreichend empfindlich gezeigt hatten, um die fibrogene Wirkung eines Staubes für eine quantitative Erfassung deutlich zu machen oder die vom Menschen bekannte fibrogene Wirkung kohlereicher, quarzärmer Stäube an Ratten überhaupt nachzuweisen (HILSCHER et al., 1987). In Intratrachealversuchen mit 43 BAT-II-Feinstäuben fanden ROSMANITH et al. (1981, 1982, 1983) keine gute Korrelation zwischen dem Quarzgehalt und der Stärke der fibrotischen Reaktion, die über das Lungenfeuchtgewicht und den Hydroxyprolinegehalt der Lunge gemessen wurde. In den Versuchen waren die Messungen 6 und 12 Monate nach der intratrachealen Instillation von je 50 mg an weibliche Wistar-Ratten durchgeführt worden. Die Quarzgehalte der Stäube lagen zwischen 0,3 und 15 %. Auch die Probe mit dem kleinsten Quarzgehalt war nach 6 Monaten mit einem erhöhten mittleren Lungengewicht (2,05 g) verbunden (beim höchsten Quarzgehalt 2,20 g, Kontrolle 1,5 g). In einigen Gruppen waren lichtmikroskopisch eindeutige Fibrosen im Lungenparenchym feststellbar. Bemerkenswert war, dass die histologisch erkennbaren Fibrosen nicht mit den chemischen Kollagenanalysen (Hydroxyprolinegehalte) korrelierten. Bei ROSMANITH et al. (1982) wird ein sich andeutender Einfluss des Quarzgehaltes insofern beschrieben, als in 5 Gruppen eine besonders deutliche fokale oder diffuse Fibrose mit Kollagenvermehrung in Lunge und Lymphknoten gefunden wurde.

Tab. 5.8 Untersuchungsergebnisse der Arbeitsgruppen von Martin bzw. Le Bouffant zur Bedeutung des Quarzgehaltes für die Fibrogenität von Stein-
kohlenstaub bei Ratten

Staub	Äquivalenz- konz.^a bzw. instillierte Masse	Beobacht.- zeitpunkt	Staub pro Lunge [mg]	Kollagen [mg]	Lungen- feucht- gewicht [g]
<u>Inhalation (Expositionsdauer 12 bis 24 Mon.; MARTIN et al., 1977)</u>					
Kohle	63 mg/m ³	12/24 Mon.	43/ 96	21/ 66	2,6 / 4,0
Kohle + 10 % Quarz	63 mg/m ³	12/24 Mon.	43/ 97	19/125	2,9 / 7,0
Kontrollen		12/24 Mon.			1,3 / 1,7
<u>I.tr. Instillation (MARTIN et al., 1977)</u>					
TiO ₂	50 mg	3 Mon.	-	9	1,9
Kohle	50 mg	3 Mon.	-	12	1,9
Illit	50 mg	3 Mon.	-	22	2,2
Kaolin	50 mg	3 Mon.	-	24	1,8
Muskovit	50 mg	3 Mon.	-	26	3,3
Quarz	30 mg	3 Mon.	-	80	5,2
<u>Inhalation (Expositionsdauer 12 Mon.; LE BOUFFANT et al., 1982)</u>					
Kohle + 16 % Quarz	63 mg/m ³	12/24 Mon.	38/ -	68/150	4,5 / 5,7
Kohle mit 13 % Quarz	63 mg/m ³	12/24 Mon.	62/ -	32/ 55	3,4 / 3,5
Kohle + 4,2 % Quarz	63 mg/m ³	12/24 Mon.	42/ -	19/ 98	3,0 / 5,2
Kohle mit 5,4 % Quarz	63 mg/m ³	12/24 Mon.	60/ -	21/ 35	2,8 / 2,7
Kohle (ca. 0,5 % Quarz)	63 mg/m ³	12/24 Mon.	43/ -	20/ 41	2,6 / 3,1
<u>Inhalation (MARTIN et al., 1972)</u>					
Kohle	bis zu	18 Monate		17	2,2
Kohle + 4 % Quarz	225	nach Ende		33	2,8
Kohle + 7 % Quarz	mg/m ³	3-monatiger		52	3,7
Kohle + 18 % Quarz		Exposition		81	5,1

Tab. 5.8 Fortsetzung

Staub	Äquivalenz- konz.^a bzw. instillierte Masse	Beobacht.- zeitpunkt	Staub pro Lunge [mg]	Kollagen [mg]	Lungen- feucht- gewicht [g]
<u>I.tr. Instillation (MARTIN et al., 1972)</u>					
Kohle A, B, C, D, E, F 1,5-25 % Mineralien, max 1,8 % Quarz	50 mg	3 Mon.	19 - 41	9 - 15	
Quarz	4 mg	3 Mon.	2	20	
Quarz	7,5 mg	3 Mon.	4	27	
Quarz	20 mg	3 Mon.	9	80	
Mischungen mit den Verbrennungsrückständen (= x mg) von jeweils 50 mg der Koh- len A-F					
7,5 mg Quarz + x mg Asche	7,5 + x mg	3 Mon.	-	3 - 11	
Kohle C	50 mg	3 Mon	19	9	
Kohle C + Quarz	50 + 4 mg	3 Mon.	30	12	
Kohle C + Quarz	50 + 7,5 mg	3 Mon.	23	16	
Kohle C + Quarz	50 + 20 mg	3 Mon.	34	27	
TiO ₂	50 mg	3 Mon.	0 (Quarz)	9	
TiO ₂ + Quarz	50 + 4 mg	3 Mon.	1,6 (")	33	
TiO ₂ + Quarz	50 + 7,5 mg	3 Mon.	2,8 (")	29	
TiO ₂ + Quarz	50 + 20 mg	3 Mon.	7,85 (")	91	
Behandelter Quarz					
mit Mineralien		3 Mon.	17 (SiO ₂)	6	
mit Wasser		3 Mon.	17 (")	92	
unbehandelt		3 Mon.	11 (")	91	

^a Aus den Autorenangaben linear umgerechnet auf eine theoretische Exposition an 40 Wochen-
stunden

und die entsprechenden Stäube die höchsten Asche- und Quarzgehalte der aus den Lymphknoten wiedergewonnenen Stäube aufwiesen. Die fehlende Nachweisbarkeit eines Zusammenhangs zwischen Quarzgehalt und Lungenmasse mag auch damit zusammenhängen, dass bei einer maximalen Erhöhung des Gewichts nach 6 Monaten auf 2,8 g gegenüber 1,5 g der Kontrollen und Standardabweichungen pro Gruppe von bis zu 1 g andere Einflussgrößen wie Partikeldurchmesserverteilungen oder der Zufall mögliche Einflüsse überlagerten.

In späteren Experimenten wurden mit den prinzipiell gleichen Methoden unterschiedliche Partikelgrößenfraktionen einer kleineren Zahl von Trockenfilterstäuben (TF) untersucht (REISNER et al., 1985; ROSMANITH et al., 1985; KYSILKA et al., 1985). Die Tabellen 5.9 und 5.10 geben einige Kenndaten der Proben wieder. Die Abbildungen 5.15 und 5.16 zeigen, dass in diesen Versuchen grundsätzlich eine Abhängigkeit der Fibrosebildung vom Quarzgehalt von Grubenstaub erkennbar ist und dass dabei das Feuchtgewicht der Lunge mit ihrem als Hydroxyprolin gemessenen Kollagengehalt korreliert.

WELLER (1982) verabreichte je 50 mg von 10 Grubenstäuben mit Quarzgehalten zwischen annähernd null und 14 % sowie 2 mg von DQ12 intraperitoneal an weibliche Sprague-Dawley Ratten und bestimmte nach 6, 12 und 18 Monaten die Gewichte von Abdominalorganen und mesenterialen Lymphknoten. Er bezeichnete alle Stäube als fibrogen, wobei der Gewichtsanstieg von großem Netz und Lymphknoten nur bei DQ12 herausragend war, bei den anderen Stäuben war die Gewichtssteigerung bezogen auf die Quarzmenge geringer und nicht konstant. Histologisch waren die Veränderungen qualitativ ähnlich, aber quantitativ unterschiedlich, z. B. zeigte Staub mit niedrigem Asche- und relativ hohem Quarzgehalt eine Fibrose mit mehr oder weniger dichten Retikulin- und Kollagenfasern und Staub mit hohem Asche- und Quarzgehalt eine Fibrose mit breiten hyalinen Streifen. Quarzreiche Stäube entwickelten tendenziell ein dichteres Netzwerk kollagener Fasern.

Als besonderes Versuchsmodell zur Beschreibung der Fibrogenität wurde ein quantitativer Lymphknotentest eingesetzt, bei dem sogenannte quarztypische Areale (QTA), d. h. Ansammlungen von Staubpartikeln, Makrophagen, epitheloiden Zellen und Fibroblasten, in den mediastinalen Lymphknoten von Ratten morphometrisch untersucht wurden. Auch dabei konnte nicht konsistent ein klarer Zusammenhang zwischen Quarzgehalt und Effekt, in diesem Fall Ausdehnung der QTA, festgestellt werden. BRUCH et al. (1982) fanden nach intraperitonealer Verabreichung von je 50 mg von 50 Stäuben nach 6 Monaten keine einfache Abhängigkeit der Größe der QTA vom Quarzgehalt der Stäube, schlossen jedoch nach multivariater statistischer Analyse auf eine signifikante Korrelation einer Diskriminanzfunktion als Effektmaß mit dem Mineral- und Quarzgehalt. HILSCHER et al. (1983) stellten nach Instillation von mehr als 20 Grubenstäuben positive Korrelationen der Mineralgehalte mit der Staubablagerungsfläche in den mediastinalen Lymphknoten der Ratten („Lymphotropismus“) fest und (dementsprechend) auch mit der Ausdehnung der QTA. Die Korrelation zwischen Quarzgehalt und QTA war zwar mit $p = 0,015$ statistisch gesichert, besser war aber die Korrelation mit der freien Quarzoberfläche ($p = 0,001$).

Tab. 5.9 Kenndaten von vier Trockenfilterstäuben (TF), die in den 80er Jahren für zahlreiche arbeitsmedizinisch-toxikologische Untersuchungen verwendet wurden (REISNER et al., 1985)

Staub	Stratigraphischer Horizont	Flöz	Asche %	Dichte [g/cm ³]
TF1	Westfal A, Wittener Schichten	Finefrau	88,4	2,384
TF3	Westfal B, Essener Schichten	F	21,1	1,457
TF4	Westfal B, Essener Schichten	I 1/2	69,2	2,008
TF5	Stephan A, Ottweiler Gruppe	Schwalbach	75,5	2,079

Tab. 5.10 Retention und Lymphknotenpenetration (Ly.kn.) verschiedener Fraktionen von Trockenfilterstäuben (s. Tab. 5.9) nach intratrachealer Instillation bei Wistar-Ratten in einmaliger Dosis von 50 mg (REISNER et al., 1985; ROSMANITH et al., 1985)

Staubprobe	Partikelgr. (Median) [µm]	Spezif. Oberfl. [m ² /g]	Quarzgehalt [%]	Staub/Lunge [mg]		HWZ ^a [Tage]	Staub/Ly.kn. [mg]	
				6 Mo.	12 Mo.		6 Mo.	12 Mo.
TF1-KB	7,8	1,09	24,6	14,71	16,56	∞	0,06	0,2
TF1-KC	4,7	1,78	19,0	17,09	18,84	∞	0,3	0,49
TF1-KD	3,3	1,82	19,4	25,01	21,18	759	1,67	0,9
TF1-KE	1,9	3,16	11,6	24,01	20,37	767	2,95	3,93
TF3-KB	6,8	1,49	2,4	24,65	23,80	3595	0,12	0,25
TF3-KC	4,9	1,99	2,6	26,50	21,83	651	0,5	0,66
TF3-KD	3,5	2,44	2,8	22,88	21,46	1969	0,7	0,95
TF3-KE	2,3	3,78	3,6	26,24	22,29	773	1,17	1,49
TF4-KB	5,8	1,62	20,0	24,49	24,49	∞	0,37	0,22
TF4-KC	4,6	1,83	19,3	24,91	17,88	380	0,81	0,64
TF4-KD	3,3	2,08	18,3	22,24	15,01	321	1,41	1,05
TF4-KE	2,0	3,11	13,2	21,78	21,39	6982	2,26	3,22
TF5-KB	5,7	1,64	28,9	18,11	19,54	∞	0,52	0,5
TF5-KC	4,3	1,64	28,9	22,50	19,21	798	0,77	0,78
TF5-KD	3,3	2,00	25,9	19,61	17,97	1444	1,54	1,27
TF5-KE	2,0	2,99	15,4	18,74	13,87	419	3,31	3,77

^a HWZ: Eliminationshalbwertszeit für den Staub in der Lunge; berechnet aus den Autorenangaben nach:

$$HWZ = \ln(2) * 182 \text{ Tage} / [\ln(\text{Staub}_{6\text{Mo}}/\text{mg}) - \ln(\text{Staub}_{12\text{Mo}}/\text{mg})],$$

falls $\text{Staub}_{6\text{Mo}} > \text{Staub}_{12\text{Mo}}$; $HWZ = \infty$, falls $\text{Staub}_{6\text{Mo}} \leq \text{Staub}_{12\text{Mo}}$

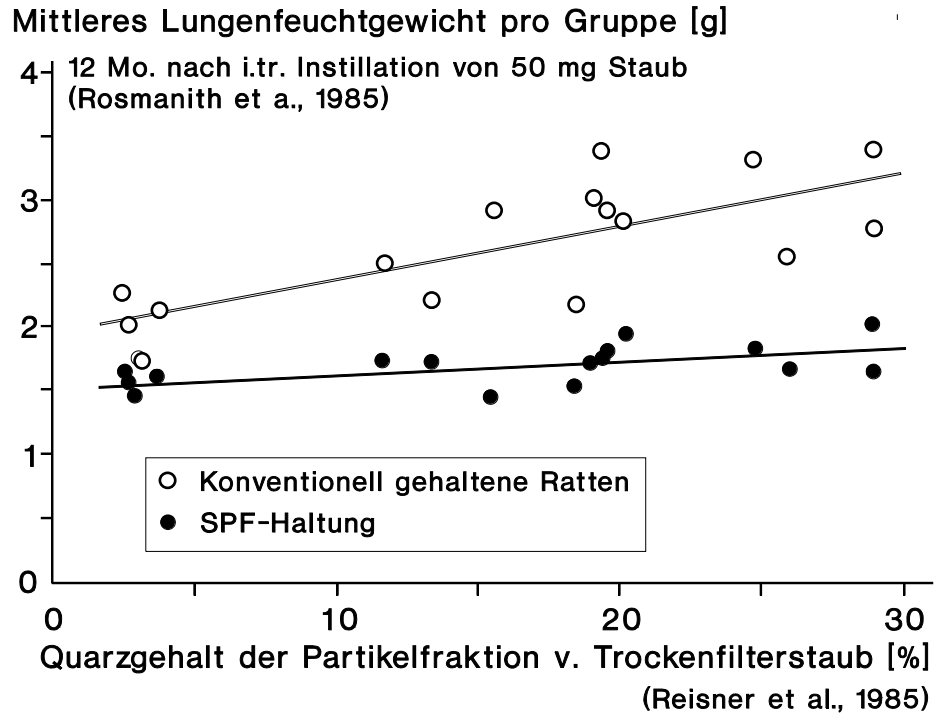


Abb. 5.15 Zusammenhang zwischen dem Lungenfeuchtgewicht von Ratten und dem Quarzgehalt intratracheal verabreichter Grubenstaubproben (Partikelgrößenfraktionen von Trockenfilterstäuben; s. Tab. 5.9 und 5.10; REISNER et al., 1985; ROSMANITH et al., 1985)

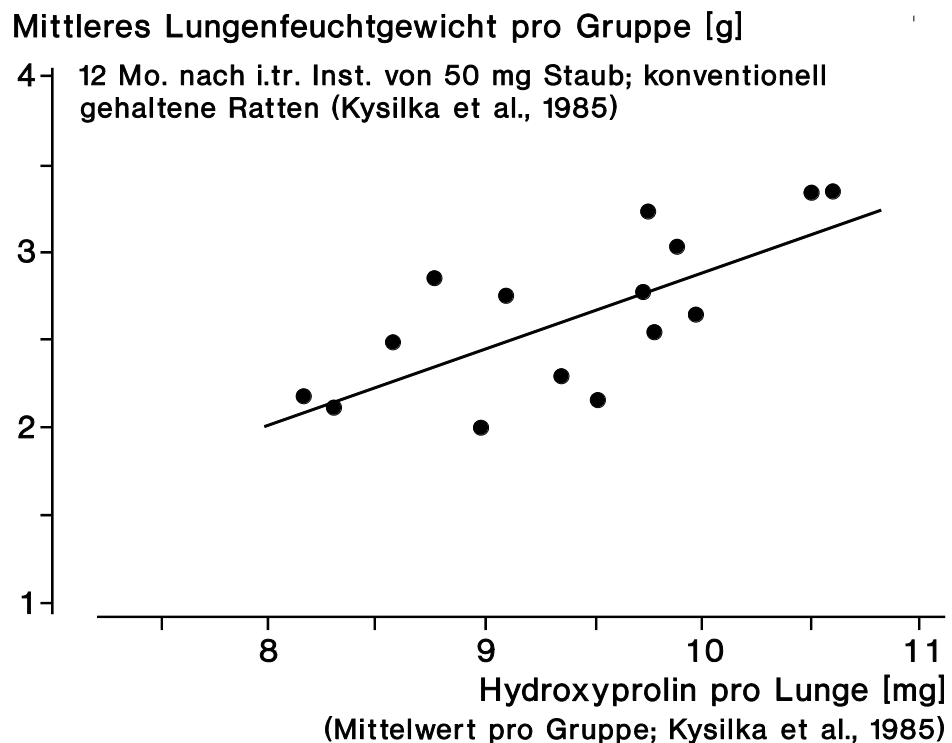


Abb. 5.16 Zusammenhang zwischen dem Lungenfeuchtgewicht von Ratten und dem Hydroxyprolinegehalt der Lungen 12 Monate nach intratrachealer Instillation von Grubenstaubproben (Partikelgrößenfraktionen von Trockenfilterstäuben; s. Tab. 5.9 und 5.10; KYSILKA et al., 1985)

Die verschiedenen Partikelfractionen der bereits erwähnten Trockenfilterstäube (TF1, -3, -4, -5; s. Tab. 5.9 und 5.10) wurden ebenfalls mit diesem Test untersucht (HILSCHER et al., 1987; BRUCH und HILSCHER, 1988; MOLIK und HILSCHER, 1989). Dabei war der deutlichste Befund; dass die kleinste Fraktion am besten in die mediastinalen Lymphknoten gelangt. Bei den quarzreichen Stäuben bewirkte diese Fraktion dementsprechend die größten QTA, jedoch deutlich kleinere Areale beim quarzärmsten Staub. Innerhalb der quarzreicheren Stäube korrelierte aber der Quarzgehalt der Fraktion der kleinsten Partikeln nicht mit der Ausdehnung der QTA. Bei der ebenfalls durchgeführten Morphometrie fibrotischer Areale in der Lunge zeigte erwartungsgemäß der quarzarme Staub die kleinsten Fibroseflächen in praktisch allen Größenklassen. Die Größenfraktion, über alle vier Stäube betrachtet, zeigte keinen deutlichen Einfluss auf die Fibrosefläche in der Lunge.

Neuere Versuche zum gezielten Vergleich der biologischen Wirkung des in gruben echtem Staub enthaltenen Quarzes zur Wirkung des Modell-Quarzes DQ12 werden von REHN et al. (1995) berichtet. Die Autoren verwendeten ein In-vitro-System mit Meerschweinchen-Makrophagen, in dem als Zeichen der Zytopathogenität die Bildung reaktiver Sauerstoff-Spezies erfasst wurde. Dem Modell wurde die Hypothese zugrunde gelegt, dass sich die biologische Wirkung des Quarzes in Grubenstäuben durch Polyvinylpyridin-N-oxid (PVNO) spezifisch hemmen lässt. Daher wurde die Zytopathogenität von 21 Grubenstäuben in je zwei Konzentrationen mit und ohne Vorbehandlung der Zellen mit PVNO bestimmt. Die Differenz der Effekte mit und ohne PVNO wurde als spezifische Quarzwirkung interpretiert. Es zeigte sich bei einer Konzentration von 120 µg Staub pro Mio. Zellen bei allen Stäuben ein deutlicher Effekt, der auch beim niedrigsten Quarzgehalt (2,5 %) um ein mehrfaches höher als bei der Korund-Kontrolle war. Die Effekthöhe korrelierte bei keiner der beiden verwendeten Staubkonzentrationen mit dem Quarzgehalt der Stäube, jedoch ließ sich in der überwiegenden Zahl der Fälle eine Verminderung der ROS-Zellschädigung durch PVNO beobachten. Aus den berichteten Daten lässt sich schließen, dass diese Hemmung teilweise stärker war als im Vergleich mit dem DQ12 aufgrund des Quarzgehaltes des Staubes erwartet. Bei der Staubkonzentration 120 µg pro Mio. Zellen ging die DQ12-Wirkung von etwa 90 % ROS-Zellschädigung auf 30 %, also um 60 % zurück. Die Wirkung z. B. des Staubes D21-04 mit einem Quarzgehalt von 2,5 % ging um etwa 10 % zurück. Schreibt man diesen Effekt der Quarzkonzentration von 6 µg pro Mio. Zellen in diesem Ansatz zu, so ergibt sich rechnerisch eine mehr als 3-fach stärkere Wirkung des Quarzes im Grubenstaub D21-04 gegenüber DQ12. In anderen Fällen ergab sich eine schwächere Wirkung. Da es nicht wahrscheinlich ist, dass sich unter dem Einfluss des übrigen Staubes die spezifische Quarzwirkung gegenüber dem selben, reinen Quarz erhöht, kann aus den Ergebnissen geschlossen werden, dass sich verschiedene Quarze in ihrer zytopathogenen Wirkung unterscheiden können.

Als Zusammenfassung der vorliegenden Ergebnisse lässt sich feststellen, dass Quarzbeimischungen zu Kohlenstäuben deren Fibrogenität in der Rattenlunge erhöhen und dass grundsätzlich auch eine Abhängigkeit der Fibrogenität grubenechter Stäube von deren Quarzgehalt zu bestehen scheint. Dieser Zusammenhang wird aber nicht immer deutlich und mag im Einzelfall keine konkrete Voraussage zulassen. Da auch praktisch quarzfreie Kohlenstäube fibrogen gewirkt haben, unterschätzt hier der Quarzgehalt die Wirkung, umgekehrt kann bei bestimmten Stäuben die Wirkung geringer sein als ein relativ hoher Quarzgehalt vermuten lässt. Es wurde ver-

sucht, diese Erscheinung sowie die Beobachtung einer Verringerung der Wirkung reinen Quarzes durch Verbrennungsrückstände von Kohlen (MARTIN et al., 1972) durch hemmende Wirkung von Tonmineralien zu erklären (BRUCH et al., 1983). KRIEGSEIS und SCHARMANN (1982) versuchten, derartige Phänomene mit Auger-Spektroskopie und Thermolumineszenz-Verfahren zu klären. Sie stellten fest, dass die Oberfläche von Quarzpartikeln in Grubenstäuben prinzipiell von anorganischem Material bedeckt sind, sie hielten es aber für wahrscheinlich, dass eine kleine Zahl submikroskopischer Oberflächenpunkte vorhanden ist, die die Elektronenstruktur der SiO₂-Oberfläche präsentieren können. Letztlich ist das Zusammenwirken verschiedener Einflussgrößen wie Quarzgehalt, sonstige Begleitmineralien und Oberflächengröße oder -struktur noch immer nicht geklärt. Nicht zuletzt mögen für eine mangelnde Nachweisbarkeit des Zusammenhangs zwischen Fibrogenität und Quarzgehalt auch Unterschiede des Quarzes selbst verantwortlich sein.

In diesem Zusammenhang ist auch an die Möglichkeit einer schädlichen Wirkung einiger Metalle als Spurenstoffe im Kohlengrubenstaub zu denken, die in Umweltstäuben vorkommen. Dort stehen sie im Verdacht, den Abwehrmechanismus in der Lunge zu schwächen, z. B. Cr, Fe, Ni, V, Mn (ANTONINI et al., 2003; bezüglich der eher unwesentlichen Bedeutung für die Kanzerogenität der Umweltstäube siehe aber ROLLER, 2005). Es ist allerdings auch damit zu rechnen, dass solche Metalle - soweit in einem Grubenstaub vorhanden - dort in ähnlicher Weise inaktiviert sind wie der Quarzanteil. Auch beim Asbest wurde die bis in die sechziger Jahre bestehende Hypothese nicht bestätigt, bestimmte Metalle seien die Ursache der Asbest-Kanzerogenität. Analysen von Staubproben aus dem Steinkohlenbergbau legen zunächst keinen Verdacht auf bio-verfügbare, toxikologisch bedeutsame Metallanteile nahe (ARMBRUSTER et al., 1987; FRIEDRICH, 1994). Sowohl die chemische als auch die physikalische Zusammensetzung von Grubenstäuben und den schwerlöslichen Anteilen von Stäuben der allgemeinen Außenluft dürften sehr unterschiedlich sein, sodass eine Analogiebetrachtung zur Kanzerogenität sich zunächst einmal auf den schwerlöslichen Staubvolumenanteil beschränken muss.

Schließlich stellt sich die Frage, inwieweit die Inaktivierung der Quarzoberfläche durch die Begleitmineralien im Grubenstaub, die im 2½-jährigen Tierexperiment keinen kanzerogenen Quarzeffekt erkennen ließen, konstant bleibt oder sich während des Aufenthalts in der Lunge des Menschen im Verlaufe von Jahrzehnten verliert. Hierzu ergab sich aus Untersuchungen mit der Lasermikrosonden-Massenanalyse (LAMMA), dass in quarzreichen Grubenstäuben (Quarzgehalt bis 26 Gew.-%) die Nachweishäufigkeit von „reinen“ Quarzpartikeln typischerweise unter 1,5 % liegt (TOURMANN, 1994; TOURMANN und KAUFMANN, 1994a, b). Die Autoren schließen aus ihren Untersuchungen, dass eine Entmischung des Quarzes nach langfristiger Verweildauer in menschlichen Lungen bis zu 40 - 50 Jahren nicht stattfindet. Unter diesem Aspekt könnte die Extrapolation des Ergebnisses aus einem 2½-jährigen Rattenversuch auf das Menschenleben übertragbar sein.

Es sollte geklärt werden, ob die im Prinzip pathogene Oberfläche der Quarzanteile im Kohlengrubenstaub und möglicherweise auch in quarzhaltigen Stäuben anderer Herkunft durch die Begleitmineralien tatsächlich über Jahrzehnte so weit inaktiviert bleibt, dass der Grenzwert für Quarz bis zu einem bestimmten Quarzanteil nicht eingehalten zu werden braucht, oder unter welchen Umständen der Quarz doch seine

spezifische Wirkung in einer Größe entfaltet, die unter regulatorischem Aspekt von Bedeutung ist.

5.6.2 Verdachtsmomente bei Aluminiumverbindungen

In Abschnitt 3.4 ist auf einige Auffälligkeiten hingewiesen, die während der Sektion der Tiere am makroskopischen Erscheinungsbild der Lungen zu Tage traten und in den Sektionsprotokollen vermerkt wurden. In einzelnen Gruppen fiel auf, dass die Lunge nicht wie nach Quarzgabe verhärtet und vergrößert war, sondern die Volumenänderung war nur gering und die verfestigte Konsistenz des Organs ließ sich am ehesten mit dem Begriff *gummiartig* charakterisieren. Diese Veränderung fiel vor allem bei den Aluminiumoxid- und Aluminiumsilikat-Stäuben ins Auge. Eine gezielte Durchsichtung der Sektionsprotokolle ergab, dass der Begriff *gummiartig* dort für die Lungen von 31 Tieren verwendet wurde (bei maximal 6 Tieren pro Gruppe). Darunter sind 20 Tiere, die mit Aluminiumoxid- oder Aluminiumsilikat (bzw. Kaolin) behandelt worden waren. Für keine der anderen Gruppen wurde der Begriff bei mehr als 2 Tieren protokolliert.

Hinzu kommt, dass die Aluminiumstäube (neben dem Quarzstaub DQ12) hinsichtlich der Körpergewichtsentwicklung in Ausnahme von den anderen Stäuben gewisse Anzeichen subchronischer bis chronischer Toxizität zeigten. Zwar war bei keiner mit irgendeinem Staub behandelten Tiergruppe das mittlere Körpergewicht der Versuchstiere zum Zeitpunkt $\frac{1}{2}$ Jahr oder 1 Jahr um 10 % oder mehr gegenüber der mitlaufenden Kontrollgruppe verringert, jedoch wurden gerade bei den Aluminium-Stäuben auffällige Körpergewichtsveränderungen bei mehreren Dosen beobachtet. Bei allen 6 Versuchsgruppen, denen eine Aluminiumverbindung verabreicht worden war, ließ sich 1 Jahr nach der ersten Instillation ein im Vergleich mit der mitlaufenden Kontrolle statistisch signifikant niedrigeres Körpergewicht feststellen (Tab. 3.3). Das Defizit lag im Bereich von 5 %. Mit Ausnahme des Quarzes DQ12 war bei keinem anderen Staub ein derart konsistentes und signifikantes Körpergewichtsdefizit feststellbar.

Diese Beobachtungen waren Anlass zu speziellen histologischen Untersuchungen von BELLMANN et al. (2006), und zwar unabhängig von der Tumordiagnostik. Dazu wurden die histologischen Schnitte von 10 Ratten je Gruppe untersucht, wobei das ultrafeine Aluminiumoxid mit anderen Ultrafeinstäuben (Aluminiumsilikat, Ruß, Titandioxid) im Hinblick auf seine nicht-neoplastischen Wirkungen nach mehr als zwei Versuchsjahren verglichen wurde. Es ergab sich, dass nach Instillation von 30 mg (5 x 6 mg, 2/3 als langfristig retiniert angenommen, Dichte 3,2 g/ml) die bildanalytisch gemessene Bindegewebsfläche (Färbung mit Siriusrot) beim Aluminiumoxid mit 11,4 mm² über dem Wert der unbehandelten Kontrolle erkennbar höher lag als bei den anderen drei Stäuben (Aluminiumsilikat 5,9; Ruß 6,8; Titandioxid 3,6 mm²). Bei der Beurteilung des Unterschieds zwischen der Aluminiumoxid und Aluminiumsilikatwirkung ist zu berücksichtigen, dass der Aluminiumgehalt im Aluminiumoxid über 99,6 % beträgt, im Al-silikat jedoch nur 10 %, sodass ein vermutbarer spezifischer Aluminiumeffekt aus statistischen Gründen nicht deutlich werden kann. Aus den Ergebnissen schließen BELLMANN et al. (2006), dass die stärkeren Veränderungen durch Aluminiumoxid, die sich im Vergleich mit den drei anderen Ultrafeinstäuben auch bei weiteren, histologisch diagnostizierten nicht-neoplastischen Läsionen feststellen ließen, vom Aluminium verursacht wurden. Darüber hinaus zeigte sich, dass

die Wirkungsstärke unter Einschluss einer weiteren Dosis Ruß und Titandioxid besser mit dem Dosismaß Staubvolumen korrelierte als mit der Partikelmasse und der Partikeloberfläche. Da es sich bei allen Stäuben um Ultrafeinstäube mit ähnlichem mittlerem Durchmesser handelte, braucht die Partikelgröße bei diesem Vergleich nicht gesondert berücksichtigt zu werden.

Vor dem Hintergrund der experimentellen Befunde erscheinen auch die Ergebnisse arbeitsmedizinischer bzw. epidemiologischer Erkenntnisse nach Exposition gegenüber aluminiumhaltigen Aerosolen am Arbeitsplatz in einem neuen Licht. Bereits seit langem ist die Aluminiumstaublunge oder Aluminose als Berufskrankheit anerkannt. Es handelt sich um eine Lungenfibrose, die sich in der Regel langsam entwickelt (HENSCHLER, 1986). Zu dem Thema wurden auch neuere Studien durchgeführt. In einer Längsschnittstudie mit drei Querschnittsstudien über einen Zeitraum von zirka vier Jahren wurden in einer Kohorte von 101 Aluminiumschweißern im Automobilbau HRCT-Untersuchungen (hochauflösende Computertomographie) im Hinblick auf Anzeichen einer Aluminose durchgeführt (Alter bei Studienbeginn 23 bis 51 Jahre; Gesamtdauer des Aluminiumschweißens zum Studienbeginn: 7 bis 118 Monate; 83 % Raucher und Exraucher; LETZEL et al., 2006). In einem für Untersuchungen zur Neurotoxizität mitgeführten Kontrollkollektiv wurden diese Untersuchungen nicht durchgeführt, um die Strahlenbelastung zu vermeiden. In der Abschlussuntersuchung (3. Querschnitt) nach fünf Jahren konnte im HRCT z. B. eine Zunahme der emphysematösen Lungenveränderungen unterschiedlicher Ausprägung bei 58,8 % der Exponierten beobachtet werden. Die Exposition dieser „Exponierten“ im Automobilbau war - im Unterschied zu ebenfalls untersuchten Schweißern im Schienen- und Spezialfahrzeugbau - offenbar relativ niedrig. Gemäß Abbildung 7.3.1 bei LETZEL et al. (2006) liegen Messungen einer Staubfraktion vor, die dort als „Gesamtstaub“ bezeichnet wird. Der Median der Werte liegt - etwas unterschiedlich je nach Kalenderjahr (1999 - 2003) - im Bereich 0,5 bis 1 mg/m³. Für die Jahre 2000 bis 2003 ist auch im angegebenen Streubereich keine Überschreitung des Wertes 1,5 mg/m³ erkennbar. In der Erklärung der Befunde formulieren die Autoren differenziert und ziehen Aluminium, Ozon und Zigarettenrauchen als mögliche Ursachen in Betracht: *„Die Ergebnisse der beiden Studien belegen, dass die Atemwege das primäre Zielorgan für die pathogene Wirkung von Aluminium-haltigen Schweißrauch sind. Die gefundenen Befunde weisen insbesondere auf **entzündliche Veränderungen** hin. Bei der Entstehung dieser Veränderungen ist neben der Wirkung der Aluminium-haltigen Schweißrauche auch die Ozonwirkung sowie das Rauchverhalten zu diskutieren. Eine Abgrenzung der Einzelfaktoren ist insbesondere dadurch erschwert, dass die im HRCT beobachteten Veränderungen insbesondere bei Rauchern und Exrauchern aufgetreten sind. Bezüglich der Veränderungen, die im HRCT dem Frühstadium einer Aluminiumstaublunge entsprechen, ist festzustellen, dass hiervon insbesondere die höher belasteten Aluminiumschweißer aus dem Kollektiv des Schienenfahrzeugbaus und des Spezialfahrzeugbaus betroffen waren.“*

LETZEL et al. (2006) weisen aber auch darauf hin, dass die Häufigkeit der Nennung subjektiver Atemwegsbeschwerden bei den Aluminiumschweißern größer war als beim Kontrollkollektiv: *„In dem von uns untersuchten Kollektiv der Aluminiumschweißer ergaben sich über den gesamten Beobachtungszeitraum auf Gruppenebene im Vergleich zum Kontrollkollektiv bei der Abfrage subjektiver Atemwegsbeschwerden häufigere Angaben von Beschwerden im Bereich der Atemwege (u. a. Husten mit Auswurf, Atemnot bei Belastung (jeweils ohne Arbeitsplatzbezug) sowie*

Trockenheit der Nasen- und Rachenschleimhaut). Zum Teil waren diese Unterschiede im Vergleich mit der Kontrollgruppe signifikant erhöht. Im Längsschnittverlauf ist bei den Aluminiumschweißer insbesondere für das Jahr 2003 eine Abnahme der angegebenen Atemwegsbeschwerden zu verzeichnen. Bei der Interpretation dieser Abnahme ist zu berücksichtigen, dass nicht mehr alle Aluminiumschweißer aus dem Jahr 1999 im Jahr 2003 noch Schweißarbeiten ausgeführt haben. Dies hat neben Änderungen in der Produktion sowie einer Optimierung der arbeitshygienischen Arbeitsplatzverhältnisse auf Gruppenbasis zu einer Abnahme der Aluminiumexposition (Biomonitoring und Ambient-Monitoring) geführt. Die Reduktion der angegebenen Atemwegsbeschwerden lässt sich ggf. u. a. hierdurch erklären.“

Angesichts all dieser Daten dürften aluminiumhaltige Stäube, besonders auch wenn es sich um Aluminiumoxid handelt, „eigentlich“ nicht generell als GBS gemäß unserer Definition angesprochen werden, da eine signifikante spezifische Toxizität offenbar vorhanden ist. Unsere 3 Aluminiumstäube wurden zu Beginn der Studie bzw. ihrer Auswertung aber mit Recht den GBS zugeordnet, da seinerzeit die Datenlage schwächer war, d. h. eine Signifikanz spezifischer Toxizität nicht notwendigerweise als bekannt vorauszusetzen war (GBS = *alveolengängige granuläre biobeständige Stäube ohne bekannte signifikante spezifische Toxizität*). Außerdem fügen sich die Lungentumorhäufigkeiten der 3 Aluminiumstäube ohne Auffälligkeiten in die Dosis-Häufigkeitsbeziehungen der 16 GBS ein (Abb. 4.3), sodass sie auch heute im Hinblick auf die Kanzerogenität gegebenenfalls zu Recht den GBS zugeordnet sind. Beim ultrafeinen Aluminiumoxid C ist allerdings zu berücksichtigen, dass bereits bei der niedrigeren Dosis 82 % Tiere mit Lungentumor auftraten. Bei der höheren Dosis ist die Tumorfrequenz etwas niedriger (72 %), dies mag mit einer reduzierten Lebenserwartung dieser Gruppe zusammenhängen. Diese Gruppe wurde daher auch nicht in die abschließende statistische Analyse der Dosis-Häufigkeitsbeziehungen einbezogen (Abschnitt 4.1, 4.3). Offensichtlich ist mit den Nanopartikeln dieses Aluminiumoxids - im Unterschied zu den meisten der anderen Stäube - bei der niedrigeren Dosis bereits ein maximaler kanzerogener Effekt erreicht, möglicherweise wäre dieser auch bereits bei einer noch niedrigeren (nicht untersuchten) Dosis aufgetreten. Dies spricht nicht - wie von MORFELD et al. (2006) vermutet - dafür, dass die ganze Studie überdosiert ist, sondern es spricht eher dafür, dass im Falle des Aluminiumoxids zusätzliche Gesichtspunkte eine Rolle spielen könnten (vgl. Abschnitt 5.3.3, 5.3.4). Es scheint bereits relativ deutlich, dass die entzündungsauslösende Potenz des Aluminiumoxids stärker ist als bei den anderen Stäuben, die wir als GBS bezeichnet haben. Betrachtet man Entzündungsreaktionen als maßgeblich für die Kanzerogenität, dann wäre bei Aluminiumoxid auch stoffspezifisch eine höhere kanzerogene Potenz in Betracht zu ziehen. Möglicherweise ist auch bei Aluminiumoxid - trotz höherer entzündungsauslösender Potenz - keine höhere kanzerogene Potenz vorhanden, weil für die Kanzerogenität letztlich andere Mechanismen ausschlaggebend sind. Dies lässt sich heute kaum entscheiden, sondern sollte - auch im Vergleich zu einem nicht-ultrafeinen Aluminiumoxidstaub - näher untersucht werden.

5.6.3 Verdachtsmomente bei hydrophobierender Beschichtung

Hydrophobiertes ultrafeines Titandioxid wirkte in der zunächst geplanten Einzeldosis von 6 mg akut tödlich. Bei einer Nachprüfung 8 Monate später ergab sich eine LD₅₀ von etwa 1 mg innerhalb von 24 Stunden nach der Instillation, während 20 mg des hydrophilen TiO₂ P 25 in dieser Zeit keinen akuten Todesfall unter 12 Ratten verursachten (Tab. 5.11). In dem Kanzerogenitätsversuch stand durch die unerwarteten Verluste und Zwischenversuche zur Verträglichkeit nur noch eine stark

Tab. 5.11 Akute Mortalität nach intratrachealer Instillation oder intraperitonealer Injektion von hydrophobem ultrafeinem Titandioxid P 805 (s. Tab. 2.2) und hydrophilem ultrafeinem Titandioxid P 25 (Degussa) [Exp. 96/1, Juli 1996 mit weiblichen Wistar-Ratten; Alter etwa 8 Wochen bei der ersten Behandlung; veröffentlichte Daten (POTT et al., 1998) wesentlich ergänzt]: 1.) Zwei intratracheale (i.tr.) Instillationen, zweite Instillation 8 Tage nach der ersten bei den Überlebenden der Gruppen 1, 2, 5, 6, und 8. 2.) zwei intraperitoneale (i.p.) Injektionen an zwei hintereinander folgenden Tagen (Gruppen 4 und 7)

Grup- pen- Nr.	Stoff	Dosis ^a (1. i.tr. Inst., 1. + 2. i.p. Injektion ^b)	Anzahl Ratten		Dosis der 2. i.tr. Inst. ^a 8 Tage nach 1. Instillat.	Anz. Ratten gestorben 24 h n. 2. Instill. / nach weiteren 5 Tagen
			gestorben 24 h nach Behandlung / behandelt	über- lebend 8 Tage n. 1. Beh.		
1	TiO ₂ P 805	0,5 mg i.tr.	3 / 12 = 25 %	9	0,5 mg i.tr.	4 / 0
2	TiO ₂ P 805	1 mg i.tr.	7 / 12 = 58 %	5	1 mg i.tr.	4 ^d / 0
3	TiO ₂ P 805	2 mg i.tr.	11 / 12 = 92 %	1	keine Inst.	0 / 0
4	TiO ₂ P 805	125 mg i.p.	1 / 12 = 8 %	11	–	0 / 0
		+125 mg i.p. ^b	0 / 11 = 0 %			
5	TiO ₂ P 25	10 mg i.tr.	0 / 12	12	10 mg i.tr.	0 / 0 ^e
6	TiO ₂ P 25	20 mg i.tr.	0 / 12 ^c	11 ^c	20 mg i.tr.	0 / 0
7	TiO ₂ P 25	125 mg i.p.	0 / 12	12	–	0 / 0
		+125 mg i.p. ^b	0 / 12			
8	Kontrolle	0,4 mL i.tr.	0 / 12	12	0,4 mL i.tr.	0 / 0 ^e

^a Trägerflüssigkeit: 0,9 % NaCl-Lösung, phosphatgepuffert, mit 1 % Tween 80; 0,4 mL i.tr. (wie Kontrollgruppe); 5 mL i.p. (i.p. keine Kontrollgruppe eingesetzt).

^b Zweite i.p. Injektion von 125 mg 1 Tag nach der ersten Injektion.

^c 1 Tier starb 3 Tage nach der 1. i.tr. Instillation.

^d REM Untersuchung der Lunge bei dem einzigen Tier, das beide Instillationen bis zu diesem Zeitpunkt überlebte; s. Abb. 5.17.

^e REM Untersuchung der Lunge bei einem Tier; s. Abb. 5.17.

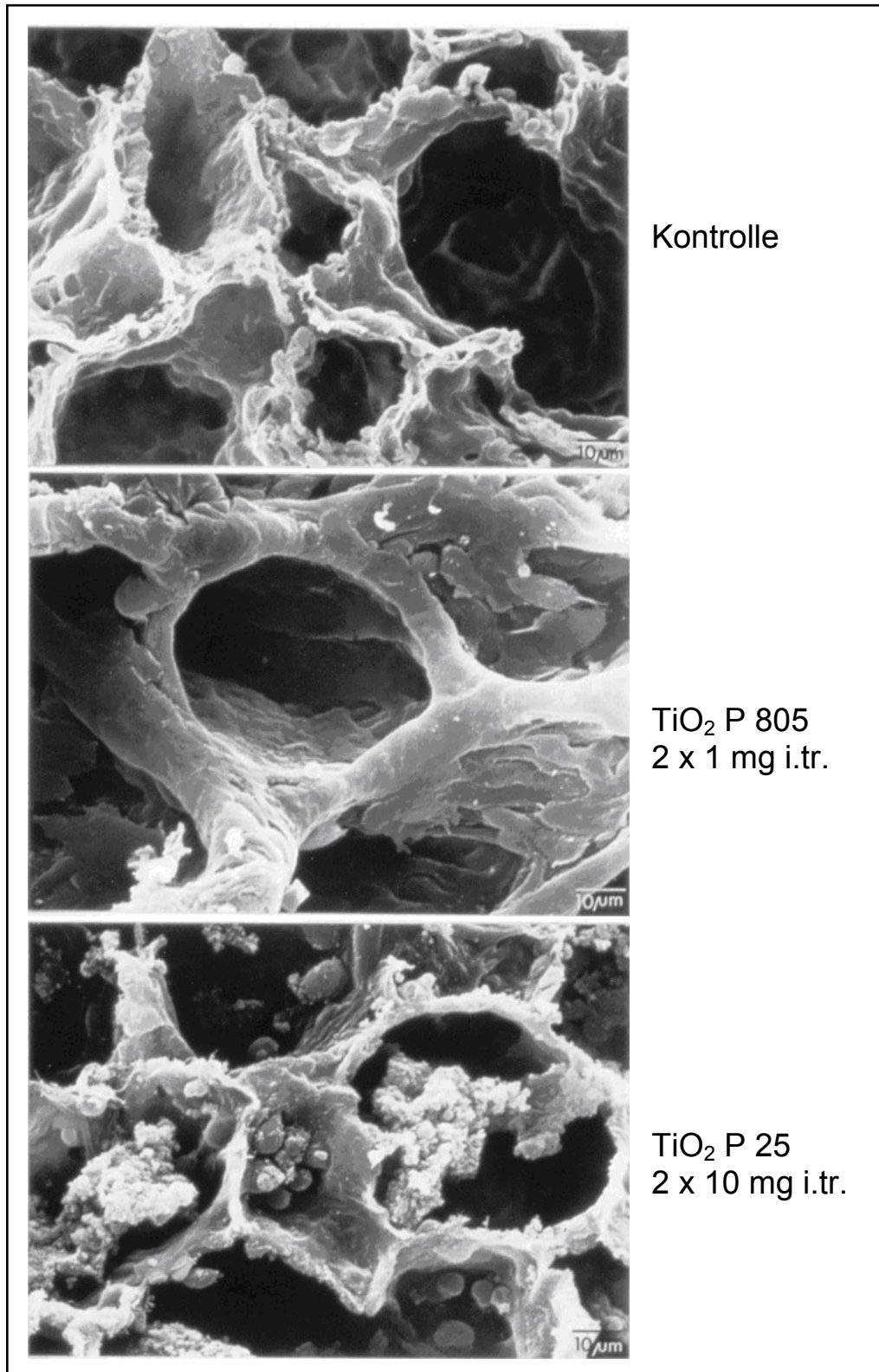


Abb. 5.17 Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen (Frau Dr. Höhr) von Lungen, denen 2 x 1 mg hydrophobes TiO₂ P 805 (hier die einzige überlebende von 12 Ratten) oder 2 x 10 mg hydrophiles TiO₂ P 25 (10-fache Dosis, ein Todesfall von 12 nach 3 Tagen, kein Todesfall nach der zweiten Instillation) instilliert worden war. Die Abbildung ist Teil eines Diapositivs, das in einem Vortrag (Prag, 1997) gezeigt wurde, aber in der Druckfassung (POTT et al., 1998) nicht enthalten ist

reduzierte Tierzahl zur Verfügung. Eine eingehende histologische Auswertung der kleinen Tierzahl wäre erforderlich, um die spezifische Langzeitwirkung des hydrophobierten TiO_2 im Vergleich zum nicht beschichteten TiO_2 beurteilen zu können. Wegen der verbleibenden kleinen Tierzahl wurde aber aus ökonomischen Gründen bisher auf eine solche Untersuchung verzichtet. Die folgenden Betrachtungen beziehen sich daher nicht auf die Frage der Kanzerogenität, sondern der akut toxischen Effekte des hydrophobierten Titandioxids.

Die Abb. 5.17 enthält Aufnahmen von Frau Dr. Höhr, die als Diapositiv in einem Vortrag (Prag, 1997) gezeigt wurden, aber in der Druckfassung (POTT et al., 1998) nicht enthalten sind. Auf der Abbildung erkennt man verdickte Alveolarsepten nach Gabe des hydrophoben TiO_2 , wogegen durch die 10fach höhere Dosis des hydrophilen TiO_2 ein solcher Effekt nicht zu beobachten ist. Der zu der Abbildung vorgelesene Text wurde von Frau Dr. Höhr und Herrn Prof. Dr. Friemann formuliert: *“These scanning electron micrographs show representative pieces of lungs treated with the hydrophobic dust (in the middle) or the hydrophilic (below) in comparison to a control lung. The lung in the middle of the slide shows enlarged alveoli one week after the second instillation of 1 mg. The septa are substantially thickened. Although hydrophilic particles are accumulated in the alveoli after instillation of two times 10 mg, the septa do not seem to be different from the control. It is not easy to compare the dust quantities of the two dusts observed in the lung. We assume, that a much higher percentage of the hydrophobic particles leaved the alveoli compared with the hydrophilic counterpart.”*

In einem weiteren Manuskript, das nicht mehr veröffentlicht wurde, schrieb Herr Prof. Friemann zu den histologisch beobachteten Veränderungen: *„Lungs of animals which had been killed immediately after the last injection of the dust or died one or several days after the treatment light microscopically showed similar changes: capillaries in the alveolar walls were ... and distended. Focally we could observe extravasated erythrocytes in the interstitial and alveolar spaces as well as an edema in the extraalveolar interstitial space as we know from early steps of cardiogenic pulmonary edema. These unspecific alterations were much more developed in animals treated with P 805 than in those treated with P 25.”*

Während Quarz eine spezifisch toxische Oberfläche als Quarzeigenschaft aufweist, stellen die durch Beschichtung mit einem hydrophobierenden Stoff hergestellten Stäube ein anderes Problem spezifisch toxischer bio-beständiger granulärer Stäube dar. Aus dieser Stoffklasse haben wir hydrophobes ultrafeines Titandioxid untersucht und beobachteten überraschend eine hohe akute Mortalität. Es zeigte sich ein großer Unterschied zum hydrophilen TiO_2 -UF (Tab. 5.11, Abb. 5.17). Die Hydrophobie als solche dürfte die starke akut toxische Wirkung nicht verursacht haben, denn mehrere der 19 Stäube waren hydrophob: Ruße, Toner, Kohlenstäube. Sie führten nicht zu akuten Todesfällen. Im Inhalationstest ist zwar eine weit geringere akute toxische Wirkung zu erwarten, weil sich die Aufnahme auf einen viel längeren Zeitraum verteilt, für beschichtete Stäube sollte aber der Allgemeine Staubgrenzwert so lange nicht gelten, bis ausreichende toxikologische Untersuchungen für jeden Einzelfall belegen, dass eine Einstufung in die Gruppe der GBS gerechtfertigt ist. Anderenfalls müsste ein individueller MAK-Wert festgesetzt werden.

5.7 Zur Risikoakzeptanz

5.7.1 Dilemma zwischen Nachweisbarkeit und Akzeptierbarkeit von Krebsrisiken (Betrachtungen zur Power empirischer Studien)

Es gilt als eine Grundregel naturwissenschaftlichen Arbeitens, vor Studienbeginn Überlegungen und Berechnungen zur sogenannten Nachweisgrenze bzw. zur statistischen *Power* der geplanten Studie anzustellen. Insbesondere im Fall sogenannter negativer Ergebnisse, d. h. im Fall des Fehlens eines Effektnachweises, sollten Angaben zur *Power* auch veröffentlicht werden; denn die Bezeichnung „negatives Ergebnis“ wird häufig irrtümlich als „Null-Risiko“ missverstanden. Dabei darf nicht übersehen werden, dass das Fehlen eines Effektnachweises nicht gleichbedeutend ist mit dem Nachweis des Fehlens eines Effekts.

Im Bereich der Messtechnik physikalischer oder chemischer Fachrichtungen ist zum Beispiel die Angabe von Nachweisgrenzen eine Selbstverständlichkeit. So wurden z. B. in dem Kernforschungszentrum, in dem der Autor dieses Berichts früher gearbeitet hatte, auch Umweltproben auf Radioaktivität untersucht. Einen Messwert „Null Radioaktivität“ gab es dabei nicht. Vielmehr gab es eine Nachweisgrenze (NWG), die von physikalischen Gesetzmäßigkeiten sowie von den Messbedingungen abhängig war. Dementsprechend wurde als Messwert „kleiner NWG“ angegeben, wenn kein statistisch signifikantes Signal gemessen wurde. Ein anderes Beispiel: Im Zusammenhang mit der Frage nach gesundheitsschädlichen Wirkungen von Tonerstäuben wurden im damaligen BIA (heute BGIA) Messungen zur Partikelemission von Computerdruckern und Kopiergeräten durchgeführt (SMOLA et al., 2002). Zusätzlich zu der Beobachtung, dass mit der gewählten Versuchsanordnung keine Partikelemission gemessen werden konnte, wurden dabei die relativ hohen Nachweisgrenzen angegeben, die je nach Methode bei 0,6 bzw. 0,16 mg/m³ lagen. Später wurde vorgeschlagen, eine Risikoabschätzung für Toneremissionen aus Bürogeräten auf die Annahme einer Exposition entsprechend der halben NWG zu stützen.

Im Bereich von Toxikologie und Epidemiologie wird bezüglich der biologischen Effekte weniger von Nachweisgrenzen gesprochen, hier ist eher auf den Begriff der *Power* abzuheben. Zunächst ist zu bemerken, dass ein Satz in der Art „Die *Power* dieser Studie ist aber gering“ nur dann sinnvoll ist, wenn aus dem Zusammenhang klar wird, auf welche Effekthöhe bzw. Effekthäufigkeit sich die Angabe bezieht. „Die *Power*“ einer Studie gibt es nämlich nicht, sondern nur z. B. „die *Power*, ein Exzess-Risiko in Höhe von 10 %“ oder „die *Power*, ein relatives Risiko von $RR = 2$ “ nachzuweisen. Die statistische *Power* bei der Untersuchung der Risiken von Exponierten gibt die Wahrscheinlichkeit an, mit einem bestimmten Stichprobenumfang und bei einem bestimmten Hintergrundrisiko mit einem bestimmten statistischen Test dann ein signifikantes Ergebnis zu erhalten, wenn tatsächlich für die Exponierten ein bestimmtes (höheres) Risiko besteht.

Ein Beispiel: Bei Kanzerogenitätsversuchen wird als statistischer Test in der Regel Fisher's exact test im Vergleich einer exponierten Gruppe von 100 Tieren mit einer Kontrollgruppe von ebenfalls 100 Tieren eingesetzt. Das Hintergrundrisiko hängt von Tierart und Tumorlokalisation ab, es kann in manchen Fällen mehr als 10 % betragen. Im Falle der Lungentumoren von Ratten ist das Hintergrundrisiko („Spontanrate“) relativ niedrig, als einfaches Beispiel mag hier ein Wert von 1 % dienen. Die sta-

tistische Power, in einem Kanzerogenitätsversuch mit 100 Tieren je Gruppe bei einem tatsächlichen Risiko der exponierten Tiere in Höhe von 30 % im Vergleich mit einer „Spontanrate“ von 1 % - d. h. $RR = 30$ - ein erhöhtes Risiko nachzuweisen, ist sehr groß, sie beträgt mathematisch 100,0 %. Dies bedeutet nicht, dass in der exponierten Gruppe dann mit Sicherheit 30 % Tiere mit Tumor beobachtet werden, aber es bedeutet, dass dabei praktisch mit Sicherheit eine statistisch signifikant erhöhte Tumorfrequenz gefunden werden wird.

Wesentlich geringer sind die Chancen, in einem solchen Kanzerogenitätsversuch ein positives Ergebnis zu erhalten, wenn das wahre Risiko der Exponierten 10 % beträgt. Die Power beträgt dann zirka 80 %, erfüllt also gerade noch die Bedingung einer Power von 80 %, die meist an empirische Studien gestellt wird. Sie bedeutet aber auch, dass die Wahrscheinlichkeit für einen Fehler 2. Art, d. h. für das Fehlen eines Nachweises, wenn tatsächlich ein Effekt vorliegt, noch $100\% - 80\% = 20\%$ beträgt. Es ist somit zu erwarten, dass mittels einer solchen Versuchsanordnung in jedem fünften Versuch, in dem tatsächlich ein erhöhtes Risiko der Exponierten von 10 % besteht, ein „negatives“, d. h. nicht signifikantes Testergebnis erhalten wird.

Aus diesen Berechnungen wird deutlich, dass die Power eines Kanzerogenitätstests zur Entdeckung eines Risikos von 30 % sehr gut ist, aber üblicherweise nicht ausreicht, um ein Exzess-Tumorrisiko zu entdecken, das deutlich weniger als 10 % beträgt. Ein weiteres Beispiel: Bei einem Hintergrundrisiko von 5 % beträgt die Power, ein doppelt so hohes Risiko der Exponierten zu entdecken (d. h. $RR = 2$, Exzess-Risiko = 5 %), nur 27 %; mit höherer Wahrscheinlichkeit wird der Test hier also ein „negatives“ Ergebnis anzeigen, obwohl die Exponierten tatsächlich ein zusätzliches Risiko von 5 % tragen. Schließlich: Zum Erreichen einer Power von gerade 80 % bei einem Hintergrundrisiko und einem wahren Exzess-Risiko von je 1 % ($RR = 2$) wären Gruppengrößen von zirka 2 000 Tieren notwendig. Das wären also bei je einer Kontrollgruppe und einer Versuchsgruppe insgesamt 4 000 Tiere, die gleichzeitig beschafft, exponiert, für zweieinhalb Jahre unter kontrollierten Bedingungen gehalten, seziert und ausgewertet werden müssten. Ein solches Versuchsdesign stellt praktisch unlösbare technische, logistische und finanzielle Anforderungen.

Diese Gesetzmäßigkeiten würden zusammen mit einem etwaigen Anspruch, nur Expositionen ähnlich den aktuellen Arbeitsplatzbedingungen bzw. ähnlich dem geltenden Grenzwert einzusetzen, zu einem Dilemma führen. Der Anspruch „realistischer“ Expositionen kann beispielhaft an folgenden Auszügen einer Veröffentlichung von MORFELD (2004) verdeutlicht werden, in der auf unsere 19-Stäube-Studie Bezug genommen wird: *„Somit liegen die Experimente zu alveolengängigem TiO_2 von Pott & Roller (2003) nicht in dem für den Allgemeinen Staubgrenzwert der MAK-Kommission interessierenden Bereich, sondern bedeutend darüber. ... Die mit anderen Substanzen durchgeführten Instillationen alveolengängiger Stäube in der Experimentserie von Pott & Roller (2003) führten zu einem niedrigsten retinierten Volumen von 6,8 μl bzw. 4,6 $\mu l/g$ (Versuch mit ZrO_2), wobei der überwiegende Teil der Versuche Lungenstaubbelaadungen von mehr als 10 μl bis hin zu 86 μl (Magerkohle, untere Fettkohle) erzeugte. Es ist somit insgesamt die Frage zu stellen, inwieweit diese Versuchsserie für eine Revision des Allgemeinen Staubgrenzwerts der MAK-Kommission von direkter Relevanz ist, ...“*. In Diskussionen sind uns ähnliche Einschätzungen auch von anderen Experten begegnet.

Die Bedeutung dieser Aussage bedarf einer kritischen Betrachtung. Das Staubvolumen-Kriterium, das bei der Begründung des angesprochenen Allgemeinen Staubgrenzwerts der MAK-Kommission herangezogen wurde, betrug $1 \mu\text{L/g}$ (GREIM, 1997). MORFELD (2004) spricht das retinierte Staubvolumen von $4,6 \mu\text{L/g ZrO}_2$ unserer Studie an. Mit dieser Dosis waren 4 Tiere mit primärem Lungentumor unter 47 untersuchten Ratten, also einer Tumorfrequenz von 8,5 %, assoziiert (Tab. 3.1). Im Vergleich zur mitlaufenden unbehandelten Kontrollgruppe mit 0 / 46 Tieren mit Tumor sind diese 4 Tumortiere formal statistisch nicht signifikant, in keiner Kontrollgruppe dieses Rattenstamms traten in unserem Labor aber jemals mehr als 1 Tier - geschweige denn 4 Tiere - mit primärem Lungentumor auf. Es ist - auch im Zusammenhang mit den Dosis-Häufigkeitsbeziehungen der anderen Gruppen in der Studie und mit Blick auf den statistischen Vertrauensbereich bis zu 20,4 % - zumindest in Betracht zu ziehen, dass die ZrO_2 -Dosis ein zusätzliches Lungentumorrisiko der Ratten von zirka 10 % - oder auch mehr - bewirkt hat (Abb. 4.3, Tab. 3.7). Das retinierte Staubvolumen lag um einen Faktor von 4,6 über dem Volumenkriterium des Allgemeinen Staubgrenzwerts. Bei linearer Rechnung wäre einer Lungenbeladung wie dem Grenzwertkriterium damit ein zusätzliches Risiko von 2 % zugeordnet. Auch wenn man die unterschiedlichen Dosis-Wirkungskurven nach Instillation und nach Inhalation bedenkt (Abschnitt 5.5.1), ist damit ein Krebsrisiko beim Grenzwert möglich, das eben nicht klar unterhalb aller als besorgniserregend betrachteten Risikohöhen liegt (bezüglich Risikoakzeptanz und -toleranz siehe z. B. KALBERLAH et al., 2005; Gelbbereich = Besorgnisbereich; „Ampelmodell“).

Anhand des ZrO_2 -Beispiels ist einer Lungenbeladung in Höhe des Volumenkriteriums von $1 \mu\text{L/g}$ ein Exzess-Risiko von zirka 2 % zugeordnet, unter Berücksichtigung der Unterschiede zwischen Instillation und Inhalation wurde für eine Exposition in Höhe des Allgemeinen Staubgrenzwerts gemäß TRGS 900 von 3 mg/m^3 für GBS-GF mit „durchschnittlicher“ Dichte ein Exzess-Risiko von 1 % abgeleitet. Die Power realistischer Kanzerogenitätsversuche reicht nicht aus, um Exzess-Risiken in Höhe von 1 bis 2 % zu entdecken. MORFELD (2004) bringt zum Ausdruck, dass nachgewiesene Kanzerogenität infolge von Expositionen, die um einen Faktor von 5 oder 10 höher sind als der Allgemeine Staubgrenzwert, für ihn nicht in einem „*interessierenden Bereich*“ liegen bzw. kaum „*von direkter Relevanz*“ sind. Damit wird das Dilemma klar: ein zusätzliches Krebsrisiko beim Grenzwert in Höhe von 5 % oder darunter kann mit Kanzerogenitätsversuchen praktisch nicht nachgewiesen werden - ein tatsächlich nachgewiesenes Krebsrisiko bei einer 5-fach oder mehr oberhalb des Grenzwertkriteriums liegenden Exposition wird von manchen Experten wegen „Überladung“ als nicht relevant bewertet. Kurz zusammengefasst: *Es kann nur negative und irrelevante Testergebnisse geben*. Würde man dieser Argumentation folgen, dann wäre die Kanzerogenität von GBS nicht prüfbar.

Ähnliche Überlegungen sind für epidemiologische Studien anzustellen. MORFELD (2004) zitiert eine Studie von BOFFETTA et al. (2003, 2004) zur Titandioxidexposition, die kein expositionsbedingt erhöhtes Lungenkrebsrisiko bei Arbeitern nachgewiesen hat (die signifikante Erhöhung des SMR von 1,23 wurde im Zusammenhang mit Zigarettenrauchen und der Verwendung zu niedriger Lungenkrebsreferenzraten - der Allgemeinbevölkerung - als Bezug gesehen). Er nennt eine statistische Power von 99 %, ein relatives Risiko von 2 zwischen höchstem und niedrigstem Quartil der kumulativen Exposition zu entdecken, und er gibt die Einschätzung der Autoren wieder, wonach es unwahrscheinlich ist, dass die Studie eine mitt-

lere bis stärkere Assoziation (relative Risiken oberhalb 1,5) übersehen haben könnte. Aufgrund dieser Feststellungen sollte aber nicht der Eindruck entstehen, die Studie spreche für die Abwesenheit von Kanzerogenität des Staubs. Bei einer solchen Bewertung würden zwei wichtige Informationen unberücksichtigt bleiben: erstens die Bedeutung eines relativen Risikos von 1,5 oder 2 für das Exzess-Risiko aufgrund des Hintergrundrisikos und zweitens die Expositionstärke im Vergleich zu den Expositions-Risikobeziehungen der Tierversuche. Das Lungenkrebsrisiko in der männlichen Allgemeinbevölkerung und damit höchstwahrscheinlich auch in der niedrigsten Expositions-kategorie einer epidemiologischen Studie ist vergleichsweise hoch (z. B. 9 % gemäß Tab. 5.4). Nimmt man ein Hintergrundrisiko von nur 5 % an, dann bedeutet ein relatives Risiko von 2 ein Exzess-Risiko von 5 % und ein relatives Risiko von 1,5 ein Exzess-Risiko von 2,5 %. Als Obergrenze des Interquartilbereichs ist bei MORFELD (2004) der Wert 6,88 mg/m³-Jahre genannt, dies entspricht bei einer Lebensarbeitszeit von 40 Jahren einem Langzeitmittelwert von 0,17 mg/m³. Nach der Risikoabschätzung von Abschnitt 5.5.2 ist einer Konzentration von 0,17 mg/m³ an GBSGF ein Exzess-Risiko von 0,06 % (6 zu 10 000) zugeordnet. Bei einem Hintergrundrisiko von 5 % würde dies einem relativen Risiko von $5,06/5 = 1,012$ entsprechen. Es ist offensichtlich, dass die Power der zitierten Studie viel zu gering war, um ein relatives Risiko von 1,01 zu entdecken. Ich kenne keine epidemiologische Studie, in der ein statistisch signifikantes RR von 1,01 aufgetreten ist. Eine Aussage wie „es ist unwahrscheinlich, dass die Studie eine mittlere bis stärkere Assoziation (relative Risiken oberhalb 1,5) übersehen haben könnte“ ist daher erläuterungsbedürftig. Ein relatives Risiko von 1,5 ist hinsichtlich seiner Aussagekraft für einen Kausalzusammenhang ein „niedriges“ Risiko; ein zusätzliches Krebsrisiko von 2,5 %, das einem relativen Risiko von 1,5 entsprechen kann, ist aber in seiner ethischen Bedeutung ein „hohes“ Risiko.

Was wäre die Konsequenz, wenn man der Argumentation z. B. von MORFELD (2004) folgen würde?

Aufgrund der vorhandenen Information ist es nicht zu erwarten, dass das Exzess-Lungenkrebsrisiko bei Langzeitexposition in Höhe des Allgemeinen Staubgrenzwerts 10 % oder mehr beträgt. Demzufolge ist auch nicht zu erwarten, dass zukünftige Kanzerogenitätsversuche mit Expositionen in Höhe ungefähr des Grenzwerts eine Kanzerogenität entdecken. Dasselbe gilt auch für zukünftige epidemiologische Studien, die statistisch signifikant und im Sinne der sogenannten Hill-Kriterien* eine Risikoerhöhung gegenüber einem Lungenkrebsrisiko von 5 bis 10 % der männlichen Allgemeinbevölkerung nachweisen müssten - auch das ist nicht zu erwarten. Eine Bewertung der vorliegenden Kanzerogenitätsnachweise bei Expositionen oberhalb des Grenzwerts als irrelevant würde im Ergebnis also ein Akzeptieren der Möglichkeit eines Krebsrisikos von 1 oder 2 oder 3 % bedeuten. Wir können auch nicht erkennen, dass aufgrund von Erkenntnissen zum Wirkungsmechanismus die Möglichkeit eines ethisch bedeutsamen Krebsrisikos unter Einhaltung der Grenzwertbedingungen ausgeschlossen ist. Dies ist in den Kapiteln 5.2 und 5.3 sowie den Abschnitten 5.4.4 - 5.4.7 näher ausgeführt.

* Kausalitätskriterien benannt nach einer Veröffentlichung von HILL (1965): *Strength, Consistency, Specificity, Temporality, Biological gradient, Plausibility, Coherence, Experiment, Analogy.*

5.7.2 Wirkungsschwelle bei fehlendem Nachweis primärer Gentoxizität - ein präventivmedizinisch nicht haltbares „als ob-Axiom“

Im Jahre 2004 fand sich auf der Website des damaligen BIA (Berufsgenossenschaftliches Institut für Arbeitssicherheit; heute: BGIA) zur Frage von Gefahrstoffen in Tonern unter Bezug auf die als „BAuA-Studie zur Krebs erzeugenden Wirkung von Stäuben“ bezeichnete 19-Stäube-Studie folgender Satz „Dabei soll auch der Frage nachgegangen werden, ob ein Schwellenwert abgeleitet werden kann, dessen Unterschreitung eine gesundheitliche Gefährdung ausschließt.“ Dieser Satz enthält eine Definition des Begriffs Schwellenwert. Demnach schließt ein Unterschreiten eines Schwellenwerts einer Exposition eine gesundheitliche Gefährdung aus. Dabei gehen wir jetzt einmal davon aus, dass der Begriff der Gefährdung so zu verstehen ist, wie ihn ein „Laie“ wahrnehmen würde, d. h. dass eine Gefährdung dann ausgeschlossen ist, wenn ein Effekt einfach nicht auftreten kann. Im selben Sinn wäre auch eine Formulierung, dass etwa eine bestimmte Exposition nicht mit einem erhöhten Risiko verbunden sei, so zu verstehen, dass diese Exposition unterhalb eines Schwellenwertes liege und dass dabei eben kein expositionsbedingtes Risiko bestünde. Die Begriffe „Schwellenwert“, „Schwelle“, „Wirkungsschwelle“ und „Schwellendosis“ kann man demnach auch folgendermaßen umschreiben: *Eine Schwelle existiert, wenn aufgrund der Substanzeigenschaften und der biologischen Gegebenheiten (des Wirkungsmechanismus) bei einem ansonsten als gesund zu betrachtenden Menschen in einem unteren Dosisbereich ein bestimmter Effekt nicht auftreten kann.* Der Schwellenbegriff ist insbesondere auf akute toxische Effekte anwendbar.

Als Beispiel sei hier auf den Trinkalkohol Ethanol Bezug genommen, für den Erfahrungswerte aus großen Kollektiven vorliegen. Es darf als ausgeschlossen gelten, dass durch die Alkoholmenge, die z. B. in einer schnaps- oder likörgefüllten Praline enthalten ist, bei einem „gesunden“ erwachsenen Menschen eine akut tödliche Vergiftung ausgelöst wird. Selbst die etwas größere Menge in einem oder zwei „Drinks“ Bier oder Wein wird bei einem Gesunden akut nicht tödlich wirken. Für den Endpunkt „akute Letalität“ besteht also ganz offensichtlich eine Wirkungsschwelle. Es wird aber bereits problematisch, diese Wirkungsschwelle in einen Dosis-Zahlenwert zu fassen, der als der höchste Dosiswert anzusehen ist, bei dem eine akut tödliche Wirkung mit Sicherheit bei jedem Individuum einer großen, genetisch heterogenen Population auszuschließen ist. Schwierig wird es auch, eine Wirkungsschwelle für weniger drastische Effekte als den Tod zu fassen. Welches ist bei Ethanol der höchste Dosiswert, bei dem eine leichte Verminderung des Reaktionsvermögens mit Sicherheit bei jedem Individuum einer großen, genetisch heterogenen Population auszuschließen ist? Grundsätzlich schwierig ist es ferner, den Schwellenbegriff auf chronische Effekte anzuwenden - womit hier zunächst chronische nicht-neoplastische Effekte gemeint sind. Welches ist bei Ethanol die höchste tägliche Zufuhrate, bei der eine langfristige Leberschädigung mit Sicherheit bei jedem Individuum einer großen, genetisch heterogenen Population auszuschließen ist? Es mag hierfür einen Schwellenwert geben, es erscheint aber aussichtslos, in anbetracht der genetischen Variabilität des Menschen und der methodischen Schwierigkeiten, Effekte nach 30-, 40- oder 50-jähriger Exposition exakt zu erfassen, einen für eine größere Population geltenden Schwellenwert mit so etwas wie wissenschaftlicher Sicherheit abzuleiten.

Folgende Begriffe sind scharf vom oben erläuterten Begriff des **Schwellenwerts** zu unterscheiden: **Grenzwert** und no-observed-adverse-effect-level **NOAEL**. Nach meinem Eindruck werden diese beiden Begriffe gelegentlich fälschlich synonym zum Schwellenwert verwendet. Ein Grenzwert ist aber ganz allgemein zunächst einmal ein regulatorisch festgesetzter Wert. Es wäre sicherlich wünschenswert, wenn ein Grenzwert genau bei einem biologischen Schwellenwert festgesetzt werden könnte, und sicherlich wurde dies in vielen Fällen auch angestrebt. Letztlich scheint es aber durchaus allgemein akzeptiert, dass die oben angedeuteten Schwierigkeiten - die man mit dem Begriff „erkenntnistheoretische Schwierigkeiten“ zusammenfassen kann - einem solchen Wunsch entgegenstehen (LUTZ, 2000; DIETER und KONIETZKA, 2006); „*Der Begriff Schwelle ist unbrauchbar geworden*“ (NEUMANN, 2006a,b,c). Eine Brücke, aus vorhandenen, naturgemäß beschränkten, wissenschaftlichen Erkenntnissen zu einem Grenzwert für die Praxis zu gelangen, können Konventionen sein. Dabei spielt der NOAEL eine Rolle; er ist die höchste Dosis, die in einer toxikologischen Prüfung nicht mit dem Nachweis eines „adversen“ (ungünstigen, unerwünschten, schädlichen) Effekts verbunden war. Es liegt auf der Hand, dass NOAEL und biologische Schwelle grundsätzlich nicht identisch sind. Die Schwelle ist nur von den Eigenschaften der Substanz und der exponierten Organismen abhängig, der NOAEL dagegen außerdem von der Versuchsanordnung, darin steckt auch ihre Messgenauigkeit. Gegebenenfalls sagt ein NOAEL mehr über „Nachweisgrenze“ bzw. „Power“ (Abschnitt 5.7.1) eines Experiments aus als über eine biologische Wirkungsschwelle. Es sollte sich von selbst verstehen, dass das Fehlen eines signifikanten Signals in Gruppen von 5 oder 10 *Tieren* nicht mit dem Nachweis einer tatsächlichen Schwelle *beim Menschen* gleichgesetzt werden darf.

In manchen Bereichen der regulatorischen Toxikologie werden daher Konventionen in Form sogenannter Sicherheits- oder Extrapolationsfaktoren eingesetzt, um von einem NOAEL zu einem Grenzwert zu gelangen, z. B. im ARW-Konzept (Arbeitsplatz-Richtwerte; BArbBl, 1998, 1999). Wegen offensichtlicher Unzulänglichkeiten des NOAEL-Konzepts wurden außerdem alternative Konzepte gesucht. Ein solches Konzept ist die sogenannte Benchmark-Dosis, die hier nur erwähnt, aber nicht weiter erläutert werden kann (CRUMP, 1985; US EPA, 2003a). In diesem Zusammenhang ist auch das sogenannte Ampelmodell zu erwähnen (siehe Papier der *Bundesanstalt für Arbeitsschutz und Arbeitsmedizin*, Gruppe 4.4 „*Risiken durch Gefahrstoffe*“ vom 5.2.2003 mit dem Titel „*Ein risikobasiertes Bewertungskonzept für den Umgang mit krebserzeugenden Stoffen*“ im Internet unter <http://www.baua.de> sowie KALBERLAH et al., 2005).

Diese einführenden, im Grunde lange bekannten Begriffserläuterungen sind hier deshalb nochmals erwähnt, weil von vielen Autoren die Ansicht vertreten wurde, es sei von der Existenz einer Wirkungsschwelle eines Stoffes - mit entsprechenden regulatorischen Konsequenzen - auszugehen, so lange eine primäre Genotoxizität nicht erwiesen sei. Hierzu beispielhaft ein Zitat von MAUDERLY (1996): „*It has been proposed (Ames & Gold, 1990, for example) that cancer in animals induced by any agent only at doses causing greatly increased cell proliferation should not be taken as a valid signal for human cancer risk from exposures that would not cause comparable proliferative responses in humans. In addressing this issue, Cohen (1995) proposed that high-to-low dose, animal-to-human extrapolation might be appropriate for genotoxic agents, but not for agents carcinogenic in animals by nongenotoxic mechanisms*“.

Das Zitat von MAUDERLY (1996) hebt insbesondere auf nicht-gentoxische Mechanismen krebserzeugender Stoffe im Unterschied zu gentoxischen Mechanismen ab. Weitere Differenzierungen werden nach primärer und sekundärer, sowie direkter und indirekter oder schwellen-behafteter Gentoxizität vorgenommen (GREIM, 2001; BOLT, 2003; HENGSTLER et al., 2003). Es erscheint hier nicht sinnvoll, diese Begriffe im Einzelnen zu definieren, weil die Verwendung in Diskussionen und in der Literatur variiert. Entscheidend ist, dass durch solche Differenzierungen die Frage einer Wirkungsschwelle für Kanzerogene und einer besonderen regulatorischen Behandlung solcher Kanzerogene angeschnitten ist. Für eine besondere Bewertung und regulatorische Behandlung von Schwellenwert-Kanzerogenen müssten drei Bedingungen erfüllt sein:

- erstens müsste ein Wirkungsmechanismus soweit geklärt sein, dass der Schwellencharakter eindeutig belegbar wäre,
- zweitens müssten andere Mechanismen als der schwellen-behaftete auszuschließen sein, und
- drittens müsste sich der Expositionswert der Schwelle in Zahlen mit großer wissenschaftlicher Sicherheit angeben lassen.

Als Beispiel für die Probleme eines solchen Ansatzes lässt sich Asbest nennen. Jahrzehnte lang wurde nach dem Mechanismus der Asbest-Kanzerogenese geforscht. Einigkeit über den wahren Mechanismus ist meines Wissens noch immer nicht erzielt. Ist Asbest primär gentoxisch? GREIM (2001) scheint primäre Gentoxizität vor allem über die Fähigkeit eines Stoffes oder eines seiner Metaboliten zur kovalenten Bindung an DNA zu definieren. Asbestfasern binden ganz sicher nicht kovalent an die DNA. Manche Autoren sehen die Kanzerogenität der Asbestfasern wohl in einer Wechselwirkung mit dem Spindelapparat der Zelle begründet, andere halten die Bildung reaktiver Sauerstoffspezies (ROS) an der Faseroberfläche für maßgeblich. In jedem Falle ist bekannt, dass ein spontan sehr seltener Tumor, das Mesotheliom, bei Hausfrauen aufgetreten ist, die nur dadurch exponiert waren, dass sie die asbestbelastete Arbeitskleidung ihrer Ehemänner reinigten. Wegen der großen Seltenheit von Mesotheliomfällen in der Allgemeinbevölkerung und der Häufung bei den betroffenen Hausfrauen geht man davon aus, dass ihre Mesotheliome durch den Asbeststaub in der Kleidung ihrer Männer verursacht wurden. Wegen der langen Tumorinduktionszeit der Mesotheliome bei Asbestarbeitern von im Mittel 30 Jahren müssen bereits die ersten Berufsjahre der Männer ausgereicht haben, um die entscheidenden Veränderungen zu induzieren, die nach Jahrzehnten zur klinisch erkennbaren Tumorbildung führten. Zusammen mit anderen empirischen Erkenntnissen über Asbestexpositionen und Krebsrisiken schließen diese Befunde praktisch aus, dass man bei Asbest eine Wirkungsschwelle zuverlässig ableiten kann. Falls man Asbest als nicht primär gentoxisch betrachtet, dann zeigt dies bereits die Problematik, von einer Schwelle einfach wegen des Fehlens primärer Gentoxizität auszugehen. Falls man Asbest heutzutage als primär gentoxisch betrachtet, dann zeigt dies, wie lange es dauern kann, bis primäre Gentoxizität eines Stoffes anerkannt wird und wie groß der Irrtum in den vielen Jahren war, in denen man Asbest als „epigenetisches“ (nicht primär gentoxisches) Kanzerogen betrachtet hat.

Bei der Beurteilung von GBS war zu prüfen, ob die drei oben genannten Bedingungen (Schwellenmechanismus geklärt - andere Mechanismen auszuschließen - große Aussagesicherheit für Zahlenwert) für die Ableitung eines Schwellenwertes erfüllt

sind. Aus den Abschnitten 5.2.1 und 5.2.3 geht hervor, dass Entzündungsreaktionen mit ROS-Bildung in der Literatur als möglicherweise entscheidender Wirkungsmechanismus der GBS-Kanzerogenese diskutiert werden, dass aber noch viele Fragen offen sind und eine Beteiligung anderer Mechanismen bisher nicht ausgeschlossen werden kann. Auch wenn man allein von einem entzündungsvermittelten Mechanismus ausgeht, ist in Frage zu stellen, dass es für die Produktion genotoxischer Sauerstoffspezies im Zusammenhang mit partikelbedingten Reaktionen von Abwehrzellen in der Lunge (Makrophagen, neutrophile Granulozyten) überhaupt eine „Schwelle“ gibt. Das relativ geringe Risiko, das durch allfällige Partikelbelastungen in der Umwelt verursacht wird, mag empirisch nicht nachweisbar, aber gleichwohl vorhanden sein (Abschnitt 5.3.6). Tierexperimentelle Daten sprechen für lineare Beziehungen zwischen der Anzahl neutrophiler Granulozyten und der retinierten Staubdosis in der Lunge (Abschnitt 5.3.1 und 5.3.2; UBA, 1999). Zwar gibt es dabei untere Dosisgruppen, bei denen keine *statistisch signifikanten* Effekte gefunden wurden und die als NOAEL bezeichnet werden können. Gleichwohl liegen die Punkte auf einer linearen Beziehung, und der Unterschied zwischen einer biologischen Schwelle und einem NOAEL wurde oben erläutert.

Es erscheint somit klar, dass sich etwas, das sich mit voller Berechtigung als „Schwellenwert der GBS-Kanzerogenität“ bezeichnen lässt, gegenwärtig und in naher Zukunft nicht ableiten lässt. Von einem Schwellenwert zu unterscheiden sind Hilfskonstruktionen oder Konventionen, die Expositionen zu ermitteln suchen, bei denen ein nur „geringes“ Risiko angenommen werden darf. Dabei sollte aber auch in der Kommunikation nicht die Gefahr einer Verwechslung mit einer Wirkungsschwelle entstehen und vor allem sollte ermittelt sein und kommuniziert werden, wie hoch das „geringe“ Risiko denn sein kann. Die Entscheidung darüber, ob man das „geringe“ Risiko als „akzeptabel“, „tolerierbar“ oder „nicht signifikant“ (im Sinne von gesellschaftlich oder ethisch signifikant) bewertet, ist keine naturwissenschaftliche Frage und kann nicht von Wissenschaftlern allein beantwortet werden. Weitere Gedanken zu diesem Fragenkomplex enthält der folgende Abschnitt 5.7.3.

Im Übrigen würde eine Diskussion über eine Wirkungsschwelle für die GBS-Kanzerogenität in der Höhe eines realisierbaren Grenzwertes bereits das prinzipielle Einvernehmen voraussetzen, eine Wirkungsschwelle unter „normalen“ Umweltbedingungen sei erwiesen, zumindest für Expositionen in Deutschland. Die inhalative Belastung durch **GBS am Arbeitsplatz** ist unter Berücksichtigung des Grenzwertes von 3 mg/m³ über 40 Jahre und des größeren Atemvolumens etwa **zwanzigmal höher als in der allgemeinen Umwelt** über 70 Jahre mit Luftkonzentrationen von 15 µg/m³ als Mittelwert (ROLLER, 2005).

5.7.3 Überlegungen zur Klassifizierung von GBS aller Größen

Aufgrund der in den vorausgegangenen Abschnitten dargestellten Zusammenhänge sehen wir ein großes Problem in den Kategorien 4 und 5 für krebserzeugende Arbeitsstoffe der MAK-Kommission (K4, K5). Diese Kategorien sind vorgesehen für krebserzeugende Stoffe, bei denen „*bei Einhaltung des MAK- und BAT-Wertes kein nennenswerter Beitrag zum Krebsrisiko für den Menschen zu erwarten*“ ist (DFG, 2006). Die Formulierung „kein nennenswerter Beitrag zum Krebsrisiko“ ist intransparent; darin sind Aspekte der Findung einer biologischen Wirkungsschwelle sowie der Risikoabschätzung, der Risikobewertung und der Einstufung für die Regulation in

nahezu unentwirrbarer Weise miteinander vermischt. Für die GBS wurde vermutet, dass ihre kanzerogene Wirkung hauptsächlich auf partikelbedingte Entzündungsreaktionen zurückzuführen ist. Es wurde diskutiert, dass deshalb eine Exposition, die nicht zu entzündlichen Reaktionen führt, nicht mit einem erhöhten Krebsrisiko verbunden sei. Eine solche Formulierung würde ein „Laie“ so verstehen, dass eine Wirkungsschwelle der GBS-Kanzerogenität existiert. Der Schluss, dass eine Exposition ohne Risikoerhöhung, also eine Wirkungsschwelle, existiere, wäre aber nicht logisch. Erstens schließt eine Formulierung wie „beruht hauptsächlich auf“ eben gerade nicht aus, dass weitere Mechanismen eine Rolle spielen können. Falls es für diese Mechanismen keine Schwelle gibt, dann gibt es auch für die GBS-Kanzerogenität keine Schwelle. Zweitens können, wie oben mehrfach erläutert, auch entzündungsbedingte Schädigungen grundsätzlich ohne Schwelle erfolgen. Drittens schließlich ist es methodisch sehr problematisch und mit großen Unsicherheiten behaftet, infolgedessen aus erkenntnistheoretischer Sicht *unmöglich*, eine Schwelle für eine genetisch heterogen zusammengesetzte Bevölkerungsgruppe mit einem „allgemein gültigen“ Zahlenwert zu fassen, selbst wenn tatsächlich ein Schwellenmechanismus vorliegt.

Eine Bewertung von GBS mit der MAK-Kategorie K4 oder K5 würde entweder den Eindruck erwecken, es liege ein Schwellenmechanismus vor und die Schwelle sei in Form des MAK-Wertes identifiziert worden. Oder sie würde den Eindruck erwecken, ein mögliches verbleibendes expositionsbedingtes Krebsrisiko unterhalb des MAK-Wertes sei sehr, sehr gering - „nicht nennenswert“. Dabei bleibt aber offen, wie hoch dieses Risiko aufgrund der Datenlage noch sein kann. Anhand der Instillations- und Inhalationsversuche mit Ratten lässt sich für den Allgemeinen Staubgrenzwert von 3 mg/m^3 gemäß TRGS 900 für Stäube mit einer Dichte von 2 g/mL sowie für den Allgemeinen Staubgrenzwert von $1,5 \text{ mg/m}^3$ gemäß MAK-Liste für Stäube mit einer Dichte von 1 g/mL ein expositionsbedingtes Krebsrisiko von 1 % berechnen. Dabei ist zu beachten, dass dieser Grenzwert nicht für ultrafeine Stäube (= Nanopartikeln) gilt.

Im Fall der GBS besteht ganz offensichtlich die - ähnlich auch von anderen Kanzerogenen bekannte - Situation, dass Tierversuche für ein Risiko von 1 % sprechen und dass diese Risikohöhe durch epidemiologische Studien weder abgesichert noch widerlegt werden kann. Es gibt epidemiologische Studien, die von manchen Autoren als Hinweis auf ein höheres Risiko als im Tierversuch interpretiert werden (Dieselruß, $\text{PM}_{2,5}$ in der Umwelt; Abschnitt 5.4.1.5), die letzte umfassende bzw. institutionelle Anerkennung eines epidemiologisch festgestellten Kausalzusammenhangs zwischen GBS-Exposition und Lungenkrebsrisiko fehlt aber. Es gibt epidemiologische Studien, die von manchen Autoren als Hinweis auf das Fehlen einer Gefährdung des Menschen interpretiert werden (Titandioxid, Kohlenrubenstaub; Abschnitte 5.4.2 und 5.4.3), bei einer solchen Interpretation bleibt aber die geringe Nachweiskraft der Studien für ein Lungenkrebsrisiko im Bereich von ungefähr 1 % und darunter unberücksichtigt (Abschnitt 5.7.1); außerdem haben wahrscheinlich Selektionseffekte (Healthy worker- bzw. Healthy worker survivor-Effekte) erhöhte Lungenkrebsrisiken z. B. im Bergbau maskiert (Abschnitt 5.4.2). Das Lungenkrebsrisiko in der männlichen Allgemeinbevölkerung verschiedener Länder und Regionen variiert in den letzten 20 Jahren im Bereich von 5 bis fast 10 %, d. h. der Anteil der Todesursache „Lungenkrebs“ an allen Todesursachen lag bzw. liegt bei den Männern zwischen 5 und 10 %. Wegen dieses hohen „Hintergrundes“, gegen den ein erhöhtes Lungenkrebsrisiko in einem Kollektiv exponierter Arbeiter nachzuweisen wäre, ist praktisch eine Risikoerhöhung nur dann auffällig, wenn eine Risikoverdopplung vorliegt, die

dann eben einem expositionsbedingten Risiko von 5 bis 10 % entspricht. Ein zusätzliches, expositionsbedingtes Lungenkrebsrisiko von 1 % oder 3 % kann vorhanden sein, ohne dass es in einer realistischen Studie überhaupt entdeckt werden kann.

Ein etwaiger Anspruch, wissenschaftlich ein Expositions-Niveau gefunden zu haben, unterhalb dessen eine Gefährdung der Gesundheit nicht mehr gegeben ist, würde also eine hohe wissenschaftliche Aussagesicherheit der hierfür verwendeten Daten und Schlussfolgerungen erfordern. Sowohl das Existieren einer Schwelle an sich als auch die mit einem Zahlenwert bezeichnete Lage dieser Schwelle müssten gut begründet sein. Es ist offensichtlich, dass die Daten zum Wirkungsmechanismus im Fall der GBS für beides nicht ausreichen. Dies kommt gerade in der in Diskussionen gebrauchten Einschränkung „hauptsächlich“ (s.o.) zum Ausdruck. Abgesehen davon, dass es Kategorien K4 und K5 (wie in der MAK-Liste) in der EU nicht gibt, wäre es daher problematisch, beispielsweise durch eine K4-Bewertung den Eindruck zu erwecken, es gäbe für GBS-Kanzerogenität eine Wirkungsschwelle im Bereich eines realistischen Allgemeinen Staubgrenzwerts, während aber gleichzeitig die wissenschaftliche Evidenz ein zusätzliches Krebsrisiko in Höhe von 1 zu 1 000 oder höher nicht ausschließen kann. Dabei ist noch einmal zu betonen, dass die Nachweisgrenze für ein sogenanntes „erhöhtes Krebsrisiko“ in Tierexperimenten und in den üblichen epidemiologischen Einzeluntersuchungen zu Lungenkrebs am Arbeitsplatz bei einem Exzess-Risiko von rund 10 % liegt. Wenn Aussagen über ein geringeres Exzess-Risiko durch Kenntnisse des Wirkungsmechanismus und empfindlichere Nachweismethoden begründet werden, so haben auch diese Methoden, wie erwähnt, zweifellos eine Nachweisgrenze. Das an der Nachweisgrenze bestehende Risiko sollte in jedem Falle beschrieben werden, um keine Sicherheit vorzutäuschen, die wissenschaftlich nicht begründet ist.

Unter diesen Vorbedingungen ist zu prüfen, ob die gegenwärtige Datenlage die Kriterien für eine Einstufung von GBS in die Kategorie 2 der krebserzeugenden Stoffe gemäß EU-Richtlinie erfüllt. Dazu seien nachfolgend vor dem Hintergrund der ausführlichen Diskussionen in diesem Bericht die Kriterien für die Kategorie 2 gemäß Anhang VI der Richtlinie 67/548/EWG kurz durchgegangen (Stand 25.05.2007 gemäß RL-67-548-EWG-Anhang-VI.pdf unter <http://www.baua.de>). Unter den Überschriften „*Einstufungskriterien und Auswahl der Gefahrenbezeichnungen sowie der Bezeichnungen besonderer Gefahren*“ und „*Krebserzeugende Stoffe*“ heißt es dort:

„Kategorie 2

Stoffe, die als krebserzeugend für den Menschen angesehen werden sollten. Es bestehen hinreichende Anhaltspunkte zu der Annahme, dass die Exposition eines Menschen gegenüber dem Stoff Krebs erzeugen kann. Diese Annahme beruht im Allgemeinen auf Folgendem:

- *geeignete Langzeit-Tierversuche,*
- *sonstige relevante Informationen.“*

Weiter heißt es dann (Unterstreichungen hinzugefügt):

„Die Aufnahme eines Stoffes in Kategorie 1 erfolgt aufgrund epidemiologischer Daten; die Aufnahme in die Kategorien 2 und 3 beruht vor allem auf Tierversuchen.

Für eine Einstufung als krebserzeugender Stoff der Kategorie 2 sollten entweder positive Ergebnisse für zwei Tierarten oder ein eindeutig positiver Nachweis für eine Tierart und unterstützende Hinweise, wie Genotoxizitätsdaten, Stoffwechsel- oder biochemische Untersuchungen, Auslösung gutartiger Tumoren, Strukturbeziehung zu anderen bekannten krebserzeugenden Stoffen oder Daten aus epidemiologischen Untersuchungen, die einen Zusammenhang nahelegen, vorliegen.“

Um das Zutreffen dieser Kriterien zu prüfen, ist zunächst die Definition des „Stoffs“ wichtig. Dies sind hier GBS im Sinne der beschriebenen Definition (Kapitel 1), wobei auch Dieselruß als GBS zu betrachten ist (Abschnitt 5.2.2). Für Dieselruß und Nanopartikeln (= ultrafeine Stäube) aus Industrieruß bzw. Titandioxid liegen eindeutig positive Ergebnisse bei zwei Stämmen der Tierart „Ratte“ nach Inhalation vor (Tab. 5.6). Von einem dritten Rattenstamm (Sprague-Dawley) liegt ein positiver Inhalationsversuch mit feinem Titandioxid vor. Ferner gibt es einen positiven Inhalationsversuch mit Talk sowie Hinweise auf einen Lungentumor erzeugenden Effekt von Kohlenstaubinhalation bei Ratten. Ein Inhalationsversuch mit Tonerstaub führte trotz insgesamt relativ niedriger Exposition zu einem Anstieg der Lungentumorhäufigkeit von der niedrigsten zur höchsten Dosisstufe am Rande der statistischen Signifikanz (höchste Konzentration niedriger als der Allgemeine Staubgrenzwert von 6 mg/m³ für besondere Arbeitsbereiche). „Negative“ Ergebnisse mit Hamstern sind nicht geeignet, die Aussagekraft dieser Ergebnisse einzuschränken, weil bei Hamstern in Inhalationsexperimenten mit mehreren Humankanzerogenen keine Lungentumoren festgestellt wurden (Asbestfasern, Bischlormethylether, PAH-reiches Pechpyrolyse-Abgas, Cadmium-Verbindungen, Quarz, Nickel-Verbindungen; s. Abschnitt 5.2.3, letzter Absatz). Sowohl für Dieselruß als auch für die inhalativ positiv getesteten Nanopartikeln bestehen enge Strukturbeziehungen zu den anderen GBS, die sich im Instillationsversuch ebenfalls als Lungentumor erzeugend bei der Ratte gezeigt haben. Es bestehen ferner Strukturbeziehungen zu Quarz, einem Stoff, der aufgrund epidemiologischer Untersuchungen als Humankanzerogen bewertet wurde und für dessen Kanzerogenität ähnliche Mechanismen der Tumorerzeugung in der Rattenlunge diskutiert wurden wie für GBS (Abschnitt 5.4.8). Auch für Dieselruß liegen epidemiologische Daten vor, die für eine Lungenkrebs erzeugende Wirkung beim Menschen sprechen (Abschnitte 5.4.1.1 - 5.1.4.5). Dieselmotoremissionen waren nur bei Ratte und Mensch mit einer statistisch signifikant erhöhten Lungentumorhäufigkeit assoziiert, jedoch nicht bei Mäusen und Hamstern; auch diese Ergebnisse sprechen für eine bessere Analogie zwischen der Partikelkanzerogenität bei Ratte und Mensch als zwischen dem Menschen und den beiden kleineren Nagerspezies.

Gemäß Richtlinie 67/548/EWG sind außerdem folgende Kriterien für eine Unterscheidung zwischen den Kategorien 2 und 3 zu beachten:

„Zur Unterscheidung zwischen den Kategorien 2 und 3 sind die nachfolgend genannten Argumente wichtig, die die Bedeutung der experimentellen Tumorauslösung im Hinblick auf eine mögliche Exposition des Menschen verringern. In den meisten Fällen würden diese Argumente, vor allem kombiniert, zu einer Einstufung in Kategorie 3 führen, auch wenn bei Tieren Tumore ausgelöst wurden:

- *krebserzeugende Wirkungen nur bei sehr hohen Dosen, die die maximal verträgliche Dosis überschreiten. Die maximal verträgliche Dosis ist gekennzeichnet durch toxische Wirkungen, die zwar noch nicht die Lebenserwartung verringern, aber mit physischen Veränderungen wie z. B. einer etwa 10%igen Verringerung der Gewichtszunahme einhergehen;*
- *Auftreten von Tumoren, besonders bei hohen Dosen, nur in besonderen Organen bestimmter Spezies, die bekanntermaßen zu einer hohen spontanen Tumorbildung neigen;*
- *Auftreten von Tumoren nur am Applikationsort in sehr empfindlichen Testsystemen (z. B. i.p. oder s.c. Verabreichung bestimmter lokal wirksamer Verbindungen), wenn das jeweilige Zielorgan für den Menschen nicht relevant ist;*
- *keine Genotoxizität in Kurzzeit-Versuchen in vivo und in vitro;*
- *Vorhandensein eines sekundären Wirkungsmechanismus aus dem ein Schwellenwert abgeleitet werden kann (z. B. hormonelle Wirkungen auf Zielorgane oder auf physiologische Regulationsmechanismen, chronische Stimulation von Zellwachstum);*
- *Vorhandensein eines artspezifischen Tumorbildungsmechanismus (z. B. über spezifische Stoffwechselwege), der für den Menschen nicht von Bedeutung ist.“*

Zu diesen Kriterien wird im Folgenden Stellung genommen:

Die krebserzeugende Wirkung von GBS wurde nicht nur bei sehr hohen Dosen beobachtet. In der 19-Stäube-Studie traten bei den meisten Stäuben signifikante Erhöhungen der Tumorfrequenz, dosisabhängig, bei mehr als einer Dosierung auf, wobei auch die höchsten Dosen die Lebenserwartung der Tiere in der Regel nicht wesentlich reduzierten und die Gewichtsentwicklung der Tiere nicht um 10 % oder mehr verzögert war (Tab. 3.3, Anhang 8.1, 8.2). Das heißt, dass die sogenannte maximal verträgliche Dosis dabei nicht überschritten wurde oder als Voraussetzung für die Tumorentstehung angesehen werden kann.

Es handelt sich nicht um Tumoren in einem besonderen Organ mit einer hohen spontanen Tumorbildung, sondern die spontane Lungentumorfrequenz bei dem Rattenstamm liegt um 1 % oder darunter (Tab. 3.8, 5.6, 5.7; RITTINGHAUSEN et al., 1996).

Tumoren traten sowohl nach Inhalation als auch nach Instillation in der Lunge auf, wobei das Zielorgan für den Menschen eindeutig relevant ist (Abschnitt 5.4.4).

Eindeutige Nachweise primärer Genotoxizität von GBS in vivo oder in vitro sind nicht bekannt.

Der Wirkungsmechanismus ist nicht soweit geklärt, dass von einer Wirkungsschwelle ausgegangen werden darf und dass diese mit einem Zahlenwert abgeleitet werden kann (Abschnitt 5.2.3; Kapitel 5.3; Abschnitte 5.7.1 - 5.7.2).

Ein artspezifischer Mechanismus ist insofern unwahrscheinlich, als epidemiologische Daten für ein erhöhtes Lungenkrebsrisiko von Menschen sprechen, die gegenüber Dieselrußpartikeln exponiert waren (Abschnitte 5.4.1.1 - 5.1.4.5; Abschnitte 5.4.5 -

5.4.7). Ferner wird die Kanzerogenese durch Quarzpartikeln und durch GBS in der Rattenlunge als einander ähnlich betrachtet und Quarzpartikeln gelten als nachgewiesenermaßen krebserzeugend auch in der menschlichen Lunge (Abschnitte 5.4.8 und 5.6.1). Dabei ist bemerkenswert, dass die Ratte gegenüber der subakuten Toxizität von Quarz erheblich weniger empfindlich reagiert als der Mensch mit dem Krankheitsbild der sogenannten akuten Silikose. Auch die Epidemiologie im Kohlenbergbau gibt Hinweise darauf, dass neben Quarz auch ein vom Quarz unabhängiger Mechanismus des Kohlenstaubes eine Tumorentstehung induziert, weil in Fall-Kontrollstudien ein höheres Lungenkrebsrisiko der Exponierten gegenüber den Nicht-Exponierten festgestellt wurde. Der fehlende Nachweis eines erhöhten Lungenkrebsrisikos der Bergleute in Kohortenstudien kann wegen wahrscheinlicher Selektionseffekte und der hohen Nachweisgrenze für das Lungenkrebsrisiko ein Risiko ähnlich der Ratte nicht ausschließen (Abschnitte 5.4.2, 5.5.2 und 5.7.1).

Insgesamt sprechen demnach alle Kriterien außer einem nicht für die niedrigere Einstufung in Kategorie 3. Die Ausnahme ist dabei das Fehlen eines eindeutigen Nachweises primärer Gentoxizität. In Abschnitt 5.7.2 ist aber unter anderem am Beispiel von Asbest erläutert, dass auch beim Fehlen eines solchen Nachweises ein bedeutendes Humankanzerogen vorliegen kann und dass dabei eine Unterscheidung nach primärem und sekundärem Wirkungsmechanismus nicht sinnvoll ist. Solche Gesichtspunkte sind auch in Kapitel 5.2 näher diskutiert. Eine Abwertung der Evidenz würde eine derzeit ungerechtfertigte Abwertung der epidemiologischen Befunde mit Dieselruß, PM_{2,5}-Feinstaub und quarzhaltigen Stäuben bedeuten, die für partikelbedingte Effekte beim Menschen sprechen, die nicht durch angelagerte organische Kanzerogene zu erklären sind (Abschnitt 5.4.1.4).

6 Schlussfolgerungen und Ausblick

Die Auswertung der 16 GBS-Typen* der 19-Stäube-Studie, darunter z. B. Titandioxid, Ruß, Dieselruß, Toner, Aluminiumverbindungen, Gesteins- und Kohlenstaub, hat gezeigt, dass die Stäube nach Instillation bei weiblichen Wistar-Ratten dosisabhängig zu statistisch signifikant erhöhten Lungentumorhäufigkeiten bis in den Bereich von 80 % führten (POTT et al., 2000; POTT und ROLLER, 2005; MOHR et al., 2006). Es handelt sich um eine Lokalisation mit einer geringen Spontanrate; die spontane Lungentumorhäufigkeit bei diesem Rattenstamm liegt um 1 % oder darunter (Tab. 3.8, 5.6, 5.7; RITTINGHAUSEN et al., 1996). Bei den meisten Stäuben traten signifikante Erhöhungen der Tumorzahlfrequenz, dosisabhängig, bei mehr als einer Dosierung auf, wobei die Dosen die Lebenserwartung der Tiere in der Regel nicht wesentlich reduzierten und die Gewichtsentwicklung der Tiere nicht um 10 % oder mehr verzögert war (Tab. 3.3, Anhang 8.1, 8.2). Das heißt, dass die sogenannte Maximal Tolerierte Dosis (MTD) dabei nicht überschritten wurde. Die grundsätzliche Ähnlichkeit von Ergebnissen mit nicht-faserigen Stäuben nach Instillation und nach Inhalation wurde dargelegt (DRISCOLL et al., 2000; ROLLER und POTT, 2006). Die höhere Empfindlichkeit der Kanzerogenitätsprüfung durch Staub*instillation* im Vergleich mit

* GBS = alveolengängige granuläre bio-beständige Stäube ohne bekannte signifikante spezifische Toxizität

der *Staubinhalation* erklärt sich durch die Verabreichung der Gesamtdosis in jungem Lebensalter und der damit verbundenen erheblich verlängerten Zeitspanne für die Entstehung von Tumoren. Die Dosis-Wirkungsbeziehungen der GBS der 19-Stäube-Studie sind plausibel - und wegen ähnlicher Lebenserwartungen der ausgewerteten Gruppen adäquat - mit dem üblichen Multistage-Modell beschreibbar; sie geben weder Hinweise auf eine Wirkungsschwelle noch auf einen relevanten Sättigungseffekt. Die Wirkungsstärke der feinen GBS mit mittlerem Durchmesser von größer 1 bis 4 μm ist - bezogen auf das Staubvolumen - relativ einheitlich um rund einen Faktor 30 geringer als diejenige von Quarz DQ12 und einen Faktor 5 bis 6 geringer als diejenige von ultrafeinen Stäuben bzw. Nanopartikeln mit mittlerem Durchmesser kleiner als 0,03 μm .

Unter Würdigung des Datenumfeldes, das in der Diskussion des vorliegenden Berichts ausführlich beschrieben ist, ergibt sich, dass sich derzeit kein Grenzwert für die Exposition gegenüber GBS am Arbeitsplatz ableiten lässt, bei dem der Öffentlichkeit wissenschaftlich zuverlässig das Fehlen eines GBS-bedingten Lungentumorrisikos zugesichert werden kann, sodass eine persönliche Unversehrtheit nicht gewährleistet ist. Nachfolgend sind die Gründe nochmals zusammenfassend kurz skizziert, weshalb sich eine solche Schwelle bzw. ein MAK-Wert für GBS nicht ableiten lassen:

1. Allgemeiner Kenntnisstand zum Wirkungsmechanismus:

Ein allein entzündungsvermittelter Mechanismus ist nicht zweifelsfrei Stand der Erkenntnis (Abschnitt 5.2.3). Selbst bei Zutreffen eines allein entzündungsvermittelten Mechanismus wäre die Existenz einer regulatorisch nutzbaren Schwelle nicht belegt. Selbst bei der Staub-Hintergrundbelastung in der allgemeinen Umwelt mögen durch Abwehrzellen produzierte reaktive Sauerstoffspezies (ROS) ein gewisses Lungentumorrisiko bewirken. Dieses relativ kleine Risiko würde keineswegs zum Aussterben der Population führen, sondern könnte der Preis dafür sein, dass die ROS-Produktion zur Keimabwehr notwendig ist. Zusätzliche, z. B. berufsbedingte, Staubexpositionen mögen das Lungenkrebsrisiko additiv zu dieser Hintergrundbelastung erhöhen (Abschnitte 5.3.2, 5.3.6). Eine Unterscheidung nach „primärem“ oder „sekundärem“ Wirkungsmechanismus ist an dieser Stelle nicht hilfreich (siehe auch Punkte 2.b und 3.c).

2. Erkenntnisse aufgrund Daten aus Langzeit-Tierversuchen

- a) Aus der 19-Stäube-Studie lassen sich in Verbindung mit Daten aus Inhalationsversuchen Exzess-Tumorrisiken berechnen (Kapitel 5.5; POTT und ROLLER, 2005; ROLLER und POTT, 2006).

Sie betragen (eine Dichte von 2 - 2,5 g/mL vorausgesetzt)

- für 100 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ ultrafeine Partikel/Nanopartikeln: 0,17 %
- für 100 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ Dieselruß (bezogen auf Rußkern): 0,07 %
- für 500 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ GBS-groß-fein (mittl. Durchm. > 1 μm): 0,17 %.

(Man kann auf breiter gesellschaftspolitischer Ebene darüber diskutieren, inwiefern solche Risiken an Arbeitsplätzen zugemutet werden dürfen bzw. zugemutet werden müssen. Wir halten uns als Wissenschaftler aber nicht für berechtigt, diese Risikowerte nicht zu erwähnen oder als „beim Menschen unwahrscheinlich“ zu übergehen; vgl. Fußnote auf S. 10, letzter Satz.)

- b) Daten aus Inhalationsversuchen zeigen mehrfach Hinweise auf eine lineare Abhängigkeit von Entzündungsmarkern von der retinierten Staubmenge. In dem Toner-Inhalationsversuch von MUHLE et al. (1991) wurden z. B. bei einem Schicht-Mittelwert von $1,2 \text{ mg/m}^3$ statistisch hoch-signifikante Erhöhungen des Anteils neutrophiler Granulozyten in der bronchoalveolären Lavageflüssigkeit festgestellt. Bei $0,3 \text{ mg/m}^3$ Tonerstaub war ein Steady-state der Clearanceprozesse nicht eindeutig erkennbar (Abschnitte 5.1.2, 5.3.2).

3. Erkenntnisse aufgrund epidemiologischer / humanmedizinischer Daten

- a) In mehreren epidemiologischen Studien an dieselbelasteten Arbeitsplätzen wurden erhöhte Lungenkrebsrisiken festgestellt (GARSHICK et al., 2004; HOFFMANN und JÖCKEL, 2006). Plausiblerweise können die Langzeit-Mittelwerte nicht höher gelegen haben als 100 bis $300 \mu\text{g Partikelkerne/m}^3$ (SÄVERIN et al., 1999). Rechnerisch sind Exzess-Risiken im Bereich von 1 % bis größer als 6 % pro $100 \mu\text{g/m}^3$ möglich (STAYNER et al., 1998; STEENLAND et al., 1998; Cal/EPA, 1998; DAWSON und ALEXEEFF, 2001). *Diese Risiken sind eindeutig höher als die aus den Rattenversuchen berechneten Risikowerte* (Abschnitt 5.4.1).
- b) Nach POPE et al. (2002) sind im Umweltbereich Erhöhungen der $\text{PM}_{2,5}$ -Konzentration um $10 \mu\text{g/m}^3$ mit signifikanten Erhöhungen des Lungenkrebsrisikos assoziiert. Nach einer Risikoabschätzung von WICHMANN (2004) für die allgemeine Umwelt ist auf ein expositionsbedingtes Lungenkrebsrisiko in Höhe von 1,7 % pro $100 \mu\text{g/m}^3$ am Arbeitsplatz zu schließen (Abschnitt 5.4.1). *Es wurde ausführlich dargelegt, dass diese Risiken durch die geringen Konzentrationen von PAH und Schwermetallen in den Umweltstäuben nicht zu erklären sind* (ROLLER, 2005, 2006).
- c) In mehreren humanmedizinischen Untersuchungen wurden bereits bei einmaliger Kurzzeit-Exposition im Bereich $100 \text{ bis } 300 \mu\text{g/m}^3$ Dieselruß Entzündungsreaktionen in der Lunge bei gesunden Probanden induziert (Abschnitt 5.3.6). Auch bei nicht beruflich belasteten Frauen aus Großstädten des Ruhrgebiets ließ sich das häufig für erwiesen gehaltene *steady state* der Staubbelastung der Lungen nicht verifizieren (EINBRODT und DOHMES, 1967).

4. Ähnlichkeiten zu den Reaktionen der Lunge auf quarzhaltige Stäube

Gemäß einem großen Teil der Literatur werden die Reaktionen der Rattenlunge auf Quarzstäube als qualitativ ähnlich denjenigen auf GBS betrachtet, wobei sich die Reaktionen quantitativ nur dadurch unterscheiden, dass im Vergleich zu den GBS wesentlich geringere Mengen an Quarz die adversen Effekte auslösen. Dies ist von Bedeutung, weil quarzhaltige Stäube von mehreren Gremien als humankanzerogen bewertet wurden und weil dabei der MAK-Wert ausgesetzt wurde (Abschnitt 5.6.1). Dabei ist ferner bemerkenswert, dass die Ratte gegenüber der subakuten Toxizität von Quarz erheblich weniger empfindlich reagiert als der Mensch mit dem Krankheitsbild der sogenannten akuten Silikose.

Bei dem beschriebenen Kenntnisstand, nach dem sich mehrere Typen von GBS bei mindestens zwei Rattenstämmen als Lungentumor erzeugend gezeigt haben und in der unterstützende Hinweise aus der Epidemiologie von Feinstäuben (insbesondere Dieselruß und quarzhaltige Stäube) vorliegen, sollten GBS (*alveolengängige granuläre bio-beständige Stäube ohne bekannte signifikante spezifische Toxizität*) als krebs-erzeugend für den Menschen angesehen werden. Die „negativen“ Befunde an Hamstern sind wegen ebenfalls „negativer“ Tumorbefunde der Hamsterlunge nach Inhalation einer ganzen Reihe ausgewiesener Humankanzerogene nicht aussagekräftig (ROLLER et al., 2006). Es versteht sich, dass in diese Bewertung auch sogenannte Nanopartikeln eingeschlossen sind, sofern sie gleichzeitig unter die GBS-Definition fallen. Die Evidenz für diese Partikeln liegt hiermit vor, auch wenn für die Stäube bei Studienbeginn nicht der Name „Nanopartikel“, sondern „ultrafeine Partikeln“ verwendet wurde (siehe Abschnitt 2.1). Sofern Nanopartikeln zusätzlich toxikologisch relevante Eigenschaften besitzen, z. B. infolge von besonderen Oberflächeneigenschaften, die durch eine sogenannte Beschichtung der Staubteilchen mit hydrophobierenden Stoffen entstanden sind, ist eine differenzierte Bewertung erforderlich. Wegen der Vielfalt solcher Oberflächenbeschichtungen von Nanopartikeln (DEGUSSA, 2007), die in großem Umfang hergestellt werden, besteht Forschungsbedarf. Diesem Hinweis sollte möglichst rasch und intensiv nachgegangen werden, denn es zeigten sich akut toxische Effekte durch ein von uns geprüftes hydrophobiertes ultrafeines Titandioxid.

In der modernen Bewertung von krebserzeugenden Stoffen wird dem Wirkungsmechanismus und der Frage nach Wirkungsschwellen besondere Bedeutung beigemessen. In diesem Zusammenhang scheint zum einen die Frage nach primärer Genotoxizität bzw. direkter Partikelwirkung auf Epithelzellen mit Initiation einer Tumorentstehung noch nicht abschließend geklärt, sodass die Kenntnisse durch weiterführende Untersuchungen möglicherweise vertieft werden können. Zum anderen haben die Untersuchungen z. B. von SALVI et al. (2000) und STENFORS et al. (2004) Hinweise auf Entzündungsreaktionen in der menschlichen Lunge nach relativ geringen Partikelexpositionen gegeben, deren Überprüfung ebenso wichtig wie langwierig erscheint. Solche noch ausstehenden weiteren Erkenntnisse sollten jedoch nicht Entscheidungen hinsichtlich der Stoffbewertung auf der vorhandenen Informationsgrundlage noch länger aufschieben.

Schließlich ist darauf hinzuweisen, dass in der Literatur die Wanderung von Nanopartikeln aus der Lunge in andere Organe diskutiert wird (OBERDÖRSTER et al., 2005). Damit stellt sich auch die Frage nach einer kanzerogenen Wirkung von Nanopartikeln in anderen Organen als der Lunge. Fragestellung der vorliegenden Studie war die Lungentumor erzeugende Wirkung. Insbesondere vor dem Hintergrund einer Differenzierung zwischen primären Lungentumoren und Lungenmetastasen anderer Primärtumoren wurde jedoch in der 19-Stäube-Studie systematisch tumorverdächtiges Gewebe aus dem Brust- und Bauchraum entnommen. Dies ist zwar keine vollständige Pathologie im Sinne einer Screeningstudie, in der systematisch bestimmte Organe auch bei unauffälligem makroskopischen Befund entnommen werden, wegen des großen Aufwands einer neuen Untersuchung erscheint es aber sinnvoll, zuvor die vorliegenden Daten und das Gewebematerial der Hochdosisgruppen, die mit Aluminiumoxid, Aluminiumsilikat oder Ruß behandelt wurden, auf Befunde zu dieser Fragestellung zu prüfen.

7 Literatur

Ames, B.N.: Endogenous DNA damage as related to cancer and aging. *Mutation Res.* 214 (1989), 41-46. Zitiert nach Simons (1995)

Ames, B.N.; Gold, L.S.: Too many rodent carcinogens: mitogenesis increases mutagenesis. *Science* 249 (1990), 970-971. Zitiert nach Mauderly (1996)

Anttila, S.; Grekula, A.; Sutinen, S.; Kalliomäki, P.-L.; Sivonen, S.J.; Nickels, J.: Inhaled manual metal arc and shieldgas stainless and mild steel welding fumes in rat lung. *Ann. occup. Hyg.* 32 suppl. 1 (1988), 225-235. (Inhaled Particles VI)

Antonini, J.; Roberts, J.; Taylor, M.; Clarke, R.: The effects of metals on innate lung defense mechanisms. In: *Effects of Air Contaminants on the Respiratory Tract – Interpretations from Molecules to Meta Analysis. 9th International Symposium (INIS), June 11 - 14, 2003. Abstract A 30*

Armbruster, L.; Bozorg-Zadeh, F.; Emmerichs, M.: Untersuchungen zur Korngrößenverteilung von Grubenstäuben und deren Mineralzusammensetzung. In: *Der Minister für Wirtschaft, Mittelstand und Technologie des Landes Nordrhein-Westfalen (Hrsg.): Ergebnisse von Untersuchungen auf dem Gebiet der Staub- und Silikosebekämpfung im Steinkohlenbergbau. Arbeitsgemeinschaft Staub- und Silikosebekämpfung, Silikosebericht Nordrhein-Westfalen, Band 16. Essen: Steinkohlenbergbauverein 1987, 103-111*

BArbBl. (Bundesarbeitsblatt) Nr. 10/1998, S. 74-76

BArbBl. (Bundesarbeitsblatt) Nr. 4/1999, S. 42

Barig, A.; Blome, M.: Allgemeiner Staubgrenzwert. *Gefahrstoffe - Reinhalt. Luft* 61 (2001), 487-492

Bayer: Gebrauchsinformationen. Packungsbeilage zu Avalox® 400 mg Filmtabletten. Pharmazeutischer Unternehmer: Bayer Vital GmbH, Leverkusen. Stand der Information: Juli 2001

Becklake, M.R.: Workplace pollution and airway disease: evidence from community and workforce based studies. In: *Mohr, U.; Dungworth, D.L.; Brain, J.D.; Driscoll, K.E.; Grafström, R.C.; Harris, C.C. (Hrsg.): Relationships Between Respiratory Disease and Exposure to Air Pollution. ILSI monographs. Washington, D.C: ILSI Press 1998, 133-145*

Bellmann, B.; Muhle, H.; Creutzenberg, O.; Dasenbrock, C.; Kilpper, R.; McKenzie, J.C.; Morrow, P.; Mermelstein, R.: Lung clearance and retention of toner, utilizing a tracer technique, during chronic inhalation exposure in rats. *Fundam. Appl. Toxicol.* 17 (1991), 300-313

Bellmann, B.; Creutzenberg, O.; Ale, H.; Mermelstein, R.: Models of deposition, retention and clearance of particles after dust overloading of lungs in rats. *Ann. occup. Hyg.* 38, Suppl. 1 (1994), 303-311

Bellmann, B.; Ernst, H.; Mohr, U.: Histologische Diagnose von Rattenlungen nach Belastung mit granulären, biopersistenten Stäuben. Abschlussbericht des Forschungsvorhabens F 2007. Auftraggeber: Bundesanstalt für Arbeitsschutz und Arbeitsmedizin, Friedrich-Henkel-Weg 1-25, 44149 Dortmund. Prüfeinrichtung: Fraunhofer Institut Toxikologie und Experimentelle Medizin (Fraunhofer ITEM), Nikolai-Fuchs-Straße 1, 30625 Hannover. 332 S., 2005

Bellmann, B.; Ernst, H.; Kolling, A.; Pott, F.: Histologische und bildanalytische Untersuchungen über die entzündliche und fibrotische Wirkung von Ultrafeinstäuben aus der 19-Stäube-Kanzerogenitätsstudie. Abschlußbericht für die Vereinigung der Metall-Berufsgenossenschaften, Düsseldorf. 15. März 2006

Bergbau-Forschung GmbH Essen (Hrsg.): Charakterisierung von Grubenstäuben hinsichtlich ihrer spezifischen Schädlichkeit (Staubmessungen). Wissenschaftlicher Abschlußbericht für die Kommission der Europäischen Gemeinschaften, Forschungs Nr. 7260-03/040/01, Forschungszeitraum: 1.10.1987 - 30.9.1989. Essen: Bergbau-Forschung GmbH 1989a

Bergbau-Forschung GmbH Essen (Hrsg.): Charakterisierung von Grubenstäuben hinsichtlich ihrer spezifischen Schädlichkeit (Pneumokoniosen). Wissenschaftlicher Abschlußbericht für die Kommission der Europäischen Gemeinschaften, Forschungs Nr. 7260-04/046/01, Forschungszeitraum: 1.10.1987 - 30.9.1989. Essen: Bergbau-Forschung GmbH 1989b

Bhatia, R.; Lopipero, P.; Smith, A.H.: Diesel exhaust exposure and lung cancer. *Epidemiology* 9 (1998), 84-91

BlmschV 22 2002: Zweiundzwanzigste Verordnung zur Durchführung des Bundes-Immissionsschutzgesetzes. BGBl I 2002, 3626

Bolm-Audorff, U.; Möhner, M.; Morfeld, P.; Ahrens, W.; Brüske-Hohlfeld, I.; Jöckel, K.H.; Pohlbladen, H.; Wichmann, H.E.: Lungenkrebsrisiko durch berufliche Exposition - Quarzstäube. In Jöckel, K.H.; Brüske-Hohlfeld, I.; Wichmann, H.E. (Hrsg.): Lungenkrebsrisiko durch berufliche Exposition. Fortschritte der Epidemiologie. Ecomed, Landsberg/Lech 1998, 186-209

Bolt, H.M.: Genotoxicity - threshold or not? Introduction of cases of industrial chemicals. *Toxicology Letters* 140-141 (2003), 43-51

Bolton, R.E.; Vincent, J.H.; Jones, A.D.; Addison, J.; Beckett, S.T.: An overload hypothesis for pulmonary clearance of UICC amosite fibres inhaled by rats. *Br. J. ind. Med.* 40 (1983), 264-272

Boorman, G.A.; Brockmann, M.; Carlton, W.C.; Davis, J.M.G.; Dungworth, D.L.; Hahn, F.F.; Mohr, U.; Richter-Reichhelm, H.-B.; Turusov, V.S.; Wagner, B.M.: Classification of cystic keratinizing squamous lesions of the rat lung: report of a Workshop. *Toxicol. Pathol.* 24 (1996), 564-572

Borm, P.J.A.; Höhr, D.; Steinfartz Y.; Zeitträger, I.; Albrecht, C.: Chronic inflammation and tumor formation in rats after intratracheal instillation of high doses of coal dusts, titanium dioxides, and quartz. *Inhal. Toxicol.* 12 (Suppl. 3) (2000), 225-231

Borm, P.J.A.; Schins, R.P.F.; Albrecht, C.: Inhaled particles and lung cancer, part B: paradigms and risk assessment. *Int. J. Cancer* 110 (2004), 3-14

Brockhaus, A.: Die Auflösung von Lungengewebe in Ameisensäure. In: Ergebnisse von Untersuchungen auf dem Gebiet der Staub- und Silikosebekämpfung im Steinkohlenbergbau. Silikosebericht Nordrhein-Westfalen Bd. 7. Detmold: Hermann Bösmann GmbH 1969, 79

Brockmann, M.; Fischer, M.; Müller, K.-M.: Exposure to carbon black: a cancer risk? In. *Arch. Occup. Environ. Health*, 71 (1998), 85-99

Brown, A.M.; Christie, D.; Taylor, R.; Seccombe, M.A.; Coates, M.S.: The occurrence of cancer in a cohort of New South Wales coal miners. *Austr. N.Z. J. Public Health* 21 (1997), 29-32

Bruch, J.; Hilscher, W.; Schlipkötter, H.W.: Specific harmfulness of respirable dusts from west German coal mines. IV: Results of the quantitative lymph node test. *Ann. occup. Hyg.* 26 (1982), 505-509. (Inhaled Particles V)

Bruch, J.; Joos, M.-R.; Reisner, M.T.R.; Rosmanith, J.: Untersuchungen zur spezifischen Schädlichkeit von Feinstäuben des Steinkohlenbergbaus. XVII. Vergleich der Ergebnisse von Tier- und Zellversuchen. In: Ergebnisse von Untersuchungen auf dem Gebiet der Staub- und Silikosebekämpfung im Steinkohlenbergbau. Silikosebericht Nordrhein-Westfalen Bd. 14. Essen: Steinkohlenbergbauverein 1983, 241-255

Bruch, J.; Hilscher, W.: Effects of particle size of coal mine dusts in experimental anthracosilicosis. III. Tissue reactions in lymph nodes. *Ann. occup. Hyg.* 32 (1988), 603-610. (Inhaled Particles VI)

Brüske-Hohlfeld, I.; Möhner, M.; Ahrens, W.; Pohlabein, H.; Heinrich, J.; Kreuzer, M.; Jöckel, K.-H.; Wichmann, H.E.: Lung cancer risk in male workers occupationally exposed to diesel motor emissions in Germany. *Am. J. Ind. Med.* 36 (1999), 405-414

Brunauer, S.; Emmet, P.H.; Teller, E.: Adsorption of gases in multimolecular layers. *J. Amer. Chem. Soc.* 60 (1938), 309-319

Busch, R.H.; Filipy, R.E.; Karagianes, M.T.; Palmer, R.F.: Pathologic changes associated with experimental exposure of rats to coal dust. *Environ. Res.* 24 (1981), 53-60

Cal/EPA (Californian Environmental Protection Agency): Findings of the Scientific Review Panel on THE REPORT ON DIESEL EXHAUST as adopted at the Panel's April 22, 1998, Meeting. Anlage zum Schreiben des Vorsitzenden des Scientific Review Panel an den Vorsitzenden des Air Resources Board des Staates Kalifornien, 27. Mai 1998 (Anhang zu Resolution 98-35 des Air Resources Board vom 27. August 1998). Veröffentlicht auf der Website der Cal/EPA.

<http://www.calepa.ca.gov>

Cheng, Y.S.; Yeh, H.C.; Mauderly, J.L.; Mokler, B.V.: Characterization of diesel exhaust in a chronic inhalation study. *Am. Ind. Hyg. Ass. J.* 45 (1984), 547-555

Churg, A.: The uptake of mineral particles by pulmonary epithelial cells. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 154 (1996), 1124-1140

Cohen, S.M.: Human relevance of animal of animal carcinogenicity studies. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 21 (1995), 75-80. Zitiert nach Mauderly (1996)

Costantino, J.P.; Redmond, C.K.; Bearden, A.: Occupationally related cancer risk among coke oven workers: 30 years of follow-up. *J. Occup. Environ. Med.* 37 (1995), 597-604

Cox, L.A. jr.: Does Diesel Exhaust Cause Human Lung Cancer? *Risk Analysis* 17 (1997), 807-829

Crump, K.S.: Calculation of benchmark doses from continuous data. *Risk Analysis* 15 (1995), 79-89

Crump, K.: Modeling lung cancer risk from diesel exhaust: suitability of the railroad worker cohort for quantitative risk assessment. *Risk Anal.* 21 (2001), 19-23

Csicsaky, M.; Roller, M.; Pott, F.: Quantitative Risikoabschätzungen für ausgewählte krebserzeugende Arbeitsstoffe. Bundesanstalt für Arbeitsschutz (Hrsg.) Bremerhaven: Wirtschaftsverlag NW, Verlag für neue Wissenschaft. 1993. (Schriftenreihe der Bundesanstalt für Arbeitsschutz. - Sonderschrift - S 31. Dortmund)

Dai, J.; Gilks, B.; Price, K.; Churg, A.: Mineral dusts directly induce epithelial and interstitial fibrogenic mediators and matrix components in the airway wall. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 158 (1998), 1907-1913

Dasenbrock, C.; Peters, L.; Creutzenberg, O.; Heinrich, U.: The carcinogenic potency of carbon particles with and without PAH after repeated intratracheal administration in the rat. *Toxicol. Lett.* 110 (1996), 1-7

Dawson, S.V.; Alexeeff, G.V.: Multi-stage model estimates of lung cancer risk from exposure to diesel exhaust, based on a U.S. railroad worker cohort. *Risk Anal.* 21 (2001a), 1-18

Dawson, S.V.; Alexeeff, G.V.: Letter to the Editor. Response to commentary. *Risk Anal.* 21 (2001b), 213-216

Degussa: Aluminiumsilikat P820 für Dispersionsfarben und Malerlacke. Schriftenreihe Pigmente Nr. 34. Fig. 34-2-2-882 K. Frankfurt 11, August 1982

Degussa: Über biologische Wirkungen von SiO₂, Al₂O₃ und TiO₂. Schriftenreihe Pigmente Nr. 64. Fig. 64-3-205-583. Frankfurt, Mai 1983a

Degussa: Fällungskieselsäuren und Silikate; Herstellung, Eigenschaften und Anwendungen. PT 71-0-5-983 He. Frankfurt am Main, 1983b

Degussa: AEROSIL®. PT 6-24-2-1084 H. Frankfurt, 1984

Degussa: Hochdisperse Metalloxide nach dem AEROSIL®-Verfahren. Schriftenreihe Pigmente Nr. 56. Fig. 56-5-3-289 DD, 4. Aufl. Frankfurt 11, Februar 1989

Degussa: Was ist Ruß? PT 17-15-3-1191 Be, 1991

Degussa: Pigmentruße/Pigment Blacks. Technische Daten/Technical Data. PT 10-27-4-194 Ha Prosp.Nr. 1000/0/1. Frankfurt am Main, 1994

Degussa: Hochdisperses Titandioxid für Sonnenschutzmittel. Technische Information TI 1176. Hanau, Frankfurt/Main, 1996

Degussa: Creating essentials. AEROSIL® invented to improve. Product Overview. Datenblätter (Physico-chemical Data of AEROSIL® Types): Hydrophilic Pyrogenic Silicas, Hydrophilic Pyrogenic Metal Oxides, Hydrophobic Pyrogenic Silicas, Special Hydrophobic Silicas, Hydrophobic Metal Oxides, Pyrogenic Mixed Oxides, Dispersions. Broschüre zu beziehen über die Website www.aerosil.com, geliefert Januar 2007

DFG (Deutsche Forschungsgemeinschaft): MAK- und BAT-Werte-Liste 2002. Senatskommission zur Prüfung gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe. Mitteilung 38. Weinheim: WILEY-VCH, 2002

DFG (Deutsche Forschungsgemeinschaft): MAK- und BAT-Werte-Liste 2006. Senatskommission zur Prüfung gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe. Mitteilung 42. Weinheim: WILEY-VCH, 2006

Dieter, H.H.; Konietzka, R.: Ein Kommentar aus regulatorischer Sicht zum Beitrag: „Die Risikobewertung von Kanzerogenen und die Wirkungsschwelle, Teil I bis III“. Bundesgesundheitsbl - Gesundheitsforsch - Gesundheitsschutz 49 (2006), 921–925

DMT-Gesellschaft für Forschung und Prüfung mbH (Hrsg.): Charakterisierung von Grubenstäuben hinsichtlich ihrer spezifischen Schädlichkeit (Pneumokokonisen). Wissenschaftlicher Abschlussbericht über die Forschungsvereinbarung Nr. 7280-03/027/01 für die Kommission der Europäischen Gemeinschaften. Forschungszeitraum 01.05.1991 bis 30.04.1994. Essen, 1994

Dockery, D.W.; Pope, C.A.3rd.; Xu, X., Spengler, J.D.; Ware, J.H.; Fay, M.E.; Ferris, B.G.Jr.; Speizer, F.E.: An association between air pollution and mortality in six U.S. cities. N. Engl. J. Med. 329 (1993), 1753-1759

Driscoll, K.E.: Role of inflammation in the development of rat lung tumors in response to chronic particle exposure. *Inhal. Toxicol.* 8 (1996), Suppl. 139-153

Driscoll, K.E.; Deyo, L.C.; Carter, J.M.; Howard, B.W.; Hassenbein, D.G.; Bertram, T.A.: Effects of particle exposure and particle-elicited inflammatory cells on mutation in rat alveolar epithelial cells. *Carcinogenesis* 18 (1997), 423-430

Driscoll, K.E.; Costa, D. L.; Hatch, G.; Henderson, R.; Oberdörster, G.; Salem, H.; Schlesinger, R.B.: Intratracheal instillation as an exposure technique for the evaluation of respiratory tract toxicity: uses and limitations. *Toxicol. Sciences* 55 (2000), 24-35

Driscoll, K.E.; Carter, J.M.; Borm, P.J.A.: Antioxidant defense mechanisms and the toxicity of fibrous and nonfibrous particles. *Inhal. Toxicol.* 14 (2002), 101-118

Dungworth, D.L.; Hahn, F.; Hayashi, Y.; Keenan, K.; Mohr, U.; Rittinghausen, S.; Schwartz, L.: Respiratory system. In: Mohr, U. (Hrsg.): International classification of rodent tumours. Part 1: The rat. 1. Respiratory system, IARC Sci. Publ. No. 122. Lyon: International Agency for Research on Cancer, 1992

Ebbesen, P.: Cancer and normal ageing. In: Mechanisms of ageing and development, 25 (1984), 269-283. Elsevier Scientific Publishers Ireland Ltd. 1984

Eickhoff, K.-P.: Bestimmung von Dichte, spezifischer Partikeloberfläche und Partikelgröße. Prüfbericht Nr. B0104014 der Gesellschaft für Oberflächen- und Festkörperuntersuchungen mbH für die Bundesanstalt für Arbeitsschutz und Arbeitsmedizin, Dortmund (Auftrags-Nr.Z2.2-14120 F1843). Hamburg, 2001

Einbrodt, H.J.: Der Aussagewert von Lungenstaubanalysen. *Arbeitsmed. - Sozialmed. - Arbeitshyg.* 4 (1967), 142-143

Einbrodt, H.J.; Dohmes, H.B.: Die Staubablagerung in den Lungen weiblicher Bewohner industrieller Ballungszentren. *Arch. Hyg. Bakt.* 150 (1967), 413-418

Einbrodt, H.J.; Graber, H.; Fitzek, J.: Untersuchungen am isolierten Lungenstaub aus akuten Silikosen. *Beitr. Silikoseforsch.* 47 (1957), 21-37

Einbrodt, H.J.; Klosterkötter, W.; Metze, H.: Vergleichende Untersuchungen über die Korngröße retinierter Stäube in den Lungen von Mensch und Tier. *Beitr. Silikoseforsch. S-Bd Grundfragen Silikoseforsch. Bd6* (1965), 491-495

Ernst, H.; Dungworth, D.L.; Kamino, K.; Rittinghausen, S.; Mohr, U.: Nonneoplastic lesions in the lungs. In: Mohr, U.; Dungworth, D.L.; Capen, C.C.; Carlton, W.W.; Sundberg, J.P.; Ward, J.M. (Hrsg.) ILSI Monograph on the Pathobiology of the Aging Mouse. Washington, D.C., USA: ILSI Press 1996, 281-300

Ernst, H.; Rittinghausen, S.; Bartsch, W.; Creutzenberg, O.; Dasenbrock, C.; Görlitz, B.; Hecht, M.; Kairies U.; Muhle H.; Müller M.; Heinrich U.; Pott, F.: Pulmonary inflammation in rats after intratracheal instillation of quartz, amorphous SiO₂, carbon black, and coal dust and the influence of poly-2-vinylpyridine-N-oxide (PVNO). *Exp. Toxicol. Pathol.* 54 (2002), 109-126

Ernst, H.; Kolling, A.; Bellmann, B.; Rittinghausen, S.; Heinrich, U.; Pott, F.: Pathogenetische und immunbiologische Untersuchungen zur Frage: Ist die Extrapolation der Staubkanzerogenität von der Ratte auf den Menschen gerechtfertigt? Teil II: Histologie. Abschlussbericht. Umweltforschungsplan des Bundesministeriums für Umwelt, Naturschutz und Reaktorsicherheit. November 2005.
<http://www.umweltdaten.de/publikationen/fpdf-l/3033.pdf>

Ferin, J.; Feldstein, M.L.: Pulmonary clearance and hilar lymph node content in rats after particle exposure. *Environ. Res.* 16 (1978), 342

Forth, W.; Henschler, D.; Rummel, W.; Starke, K.: Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie. Heidelberg, Berlin, Oxford: Spektrum akademischer Verlag, 1998

Friedrichs, K.H.: Bericht über die elektronenmikroskopische Einzelpartikelanalyse. In: Charakterisierung von Grubenstäuben hinsichtlich ihrer spezifischen Schädlichkeit – Staubmessung und -analyse. Wissenschaftlicher Abschlussbericht über die Forschungsvereinbarung Nr. 7263-02/079/01 für die Kommission der Europäischen Gemeinschaften, Generaldirektion V. Berichtszeitraum 07.05.1991 bis 30.04.1994. Essen: DMT 1994, getr. pagiert

Garshick, E.; Schenker, M.B.; Munoz, A.; Segal, M.; Smith, T.J.; Woskie, S.R.; Hammond, S.K.; Speizer, F.E.: A retrospective cohort study of lung cancer and Diesel exhaust exposure in railroad workers. *Am. Rev. Respir. Dis.* 137 (1988), 820-825

Garshick, E.; Laden, F.; Hart, J.E.; Rosner, B.; Smith, Th.J.; Dockery, D.W.; Speizer, F.E.: Lung Cancer in Railroad Workers Exposed to Diesel Exhaust. *Environ. Health Perspect.* 112 (2004), 1539-1543

GefStoffV (Verordnung zum Schutz vor gefährlichen Stoffen. Gefahrstoffverordnung - GefStoffV -). Stand 01. Januar 2003. (Eingestellt ins Internet von der Bundesanstalt für Arbeitsschutz und Arbeitsmedizin. Dortmund. 2003.
<http://www.baua.de>.)

GefStoffV (Verordnung zum Schutz vor Gefahrstoffen. Gefahrstoffverordnung - GefStoffV). Vom 23. Dezember 2004 (BGBl. I S 3758), geändert durch Artikel 2 der Verordnung vom 23. Dezember 2004 (BGBl. I S 3855), 2004.
<http://www.baua.de>

Geigy A.G., J.R., Pharma (Hrsg.): Documenta Geigy, Wissenschaftliche Tabellen. 7. Aufl. Redaktion: Diem, K.; Lentner, C., Basel, 1968

Gore, D.J.; Patrick, G.: A quantitative study of the penetration of insoluble particles into the tissue of the conducting airways. *Ann. occup. Hyg.* 26 (1982), 149-161

Greim, H. (Hrsg.): Gesundheitsschädliche Arbeitsstoffe. Toxikologisch-arbeitsmedizinische Begründungen von MAK-Werten (Maximale Arbeitsplatzkonzentrationen) der Senatskommission zur Prüfung gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe der Deutschen Forschungsgemeinschaft. Allgemeiner Staubgrenzwert. Loseblattsammlung, 25. Lieferung. Weinheim: Wiley-VCH, 1997

Greim, H. (Hrsg.): Gesundheitsschädliche Arbeitsstoffe. Toxikologisch-arbeitsmedizinische Begründungen von MAK-Werten (Maximale Arbeitsplatzkonzentrationen) der Senatskommission zur Prüfung gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe der Deutschen Forschungsgemeinschaft. Steinkohlengrubenstaub. Loseblattsammlung, 27. Lieferung. Weinheim: Wiley-VCH, 1998a

Greim, H. (Hrsg.): Gesundheitsschädliche Arbeitsstoffe. Toxikologisch-arbeitsmedizinische Begründungen von MAK-Werten (Maximale Arbeitsplatzkonzentrationen). Änderung der Einstufung krebserzeugender Arbeitsstoffe. abgeschlossen am 31.03.1998. Loseblattsammlung, 26. Lieferung. Weinheim: Wiley-VCH, 1998b

Greim, H. (Hrsg.): Gesundheitsschädliche Arbeitsstoffe. Toxikologisch-arbeitsmedizinische Begründungen von MAK-Werten (Maximale Arbeitsplatzkonzentrationen) der Senatskommission zur Prüfung gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe der Deutschen Forschungsgemeinschaft. Siliciumdioxid, kristallin. Quarz-, Cristobalit-, Tridymitstaub (alveolengängiger Anteil). Loseblattsammlung, 29. Lieferung. Weinheim: Wiley-VCH, 1999

Greim, H. (Hrsg.): Gesundheitsschädliche Arbeitsstoffe. Toxikologisch-arbeitsmedizinische Begründungen von MAK-Werten (Maximale Arbeitsplatzkonzentrationen). Änderung der Einstufung krebserzeugender Arbeitsstoffe. Nachtrag 2000. Loseblattsammlung, 30. Lieferung. Weinheim: Wiley-VCH, 2000

Greim, H.: Use of covalent binding in risk assessment. Adv. Exp. Med. Biol. 500 (2001), 715-722

Greim, H. (Hrsg.): Gesundheitsschädliche Arbeitsstoffe. Toxikologisch-arbeitsmedizinische Begründungen von MAK-Werten (Maximale Arbeitsplatzkonzentrationen). Bearbeitet von den Arbeitsgruppen „Aufstellung von MAK-Werten“, „MAK-Werte und Schwangerschaft“, „Bewertung von Kühlschmierstoff-Komponenten“, „Haut und Allergie“ und „Festlegung von Grenzwerten für Stäube“ der Senatskommission zur Prüfung gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe der Deutschen Forschungsgemeinschaft. Herausgegeben vom Vorsitzenden der Kommission, Prof. Dr. Helmut Greim, München. Weinheim: Wiley-VCH. Losebl.-Ausg. 1.-39. Lieferung Stand: 2004

Greim, H.; Borm, P; Schins, R.; Donaldson, K.; Driscoll, K.; Hartwig, A.; Kuempel, E.; Oberdörster, G.; Speit, G.: Toxicity of fibers and particles - Report of the workshop held in Munich, Germany, 26 - 27 October 2000. Inhal. Toxicol. 13 (2001), 737-754

Guschall, W.-R.; Liebetreu, G.; Dittrich I.; Schirpke, C.: Erkrankungsdauer und Todesursachen bei Patienten mit fibrosierender Alveolitis/Lungenfibrose. Atemw.-Lungenkrkh. 24 (1998), 110-116

Hartwig, A.: Role of DNA Repair in Particle- and fiber-induced lung injury. *Inhal. Toxicol.* 14 (2002), 91-100

HEI (Health Effects Institute): Diesel exhaust: a critical analysis of emissions, exposure, and health effects. A special report of the institute's Diesel working group. Health Effects Institute, Cambridge, MA, 1995

Heinrich, U.; Muhle, H.; Takenaka, S.; Ernst, H.; Fuhst, R.; Mohr, U.; Pott, F.; Stöber, W.: Chronic effects on the respiratory tract of hamsters, mice and rats after long-term inhalation of high concentrations of filtered and unfiltered diesel engine emissions. *J. Appl. Toxicol.* 6 (1986a), 383-395

Heinrich, U.; Pott, F.; Rittinghausen, S.: Comparison of chronic inhalation effects in rodents after long-term exposure to either coal oven flue gas mixed with pyrolyzed pitch or Diesel engine exhaust. In: Ishinishi, N.; Koizumi, A.; McClellan, R.O.; Stöber, W. (Hrsg.): Carcinogenic and mutagenic effects of Diesel engine exhaust. Amsterdam: Elsevier Sci. Publ. (Biomedical Div.) 1986b, 441-457 (Developments in Toxicology and Environmental Science. Vol. 13)

Heinrich, U.; Dungworth, D.L.; Pott, F.; Peters, L.; Dasenbrock, C.; Levsen, K.; Koch, W.; Creutzenberg, O.; Schulte, A.: The carcinogenic effects of carbon black particles and tar-pitch condensation aerosol after inhalation exposure of rats. *Ann. occup. Hyg.* 38 (1994) Suppl. 1, 351-356. (Inhaled Particles VII)

Heinrich U.; Fuhst, R.; Rittinghausen, S.; Creutzenberg, O.; Bellmann B.; Koch, W.; Levsen, K.: Chronic inhalation exposure of Wistar rats and two different strains of mice to Diesel engine exhaust, carbon black and titanium dioxide. *Inhal. Toxicol.* 7 (1995), 533-556

Hengstler, J.G.; Bogdanffy, M.S.; Bolt, H.M.; Oesch, F.: CHALLENGING DOGMA: Thresholds for genotoxic carcinogens? The case of vinyl acetate. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 43 (2003), 485-520

Henschler, D. (Hrsg.): Gesundheitsschädliche Arbeitsstoffe. Toxikologisch-arbeitsmedizinische Begründungen von MAK-Werten (Maximale Arbeitsplatzkonzentrationen) der Senatskommission zur Prüfung gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe der Deutschen Forschungsgemeinschaft. Allgemeiner Staubgrenzwert, abgeschlossen am 19.5.1983. Loseblattsammlung. Weinheim: Wiley-VCH, 1983

Henschler, D. (Hrsg.): Gesundheitsschädliche Arbeitsstoffe, Toxikologisch-arbeitsmedizinische Begründungen von MAK-Werten. Aluminium. Aluminium als Metall, Aluminiumoxid und Aluminiumhydroxid. Abgeschlossen am 27.5.1986. Loseblattsammlung. DFG, Deutsche Forschungsgemeinschaft. Weinheim: VCH, 1986

Hext, P.M.: Current perspectives on particulate induced pulmonary tumours. *Human Exp. Toxicol.* 13 (1994), 700-715

Hill, A.B.: The environment and disease: association or causation? *Proc. R. Soc. Med.* 58 (1965), 295-300

Hilscher, W.; Kemper, M.; Rosmanith, J.; Molik, B.; Grover, R.: Untersuchungen zur spezifischen Schädlichkeit von Feinstäuben des Steinkohlenbergbaus. XV. Morphometrische Untersuchungen zur fibrogenen und lymphocytären Wirkung von Grubenstäuben in den Medialstinalymphknoten nach intratrachealer Verabreichung. In: Ergebnisse von Untersuchungen auf dem Gebiet der Staub- und Silikosebekämpfung im Steinkohlenbergbau. Silikosebericht Nordrhein-Westfalen Bd. 14. Essen: Steinkohlenbergbauverein 1983, 213-225

Hilscher, W.; Kah, R.; Rosmanith, J.; Grover, R.; Hilscher, B.: Morphometrische Untersuchungen an grubenstaubinduzierten Granulomen in den Lungen und Lymphknoten von Ratten nach intratrachealer Instillation. In: Ergebnisse von Untersuchungen auf dem Gebiet der Staub- und Silikosebekämpfung im Steinkohlenbergbau. Silikosebericht Nordrhein-Westfalen Bd. 16. Essen: Steinkohlenbergbauverein 1987, 287-303

Hodgson, J.T.; Jones, R.D.: A mortality study of carbon black workers employed at five United Kingdom factories between 1947 and 1980. Arch. environ. Health, 40 (1985), 261-268. Zitiert nach IARC (1996)

Hoffmann, B.; Jöckel, K.-H.: Lung cancer risk of occupational exposure to diesel motor emissions and coal mine dust. Ann. N.Y. Acad. Sci. 1076 (2006), 253-265

IARC (International Agency for Research on Cancer): IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risk of chemicals to humans. Vol. 46: Engine exhausts and nitroarenes. World Health Organization, International Agency for Research on Cancer, Lyon 1989

IARC (International Agency for Research on Cancer): IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Vol. 49: Chromium, Nickel and Welding. Nickel and Nickel Compounds 257-445. World Health Organization, International Agency for Research on Cancer, Lyon 1990

IARC (International Agency for Research on Cancer): IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Vol. 58: Beryllium, Cadmium, Mercury, and Exposures in the Glass Manufacturing Industry. Cadmium and Cadmium Compounds 119-237. World Health Organization, International Agency for Research on Cancer, Lyon 1993

IARC (International Agency for Research on Cancer): IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Vol. 65: Printing Processes and Printing Inks, Carbon Black and Some Nitro Compounds. Carbon Black 149-262. World Health Organization, International Agency for Research on Cancer, Lyon 1996

IARC (International Agency for Research on Cancer): IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Vol. 68: Silica, Some Silicates, Coal Dust and para-Aramid Fibrils. Silica. 41-242. World Health Organization, International Agency for Research on Cancer, Lyon 1997

Ichinose, T.; Yajima, L.Y.; Nagashima, M.; Takenoshita, S.; Nagamachi, Y.; Sagai, M.: Lung carcinogenesis and formation of 8-hydroxy-deoxyguanosine in mice by diesel exhaust particles. *Carcinogenesis* 18 (1997), 185-192

ILSI, Risk Sciences Institute Workshop Participants: The relevance of the rat lung response to particle overload for human risk assessment: A workshop consensus report. *Inhal. Toxicol.* 12 (2000), 1-17

Iwai, K.; Adachi, S.; Takahashi, M.; Möller, L.; Udagawa, T.; Mizuno, S.; Sugawara, I.: Early oxidative DNA Damages and late development of lung cancer in Diesel exhaust-exposed rats. *Envir. Research A* 84 (2000), 255-264

Jöckel, K.-H., Ahrens, W., Jahn, I., Pohlabein, H., Bolm-Audorff, U.: Untersuchungen zu Lungenkrebs und Risiken am Arbeitsplatz (Schlußbericht), Schriftenreihe der Bundesanstalt für Arbeitsmedizin, Forschung Fb 01 HK 546. Wirtschaftsverlag NW, Bremerhaven, 1995

Johnston, C.J.; Driscoll, K.E.; Finkelstein, J.N.; Baggs, R.; O'Reilly, M.A.; Carter, J.; Gelein, R., Oberdörster, G.: Pulmonary chemokine and mutagenic responses in rats after subchronic inhalation of amorphous and chrySTALLINE silica. *Toxicol. Sci.* 56 (2000), 405-413

Kalberlah, .F.; Bloser, M.; Wachholz, C.: Toleranz- und Akzeptanzschwelle für Gesundheitsrisiken am Arbeitsplatz. Abschlussbericht für das Projekt 2010. Herausgegeben von der Bundesanstalt für Arbeitsschutz und Arbeitsmedizin, Dortmund/Berlin/Dresden 2005

Karagianes, M.T.; Palmer, R.F.; Busch, R.H.: Effects of inhaled diesel emissions and coal dust in rats. *Am. Ind. Hyg. Assoc. J.* 42 (1981), 382-391

Kawabata, Y.; Iwai, K.; Udagawa, T.; Tukagoshi, K.; Higuchi, K.: Effects of diesel soot on unscheduled DNA synthesis of tracheal epithelium and lung tumor formation. In: Ishinishi, N.; Koizumi, A.; McClellan, R.O.; Stöber W. (Hrsg.): *Carcinogenic and mutagenic effects of Diesel engine exhaust*. Amsterdam, New York, Oxford: Elsevier Sci. Publ. (Biomedical Div.) 1986, 213-222. (= *Developments in Toxicology and Environmental Science*. Vol. 13)

Klingenberg, H.; Schürmann, D.; Lies, K.-H.: Dieselmotorabgas - Entstehung und Messung. In: *Krebserzeugende Stoffe in der Umwelt - Herkunft, Messung, Risiko, Minimierung*. VDI-Berichte 888. Düsseldorf: VDI-Verlag 1991, 119-131

Krewski, D.; Burnett, R.; Jerrett, M.; Pope, C.A.; Rainham, D.; Calle, E.; Thurston, G.; Thun, M.: Mortality and long-term exposure to ambient air pollution: ongoing analyses based on the American Cancer Society cohort. *J. Toxicol. Environ. Health A* 68 (2005), 1093-1109

Kriegseis, W.; Scharmann, A.: Specific harmfulness of respirable dusts from west Germany coal mines. V: Influence of mineral surface properties. *Ann. occup. Hyg.* 26 (1982), 511-525. (Inhaled Particles V)

Kuempel, E.D.: Comparison of human and Rodent lung dosimetry models for particle clearance and retention. *Drug and Chemical Toxicology*, 23 (2000), 203-222

Kysilka, Z.; Knie, B.; Rosmanith, J.: Untersuchungen zum Einfluß der Korngröße und des Mineralgehaltes auf die spezifische Schädlichkeit von Feinstäuben des Steinkohlenbergbaus. IV. Änderungen im Hydroxyprolin- und Lipidgehalt in Rattenlungen beim Intratrachealtest. In: *Ergebnisse von Untersuchungen auf dem Gebiet der Staub- und Silikosebekämpfung im Steinkohlenbergbau. Silikosebericht Nordrhein-Westfalen Bd. 15.* Essen: Steinkohlenbergbauverein 1985, 217-231

LAI (Länderausschuss für Immissionsschutz, Hrsg.): Krebsrisiko durch Luftverunreinigungen - Entwicklung von „Beurteilungsmaßstäben für kanzerogene Luftverunreinigungen“ im Auftrage der Umweltministerkonferenz. Düsseldorf: Ministerium für Umwelt, Raumordnung und Landwirtschaft des Landes NW 1992

Le Bouffant, L.; Daniel, H.; Martin, C.; Bruyère, S.: Effect of impurities and associated minerals on quartz toxicity. *Ann. occup. Hyg.* 26 (1982), 625-634. (Inhaled Particles V)

Lee, K.P.; Trochimowicz, H.J.; Reinhardt, C.F.: Pulmonary response of rats exposed to titanium dioxide (TiO₂) by inhalation for two years. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 79 (1985), 179-192

Lee, K.P.; Henry, N.W. III; Trochimowicz, H.J.; Reinhardt, C.F.: Pulmonary response to impaired lung clearance in rats following excessive TiO₂ dust deposition. *Environ. Res.* 41 (1986), 144-167

Letzel, S.; Hilla, W.; Zschiesche, W. (Hrsg.): Endbericht über die Studie zur Toxizität von Aluminium-haltigen Schweißrauchen im Bereich des zentralen Nervensystems und der Atemwege. Institut für Arbeits-, Sozial- und Umweltmedizin der Johannes Gutenberg-Universität Mainz, Gesundheitsschutz AUDI AG Ingolstadt, Berufsgenossenschaft der Feinmechanik und Elektrotechnik Köln. 2006

Lewis, T.R.; Green, F.H.Y.; Moorman, W.J.; Burg, J.A.R.; Lynch, D.W.: A chronic inhalation toxicity study of diesel engine emissions and coal dust, alone and combined. *Dev. Toxicol. Environ. Sci.* 13 (1986), 361-380

Lewis, T.R.; Green, F.H.Y.; Moorman, W.J.; Burg, J.R.; Lynch, D.W.: A chronic inhalation toxicity study of diesel engine emissions and coal dust, alone and combined. *J. Am. Coll. Toxicol.* 8 (1989), 345-375

Lipsett, M.; Campleman, S.: Occupational exposure to diesel exhaust and lung cancer: a meta-analysis. *Am. J. Public Health* 89 (1999), 1009-1017

LUA. Landesumweltamt Nordrhein-Westfalen: Jahreskenngrößen der Luftqualität in Nordrhein-Westfalen. PM10 und Inhaltsstoffe / PM2,5. Jahresmittelwerte und Überschreitungshäufigkeiten (n) 01.01.2003 bis 31.12.2003. Jahreskenngrößen der Luftqualität in Nordrhein-Westfalen. Ruß in PM10. Jahresmittelwerte 01.01.2003 bis 31.12.2003. <http://www.lua.nrw.de>. 2005

Lutz, W.K.: A true threshold dose in chemical carcinogenesis cannot be defined for a population, irrespective of the mode of action. *Human & experimental toxicology* 19 (2000), 566-568

Martin, J.C.; Daniel-Moussard, H.; Le Bouffant, L.; Policard, A.: The role of quartz in the development of coal workers pneumoconiosis. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 200 (1972), 127-141

Martin, J.C.; Daniel, H.; Le Bouffant, L.: Short- and long-term experimental study of the toxicity of coal-mine dust and of some of its constituents. In: Walton, W. (Hrsg.): *Inhaled Particles IV, Vol. 1.* Oxford: Pergamon Press 1977, 361-371

Mauderly, J.L.: Contribution of inhalation bioassays to the assessment of human health risks from solid airborne particles. In: Mohr, U.; Dungworth, D.L.; Mauderly, J.L.; Oberdörster G. (Hrsg.): *Toxic and carcinogenic effects of solid particles in the respiratory tract.* ILSI-Monographs. Washington, D.C.: ILSI Press 1994, 355-365

Mauderly, J.L.: Lung overload: The dilemma and opportunities for resolution. In: Mauderly J.L.; McCunney R.J. (Hrsg.): *Particle overload in the rat lung and lung cancer: Implications for human risk assessment.* Bristol, PA: Taylor and Francis (1996), 1-28

Mauderly, J.L.; Jones, R.K.; Griffith, W.C.; Henderson, R.F.; McClellan, R.O.: Diesel exhaust is a pulmonary carcinogen in rats exposed chronically by inhalation. *Fundam. Appl. Toxicol.* 9 (1987), 208-221

McClellan, R.O.; Cuddihy, R.G.; Griffith, W.C.; Mauderly, J.L.: Integrating diverse data sets to assess the risks of airborne pollutants. In: Mohr, U. et al. (Hrsg.): *Assessment of inhalation hazards: Integration and extrapolation using diverse data.* ILSI-Monographs. Berlin: Springer 1989, 3-22

McClellan, R.O.: Lung cancer in rats from prolonged exposure to high concentrations for carbonaceous particles: implications for human risk assessment. In: Mauderly J.L.; McCunney R.J. (Hrsg.): *Particle overload in the rat lung and lung cancer: Implications for human risk assessment.* Bristol, PA: Taylor and Francis 1996, 193-226

McConnell, E.E.: Maximum tolerated dose in Particulate Inhalation studies: a pathologist's point of view. In: Mauderly J.L.; McCunney R.J. (Hrsg.): *Particle overload in the rat lung and lung cancer: Implications for human risk assessment.* Bristol, PA: Taylor and Francis 1996, 111-123

Mehnert, W.H., M. Smans, C.S. Muir, M. Möhner, D. Schön, P. Bernstein, W. Staneczek, L. Beckmann: Atlas der Krebsinzidenz in der ehemaligen Deutschen Demokratischen Republik 1978-1982. Atlas of cancer incidence in the former German Democratic Republic 1978-1982. IARC Sci. Publ. No. 106. BGA-Schriften 4/1992.- München: MMV Medizin Verl., Oxford, New York, N.Y.: Oxford University Press 1992

Miller, F.J.: Dosimetry of particles in laboratory animals and humans in relationship to issues surrounding lung overload and human health risk assessment: a critical review. *Inhal. Toxicol.* 12 (2000), 19-57

Mohr, U.: Answer to Morfeld F.; Borm P: Letter to the Editor of *Exp Toxicol Pathol* of 19.09.2006 regarding the publication of Mohr et al. in *Exp Toxicol Pathol* 2006; 58(1):13-20. *Exp. Toxicol. Pathol.* (2007), Im Druck

Mohr, U.; Ernst, H.; Roller, M.; Pott, F.: Pulmonary tumor types induced in Wistar rats of the so-called "19-dust study". *Exp. Toxicol. Pathol.* 58 (2006), 13-20

Molik, B.; Hilscher, B.: Comparative presentation of the results of animal experiments on the specific harmfulness of dry filter dusts. In: *Ergebnisse von Untersuchungen auf dem Gebiet der Staub- und Silikosebekämpfung im Steinkohlenbergbau. Silikosebericht Nordrhein-Westfalen Bd. 17.* Essen: Steinkohlenbergbauverein 1989, 273-283

Morfeld, P.: Ergebnisse epidemiologischer Studien zur gesundheitlichen Auswirkung von Langzeitexpositionen gegenüber Stäuben aus pigmentärem Titandioxid. *Zbl. Arbeitsmed.* 54 (2004), 246-258

Morfeld, P.; Borm, P.: Letter to the Editor of *Exp Toxicol Pathol* of 19.09.2006 regarding the publication of Mohr et al. in *Exp Toxicol Pathol* 2006; 58(1):13-20, (2007). *Exp. Toxicol. Pathol.* (2007), Im Druck

Morfeld, P.; Lampert, K.; Ziegler, H.; Stegmaier, C.; Dhom, G.; Piekarski, C.: Längsschnittstudie zum Einfluß der Bergarbeiterpneumokoniose auf die Lungenkrebsmortalität von unter Tage tätigen Bergleuten im deutschen Steinkohlenbergbau. In: Borsch-Galetke, E.; Struwe, F. (Hrsg.): *Psychosomale Belastungen und Beanspruchungen im Wandel von Arbeitswelt und Umwelt. Kanzerogenese und Synkanzerogenese. Dokumentationsband über die 37. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Arbeitsmedizin und Umweltmedizin in Wiesbaden vom 12. bis 15. Mai 1997.* Fulda: Rindt-Druck 1997a, 133-137

Morfeld, P.; Lampert, K.; Ziegler, H.; Stegmaier, C.; Dhom, G.; Piekarski, C.: Overall mortality and cancer mortality of coal miners: attempts to adjust for healthy worker selection effects. *Ann. Occup. Hyg.* 41 suppl. 1 (1997b), 346-351. (Inhaled Particles VIII)

Morfeld, P.; Stegmaier, C.; Ziegler, H.; Emmerich, M.: Krebsmorbidity and Krebsmortalität saarländischer Steinkohlenbergleute in Abhängigkeit von Staubexposition und Pneumokonioseentwicklung (Phase IV). AGiB, Abschlussbericht, September 2005. Saarbrücken: Verlag Alma Mater. 2005

Morfeld, P.; Albrecht, C.; Drommer, W.; Borm, P.J.A.: Dose-response and threshold analysis of tumor prevalence after intratracheal instillation of six types of low- and high-surface-area particles in a chronic rat experiment. *Inhal. Toxicol.* 18 (2006), 215-225

Morgan, W.K.; Reger, R.B.; Tucker, D.M.: Health effects of diesel emissions. *Ann. occup. Hyg.* 41 (1997), 643-658

Morimoto, Y.; Kim, H.; Oyabu, T.; Hirohashi, M.; Nagatomo, H.; Ogami, A.; Yamato, H.; Obata, Y.; Kasai, H.; Higashi, H.; Tanaka, I.: Negative effect of long-term inhalation of toner on formation of 8-hydroxydeoxyguanosine in DNA in the lungs of rats in vivo. *Inhal. Toxicol.* 17 (2005), 749-753

Morrow, P.E.; Muhle, H.; Mermelstein, R.: Chronic inhalation study findings as a basis for proposing a new occupational dust exposure limit. *J. Am. Coll. Toxicol.* 10 (1991), 279-289

Morrow, P.E.: Mechanisms and significance of particle overload. Intern. Seminar on Assessment of Carcinogenic Risk from Occupational Exposure to Inorganic Substances. Luxembourg, European Centre (Kirchberg). 17.-20. Oktober 1995. Vortrag

Mossman, B.T.: Mechanisms of action of poorly soluble particulates in overload-related lung pathology. In: Mauderly J.L.; McCunney R.J. (Hrsg.): Particle overload in the rat lung and lung cancer: Implications for human risk assessment. Bristol, PA: Taylor and Francis 1996, 193-226

Muhle, H.; Bellmann, B.; Cretzenberg, O.; Fuhst, R.; Koch, W.; Mohr, U.; Takenaka, S.; Morrow, P.; Kilpper, R.; MacKenzie, J.; Mermelstein, R.: Subchronic inhalation study of toner in rats. *Inhal. Toxicol.* 2 (1990), 341-360

Muhle, H.; Bellmann, B.; Creutzenberg, O.; Dasenbrock, C.; Ernst, H.; Kilpper, R.; MacKenzie, J.C.; Morrow, P.; Mohr, U.; Takenaka, S.; Mermelstein, R.: Pulmonary response to toner upon chronic inhalation exposure in rats. *Fundam. Appl. Toxicol.* 17 (1991), 280-299

Müller, K.-M.; Reichel, B.: Heterogenität der Lungentumoren: Wie sinnvoll ist das Grading? *Verh. Dt. Ges. Innere Med.* 96 (1990), 220-228

Müller, K.-M.; Theile, A.: Lungentumoren, Pathologisch-anatomische Diagnostik. *Internist* 35 (1994), 710-723

Müller, K.-M.; Wiethage, Th.: Quarz und Lungentumoren - Daten und Fakten des Pathologen. *Pneumologie* 54 (2000), 24-31

Nagelschmidt G.: The relation between lung dust and lung pathology in pneumoconiosis. *Brit. J. industr. Med.* 17 (1960), 247-259

Nagelschmidt G.; Rivers, D.; King, E.J.; Trevella, W.: Dust and collagen content of lungs of coal-workers with progressive massive fibrosis. *Brit. J. industr. Med.* 20 (1963), 181-191

Neumann, H.-G.: Die Risikobewertung von Kanzerogenen und die Wirkungsschwelle, Teil I. Bundesgesundheitsbl - Gesundheitsforsch - Gesundheitsschutz 49 (2006a), 665-674

Neumann, H.-G.: Die Risikobewertung von Kanzerogenen und die Wirkungsschwelle, Teil II. Bundesgesundheitsbl - Gesundheitsforsch - Gesundheitsschutz 49 (2006b), 818-823

Neumann, H.-G.: Die Risikobewertung von Kanzerogenen und die Wirkungsschwelle, Teil III. Bundesgesundheitsbl - Gesundheitsforsch - Gesundheitsschutz 49 (2006c), 911-920

Neumann, H.-G.; Thielmann, H.W.; Gelbke, H.-P.; Greim, H.; Kappus, H.; Norpoth, K.H.; Reuter, U.; Vamvakas, S.; Wardenbach, P.; Wichmann, H.-E.: Vorschläge zur Änderung der Einstufung krebserzeugender Arbeitsstoffe. Abschnitt III der MAK- und BAT-Werte-Liste. Arbeitsmed. Sozialmed. Umweltmed. 32 (1997a), 298-304

Neumann, H.-G.; Thielmann, H.W.; Filser, J.G.; Gelbke, H.-P.; Greim, H.; Kappus, H.; Norpoth, K.H.; Reuter, U.; Vamvakas, S.; Wardenbach, P.; Wichmann, H.-E.: Proposed changes in the classification of carcinogenic chemicals in the work area. Regul. Toxicol. Pharmacol. 26 (1997b), 288-295

Nies, E.; Möller, A.; Pflaumbaum, W., Blome, H., Schuhmacher-Wolz, U., Schneider, K., Kalberlah, F., Weitowitz, H.-J., Rödelsperger, K.: Krebsrisikozahlen. Sicherheitstechnisches Informations- und Arbeitsblatt 120.120. 42. Lfg. XII/2002. In: BGIA-Handbuch. Hrsg.: Berufsgenossenschaftliches Institut für Arbeitsschutz des Hauptverbandes der gewerblichen Berufsgenossenschaften - BGIA. Berlin: Erich Schmidt Verlag, 2002

Nightingale, J.A.; Maggs, R.; Cullinan, P.; Donnelly, L.E.; Rogers, D.F.; Kinnersley, R.; Chung, K.F.; Barnes, P.J.; Ashmore, M.; Newman-Taylor, A.: Airway inflammation after controlled exposure to diesel exhaust particulates. Am. J. Respir. Crit. Care Med. 162 (2000), 161-166

Nikula, K.J.: Rat lung tumors induced by exposure to selected poorly soluble non-fibrous particles. Inhal. Toxicol. 12 (2000), 97-119

Nikula, K.J.; Snipes, M.B.; Barr, E.B.; Griffith, W.C.; Henderson, R.F.; Mauderly, J.L.: Comparative pulmonary toxicities and carcinogenicities of chronically inhaled Diesel exhaust and carbon black in F344 rats. Fundam. Appl. Toxicol. 25 (1995), 80-94

Nikula, K.J.; Avila, K.J.; Griffith, W.C.; Mauderly, J.L.: Lung tissue responses and sites of particle retention differ between rats and cynomolgus monkeys exposed chronically to diesel exhaust and coal dust. Fundam. Appl. Toxicol. 37 (1997), 37-53

Nolan, R.P.; Langer, A.M.; Weisman, I.; Herson, G.B.: Surface character and membranolytic activity of rutile and anatase: two titanium dioxide polymorphs. *Br. J. Industr. Med.* 44 (1987), 687-698

Nolan, R.P.; Langer, A.M.; Herson, G.B.: Physicochemical properties and membranolytic activities of the titanium dioxide polymorphs compared with those of quartz. In: Wehner, A.P.; Felton, D.L. (Hrsg.): *Biological interaction of inhaled mineral fibers and cigarette smoke*. Columbus, Ohio: Battelle Memorial Institute 1989, 391-419

NTP (National Toxicology Program). Toxicology and carcinogenesis studies of talc in F344/N Rats and B6C3F₁ Mice. Technical Report Series No. 421, NIH Publ. No. 93-315, 1993

Oberdörster, G.: Extrapolation of results from animal inhalation studies with particles to humans? In: Mohr, U.; Dungworth, D.L.; Mauderly, J.L.; Oberdörster, G. (Hrsg.) *Toxic and carcinogenic effects of solid particles in the respiratory tract*. ILSI-Monographs. Washington, D.C.: ILSI-Press 1994, 335-353

Oberdörster, G.: Lung particle overload: Implications for occupational exposures to particles. *Reg. Toxicol. Pharmacol.* 27 (1995), 123-135

Oberdörster, G.: Pulmonary effects of inhaled ultrafine particles. *Int. Arch. Occup. Environ. Health* 74 (2001), 1-8

Oberdörster, G.: Significance of particle parameters in the evaluation of exposure-dose-response relationships of inhaled particles. *Inhal. Toxicol.* 8 (1996) Suppl., 73-89

Oberdörster, G.: Toxicokinetics and effects of fibrous and nonfibrous Particles. *Inhal. Toxicol.* 14 (2002), 29-56

Oberdörster, G.; Oberdörster, E.; Oberdörster, J.: Nanotoxicology: An emerging discipline evolving from studies of ultrafine particles. *Environ. Health Perspect.* 113 (2005), 823-839

OSHA (Occupational Safety and Health Administration). Occupational exposure to methylene chloride. OSHA Federal Register # 62:1494-1619. FR Doc. 97-198 Filed 1-9-97. http://www.osha-slc.gov/FedReg_osha_data/FED19970110.html, 1997

Panos, R.J.; Mortenson, R.L.; Niccoli, S.A.; King, T.E. jr: Clinical deterioration in patients with idiopathic pulmonary fibrosis: causes and assessment. *Amer. J. Med.* 88 (1990), 396-404

Pesch, B.; Halekoh, U.; Ranft, U.; Richter, M.; Pott, F.: Atlas zur Krebssterblichkeit in Nordrhein-Westfalen. Herausgegeben vom Ministerium für Arbeit, Gesundheit und Soziales des Landes Nordrhein-Westfalen. Düsseldorf 1994

Peters, A.; Wichmann, H.E.; Tuch, T.; Heinrich, J.; Heyder, J.: Respiratory effects are associated with the number of ultrafine particles. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 155 (1997), 1376-1383

Pope, C.A.3rd.: Epidemiology of fine particulate air pollution and human health: biologic mechanisms and who's at risk? *Environ. Health Perspect.* 108 Suppl. 4 (2000), 713-723

Pope, C.A.3rd.; Thun, M.J.; Namboodiri, M.M.; Dockery, D.W.; Evans, J.S.; Speizer, F.E.; Heath, C.W.Jr.: Particulate air pollution as a predictor of mortality in a prospective study of U.S. adults. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 151 (1995), 669-674

Pope, C.A.; Burnett, R.T.; Thun, M.J.; Calle, E.E.; Krewski, D.; Ito, K.; Thurston, G.D.: Lung cancer, cardiopulmonary mortality, and long-term exposure to fine particulate air pollution. *JAMA* 287 (2002), 1132-1141

Pott, F., Heinrich, U.: Dieselmotorabgas und Lungenkrebs - Tierexperimentelle Daten und ihre Bewertung im Hinblick auf die Gefährdung des Menschen. In: *Umwelt-hygiene. Bd 19. Medizinisches Institut für Umwelthygiene. Jahresbericht 1986/87.* Hrsg.: Ges. z. Förderung d. Lufthygiene und Silikoseforschung e.V., Düsseldorf. Düsseldorf: Albers 1987, 130-167

Pott, F.; Heinrich, U.: VI-2 Staub und Staubinhaltsstoffe/Polyzyklische aromatische Kohlenwasserstoffe (PAH). In: *Wichmann, H.-E., Schlipkötter, H.-W., Fülgraff, G. (Hrsg.) Handbuch der Umweltmedizin: Toxikologie, Epidemiologie, Hygiene, Belastungen, Wirkungen, Diagnostik, Prophylaxe.- Landsberg/Lech: ecomed 1992. VI-2, 1-24. (Losebl. -Ausg.)*

Pott, F.; Roller, M.: Die krebserzeugende Wirkung von Fasern unter besonderer Berücksichtigung der Inhalationsversuche. Bericht über das Projekt 1217 der Bundesanstalt für Arbeitsschutz, 1993

Pott, F.; Roller, M.: Relevance of non-physiologic exposure routes for carcinogenicity studies of solid particles. In: *U. Mohr et al. (Hrsg.) Toxic and Carcinogenic Effects of Solid Particles in the Respiratory Tract.- ILSI-Monographs. Washington, D.C.: ILSI-Press 1994, 109-125*

Pott, F.; Roller M.: Aktuelle Daten und Fragen zur Kanzerogenität von festen Partikeln aus Abgas von Dieselmotoren und anderen Quellen. *Zbl. Hyg.* 200 (1997), 223-280

Pott, F.; Roller M.: Carcinogenicity of poorly soluble particles in rats – in man too? In: *Heinrich, U.; Mohr U. (Hrsg.): Relationships between acute and chronic effects of air pollution. ILSI Monographs. Washington D.C.: ILSI-Press (2000), 235-253*

Pott, F.; Roller, M.: Beschreibung und Auswertung einer Kanzerogenitätsstudie mit 19 Stäuben an Ratten. Schlussbericht über das Projekt F1843 der Bundesanstalt für Arbeitsschutz und Arbeitsmedizin, Dortmund 2002

Pott, F.; Roller, M.: Carcinogenicity study with nineteen granular dusts in rats. *Eur. J. Oncol.* 10 (2005), 249-281

Pott, F.; Ziem, U.; Reiffer, F.-J.; Huth, F.; Ernst, H.; Mohr, U.: Carcinogenicity studies on fibres, metal compounds, and some other dusts in rats. *Exp. Pathol. [Jena]* 32 (1987), 129-152

Pott, F.; Dungworth, D.L.; Heinrich, U.; Muhle, H.; Kamino, K.; Germann, P.G.; Roller, M.; Rippe, R.M.; Mohr, U.: Lung tumours in rats after intratracheal instillation of dusts. *Ann. occup. Hyg.* 38 Suppl. 1 (1994), 357-363. (Inhaled Particles VII)

Pott, F.; Roller, M.; Althoff, G.H.; Höhr, D.; Friemann, J.: Acute lung toxicity of hydrophobic titanium dioxide in an intratracheal carcinogenicity study with nineteen dusts in rats. In Vostal, J.J. (Hrsg.), *Health effects of particulate matter in ambient air. Proceedings of an International Conference held in Prague, Czech Republic, April 23-25, 1997. VIP-80.* Czech Medical Assoc. J.E. Purkyne, Praha. Pittsburgh, PA: Air and Waste Management Assoc. 1998, 301-307

Pott, F.; Roller, M.; Althoff, G.-H.; Rittinghausen, S.; Ernst, H.; Mohr, U.: Lung tumors in rats after repeated intratracheal instillation of coal dusts. In: Heinrich, U.; Mohr, U. (Hrsg.): *Relationships between acute and chronic effects of air pollution.* ILSI Monographs. Washington DC: ILSI Press 2000, 409-413

Ramdohr, P.; Strunz, H.: Klockmann's Lehrbuch der Mineralogie. Stuttgart: Ferd. Enke Verlag, 1967

Ray, S.C.; King, E.J.; Harrison, C.V.: The action of anthracite and bituminous coal dusts mixed with quartz on the lungs of rats. *Br. J. industr. Med.* 8 (1951a), 74-76

Ray, S.C.; King, E.J.; Harrison, C.V.: The action of small amounts of quartz and larger amounts of coal and graphite on the lungs of rats. *Br. J. industr. Med.* 8 (1951b), 68-73

Rehn, B.; Zawatzki, S., Bruch, J.: In vitro Untersuchungen zur Hemmung der Quarzstimulation von Alveolarmakrophagen durch Polyvinyl-N-Oxyd (PVNO). Eine zellbiologische Methode zur Bestimmung der biologischen Quarzwirkung von Grubenmischstäuben. *Silikosebericht Nordrhein-Westfalen Bd. 19, 2005, 353-358*

Reisner, M.T.R.; Armbruster, L.; Kühn, L.: Untersuchungen zum Einfluß der Korngröße und des Mineralgehaltes auf die spezifische Schädlichkeit von Feinstäuben des Steinkohlenbergbaus. I. Herstellung und Analyse der Staubfraktionen. In: *Ergebnisse von Untersuchungen auf dem Gebiet der Staub- und Silikosebekämpfung im Steinkohlenbergbau.* Silikosebericht Nordrhein-Westfalen Bd. 15. Essen: Steinkohlenbergbauverein 1985, 169-184

Rittinghausen, S.; Dungworth, D.L.; Ernst, H.; Mohr, U.: Naturally Occuring Pulmonary Tumors in Rodents. In: Jones T.C.; Dungworth D.L.; Mohr, U. (Hrsg.): *Respiratory System, Second Edition.* Heidelberg: Springer Verlag 1996, 183-206

Robertson, A.; Bolton, R.E.; Miller, B.G.; Chapman, J.S.; Dodgson, J.; Jones, A.D.; Niven, K.J.; Davis, J.M.G.: The effect of quartz content on the pathogenicity of coal mine dusts. *Ann. occup. Hyg.* 32 Suppl. 1 (1988), 621-633. (Inhaled Particles VI)

Rödelsperger, K.; Brückel, B.; Podhorsky, S.; Dahmann, D.; Hartfiel, G.D.; Woi-towitz, H.J.: Characterisation of ultrafine particles by electron microscopy. In: Heinrich, U.; Mohr, U. (Hrsg.): *Crucial Issues in Inhalation Research - Mechanistic, Clinical and Epidemiologic*. Stuttgart: Fraunhofer IRB Verlag 2002, 221-232

Rödelsperger, K.; Brückel, B.; Podhorsky, S.: Wirkungsbezogene Messung von Nanoteilchen. In: Wrbitzky, R.; Bader, M. (Hrsg.): *Dokumentation - Deutsche Gesellschaft für Arbeitsmedizin und Umweltmedizin e.V. (DGAUM) - 46. Jahrestagung, 22.-25. März 2006 in Hannover*. Lübeck: Geschäftsstelle der DGAUM, Prof. Dr. Dr. R. Kessel, Universitätsklinikum Schleswig-Holstein 2006, 409-411

Roller, M.: Comment to the paper of Driscoll, K.E.: Role of inflammation in the development of rat lung tumors in response to chronic particle exposure. *Inhal. Toxicol.*, 8 Suppl. 139-153, (1996). Letter to the Editor. *Inhal. Toxicol.* 10 (1998), 173-178

Roller, M.: Lung Tumor Risk from Silica Containing Dusts - In Some Cases Higher in Humans than in Rats. In: Heinrich, U.; Mohr, U. (Hrsg.): *Crucial Issues in Inhalation Research - Mechanistic, Clinical and Epidemiologic*. INIS Monographs. Stuttgart: Fraunhofer IRB Verlag 2002, 295-307

Roller, M.: Dose-response relationships of granular bio-durable dusts in rat lungs: does a cancer threshold exist? *Eur. J. Oncol.* 8 (2003a), 277-293

Roller, M.: Risikobetrachtungen bei der Übertragung tierexperimenteller Daten zur Kanzerogenität und Fibrogenität durch Quarz auf den Menschen. In: Bundesanstalt für Arbeitsschutz und Arbeitsmedizin (BAuA, Hrsg.) *Quarz - Einstufung, Dosis-Wirkungs-Beziehungen*. Workshop vom 07./08. März 2002 in Berlin. Schriftenreihe der Bundesanstalt für Arbeitsschutz und Arbeitsmedizin. Tb131. Bremerhaven: Wirtschaftsverlag NW. 2003b, 174-195

Roller, M.: Die Risikoabschätzungen des LAI vor dem Hintergrund der Feinstaubdiskussion im Jahre 2005. *Gefahrstoffe - Reinhalt. Luft* 65 (2005), 425-434

Roller, M.: Quantitative Risikoabschätzung für die Exposition gegenüber Toneremissionen aus Kopiergeräten. *Gefahrstoffe - Reinhalt. Luft* 66 (2006), 211-216

Roller, M.: Differences between the data bases, statistical analyses, and interpretations of lung tumors of the 19-dust study - two controversial views. *Exp. Toxicol. Pathol.* (2007), Im Druck

Roller, M.; Pott, F.: Are lung tumours from poorly soluble particles in rats relevant for occupational exposure? International Symposium „Poussières, fumées et brouillards sur les lieux de travail: risques et prévention“, 11 - 13 June, 2001, Toulouse, France. IVSS Sektion Chemie, IVSS Sektion Forschung. Proceedings. Paris: Institut National de Recherche et de Sécurité (INRS). 2001, 154-159

Roller, M.; Pott, F.: Lung tumour risk estimates from rat studies with not specifically toxic granular dusts. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 1076 (2006), 266-280

Roller, M.; Akkan, Z.; Hassauer, M.; Kalberlah, F.: Risikoextrapolation vom Versuchstier auf den Menschen bei Kanzerogenen. Schriftenreihe der Bundesanstalt für Arbeitsschutz und Arbeitsmedizin - Forschung - Fb 1078. Bremerhaven: Wirtschaftsverlag NW. 432 S., 2006

Rosmanith, J.; Reisner, M.T.R.; Prajsnar, D.; Breining, H.; Ehm, W.: Untersuchungen zur spezifischen Schädlichkeit von Feinstäuben des Steinkohlenbergbaus. VIII. Die Beziehungen zwischen der Zusammensetzung des Feinstaubes, der retinierten Staubmasse und der fibrotischen Reaktion in Lungen und Lymphknoten der Ratte beim Intratrachealtest. In: *Ergebnisse von Untersuchungen auf dem Gebiet der Staub- und Silikosebekämpfung im Steinkohlenbergbau. Silikosebericht Nordrhein-Westfalen Bd. 13.* Essen: Verlag Glückauf 1981, 241-249

Rosmanith, J.; Reisner, M.T.R.; Prajsnar, D.; Breining, H.; Ehm, W.: Specific harmfulness of respirable dusts from west German coal mines. II. Results of intratracheal tests on rats. *Ann. occup. Hyg.* 26 (1982), 481-490. (Inhaled Particles V)

Rosmanith, J.; Reisner, M.T.R.; Prajsnar, D.; Breining, H.; Ehm, W.: Untersuchungen zur spezifischen Schädlichkeit von Feinstäuben des Steinkohlenbergbaus. XIII. Die Beziehungen zwischen der Zusammensetzung des Feinstaubes, der retinierten Staubmasse und der fibrotischen Reaktion in Lungen und Lymphknoten der Ratte beim Intratrachealtest (2. Mitteilung). In: *Ergebnisse von Untersuchungen auf dem Gebiet der Staub- und Silikosebekämpfung im Steinkohlenbergbau. Silikosebericht Nordrhein-Westfalen Bd. 14.* Essen: Steinkohlenbergbauverein 1983, 177-194

Rosmanith, J.; Reisner, M.T.R.; Hilscher, W.; Prajsnar, D.; Ehm, W.: Untersuchungen zum Einfluß der Korngröße und des Mineralgehaltes auf die spezifische Schädlichkeit von Feinstäuben des Steinkohlenbergbaus. II. Retention des Staubes in der Rattenlunge und dessen Penetration in die Lymphknoten beim Intratrachealversuch. In: *Ergebnisse von Untersuchungen auf dem Gebiet der Staub- und Silikosebekämpfung im Steinkohlenbergbau. Silikosebericht Nordrhein-Westfalen Bd. 15.* Essen: Steinkohlenbergbauverein 1985, 185-204

Ross, H.F.; King, E.J.; Yoganathan, M.; Nagelschmidt, G.: Inhalation experiments with coal dust containing 5 per cent, 10 per cent, 20 per cent and 40 per cent quartz: Tissue reactions in the lungs of rats. *Ann. occup. Hyg.* 5 (1962), 149-161

Saber, A.T.; Bornholdt, J.; Dybdahl, M.; Sharma, A.K.; Loft, S.; Vogel, U.; Wallin, H.: Tumor necrosis factor is not required for particle-induced genotoxicity and pulmonary inflammation. *Arch. Toxicol.* 79 (2005), 177-182

Salvi, S.; Blomberg, A.; Rudell, B.; Kelly, F.; Sandström, T.; Holgate, S.T.; Frew, A.: Acute inflammatory responses in the airways and peripheral blood after short-term exposure to diesel exhaust in healthy human volunteers. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 159 (1999), 702-709

Salvi, S.S.; Nordenhall, C.; Blomberg, A.; Rudell, B.; Pourazar, J.; Kelly, F.J.; Wilson, S.; Sandstrom, T.; Holgate, S.T.; Frew, A.J.: Acute exposure to diesel exhaust increases IL-8 and GRO-alpha production in healthy human airways. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 161 (2000), 550-557

Säverin, R.; Bräunlich, A.; Enderlein, G.; Heuchert, G.: Kohortenstudie zum Einfluß von Dieselmotoremissionen auf die Lungenkrebsmortalität im Kalibergbau (Abschlussbericht). Schriftenreihe der Bundesanstalt für Arbeitsschutz und Arbeitsmedizin, Forschung FB 805. Bremerhaven: Wirtschaftsverl. NW, Verl. f. neue Wissenschaft 1998

Säverin, R.; Bräunlich, A.; Dahmann, D.; Enderlein, G.; Heuchert, G.: Diesel exhaust and lung cancer mortality in potash mining. *Am. J. Ind. Med.* 36 (1999), 415-422

Schins, R.P.; Knaapen, A.M.: Genotoxicity of poorly soluble particles. Manuskript „in press“ verteilt zur Sondersitzung „Kanzergenität granulärer biobeständiger Stäube“ von Vertretern der Arbeitsstoffkommission und des Unterausschusses III des AGS am 08. Dezember 2006 in Frankfurt am Main, 2006

Schlesinger, B.; Lippmann, M.: Selective particle deposition and bronchogenic carcinoma. *Envir. Res.* 15 (1978), 424-431

Schlipköter, H.-W.; Molik, B.; Hilscher, W.; Bruch, J.: Spezifische Schädlichkeit von Feinstäuben des Steinkohlenbergbaus. In: Umwelthygiene. Gesellschaft zur Förderung der Lufthygiene und Silikoseforschung e.V., Düsseldorf (Hrsg) Medizinisches Institut für Umwelthygiene, Jahresbericht 1981, Band 14, 1982, 149-168

Schlüter, G.: Stellungnahme des Beraterkreises Toxikologie des AGS zur Frage der Einstufung von kristallinem Siliziumdioxid (Quarz [14808-60-7] und Cristobalit [14464-46-1] in Form von alveolengängigen Stäuben. In: Quarz – Einstufung, Dosis-Wirkungs-Beziehungen. Schriftenreihe der Bundesanstalt für Arbeitsschutz und Arbeitsmedizin. Tagung TB 131. Hrsg. Bundesanstalt für Arbeitsschutz und Arbeitsmedizin Dortmund, Berlin, Dresden. Bremerhaven: Verlag für neue Wissenschaft 2002, 109-133

Simons, J.W.I.M.: Genetic, epigenetic, dysgenetic, and non-genetic mechanisms in tumorigenesis. *Critical Rev. in Oncogenesis* 6 (1995), 261-273

Smola, T.; Georg, H.; Hohensee, H.: Gesundheitsgefahren durch Laserdrucker? Gefahrstoffe - Reinhalt. Luft 62 (2002), 295-301

StatSoft. STATISTICA für Windows, Version 5.5. Tulsa, OK, USA: StatSoft, Inc. 2000

Stayner, L.; Dankovic, D.; Smith, R.; Steenland, K.: Predicted lung cancer risk among miners exposed to diesel exhaust particles. *Am. J. Ind. Med.* 34 (1998), 207-219

Steenland, K.; Deddens, J.; Stayner, L.: Diesel exhaust and lung cancer in the trucking industry: exposure-response analyses and risk assessment. *Am. J. Ind. Med.* 34 (1998), 220-228

Stenfors, N.; Nordenhall, C.; Salvi, S.S.; Mudway, I.; Soderberg, M.; Blomberg, A.; Helleday, R.; Levin, J.O.; Holgate, S.T.; Kelly, F.J.; Frew, A.J.; Sandstrom, T.: Different airway inflammatory responses in asthmatic and healthy humans exposed to diesel. *Eur. Respir. J.* 23 (2004), 82-86

Stöber, W.; Abel, U.R.: Lung cancer due to Diesel soot particles in ambient air? A critical appraisal of epidemiological studies addressing this question. *Int. Arch. Occup. Environ. Health* 68 (1996) (Suppl.), 3-61

Stoeger, T.; Reinhard, C.; Takenaka, S.; Schroepel, A.; Karg, E.; Ritter, B.; Heyder, J.; Schulz, H.: Instillation of six different ultrafine carbon particles indicates a surface area threshold dose for acute lung inflammation in mice. *Environ. Health Perspect.* 114 (2006), 328-333

Takemoto, K.; Yoshimura, H.; Katayama, H.: Effects of chronic inhalation exposure to Diesel exhaust on the development of lung tumors in di-iso-propanol-nitrosamine-treated F344 rats and newborn C57BL and ICR mice. In: Ishinishi, N.; Koizumi, A.; McClellan, R.O.; Stöber, W. (Hrsg.): *Carcinogenic and mutagenic effects of Diesel engine exhaust.* Amsterdam, New York, Oxford: Elsevier Sci. Publ. (Biomed. Div.) 1986, 311-327 (Developments in Toxicology and Environmental Science. Vol. 13)

Tourmann, J.L.: Bericht über die LAMMA-Untersuchungen. In: DMT-Gesellschaft für Forschung und Prüfung mbH (Hrsg.): *Charakterisierung von Grubenstäuben hinsichtlich ihrer spezifischen Schädlichkeit (Staubmessungen).* Wissenschaftlicher Abschlussbericht über die Forschungsvereinbarung Nr. 7263-02/079/01 für die Kommission der Europäischen Gemeinschaften. Berichtszeitraum 07.05.1991 bis 30.04.1994. Essen: DMT 1994, getr. pagiert

Tourmann, J.L.; Kaufmann, R.: Laser microprobe mass spectrometric (LAMMS) study of quartz-related and non-quartz-related factors of the specific harmfulness of coal mine dusts. *Ann. occup. Hyg.* 38 Suppl. 1 (1994a), 455-467. (Inhaled Particles VII)

Tourmann, J.L.; Kaufmann, R.: Biopersistence of the mineral matter of coal mine dusts in silicotic human lungs: Is there a preferential release of iron? *Environ. Health Perspect.* 102 Suppl. 5 (1994b), 265-268

Tran, C.L.; Buchanan, R.T.; Cullen R.T.; Searl, A.; Jones, A.D.; Donaldson, K.: Inhalation of poorly soluble particles. II. Influence of particle surface area on inflammation and clearance. *Inhal. Toxicol.* 12 (2000), 1113-1126

TRGS 900 (Technische Regeln für Gefahrstoffe): Grenzwerte in der Luft am Arbeitsplatz - Luftgrenzwerte (TRGS 900). BArb.BI 2001, 86-89

UBA. Umweltbundesamt (Hrsg.): Durchführung eines Risikovergleichs zwischen Dieselmotoremissionen und Ottomotoremissionen hinsichtlich ihrer kanzerogenen und nicht-kanzerogenen Wirkungen. Berichte 2/99 - Forschungsbericht 297 61 001/01. Red. Fachgebiet II 1.4. Durchführende Inst.: Fraunhofer Institut für Toxikologie und Aerosolforschung. Bearb.: Mangelsdorf, I. (Koordination); Aufderheide, M.; Boehncke, A.; Melber, C.; Rosner, G.; Heinrich, U.; Höpfner, U.; Borken, J.; Patyk, A.; Pott, F.; Roller, M.; Schneider, K.; Voß, J.-U.. Report Nr. UBA FB 99-033. Berlin: Erich Schmidt Verlag 1999

US EPA (U.S. Environmental Protection Agency): Guidelines for carcinogen risk assessment (51 FR 33993, September 24, 1986). Published by the Bureau of National Affairs, Inc., Washington, D.C. 20037

US EPA (U.S. Environmental Protection Agency): Health Effects Test Guidelines OPPTS 870.4200 Carcinogenicity. EPA 712-C-98-211, August 1998

US EPA (U.S. Environmental Protection Agency): Benchmark Dose Software (BMDS). Version 1.3.2, 2003. <http://www.epa.gov/ncea/bmds.htm>, 2003a

US EPA (U.S. Environmental Protection Agency): Integrated Risk Information System (IRIS). 0642. Diesel engine exhaust. CASRN N.A. <http://www.epa.gov/iris/subst/0642.htm>, 2003b

US EPA (U.S. Environmental Protection Agency): Integrated Risk Information System (IRIS). 0395. Coke oven emissions. CASRN 8007-45-2. Last updated on Thursday, November 18th, 2004. <http://www.epa.gov/iris/subst/0395.htm>. 2004

Wardenbach, P.; Pott, F.; Voitowitz, H.-J.: Differences between classification of man-made vitreous fibres (MMVF) according to the European directive and German legislation: analysis of scientific data and implications for worker protection. *Eur. J. Oncol.* 5 suppl. 2 (2000), 111-118

Vincent, J.H.; Johnston, A.M.; Jones, A.D.; Bolton, R.E.; Addison, J.: Kinetics of deposition and clearance of inhaled mineral dusts during chronic exposure. *Br. J. Industr. Med.* 42 (1985), 707-715

Watson, A. Y.; Valberg, P. A.: Particle-induced lung tumors in rats: Evidence for species specificity in mechanisms. *Inhal. Toxicol.* 8 Suppl. (1996), 227-257

Weast, R.C.; Lide D.R.; Astle, M.; Beyer, W.H. (Hrsg.): CRC Handbook of Chemistry and Physics. Boca Raton, Florida: CRC Press, 1989

Weller, W.: Specific harmfulness of respirable dusts from West German coal mines. III: Results of intraperitoneal tests on rats. *Ann. occup. Hyg.* 26 (1982), 491-503 (Inhaled Particles V)

WHO (World Health Organization): Asbestos and other natural mineral fibres, IPCS International Programme on Chemical Safety, (Environmental Health Criteria 53), (United Nations Environment Programme, International Labour Organization, World Health Organization, Hrsg.) Geneva: World Health Organization 1986

WHO (World Health Organization): WHO Statistical Information System (WHOSIS). WHO Mortality Data Base. Global Programme on Evidence for Health Policy Assessing Health Needs: Epidemiology and Burden of Disease Unit. Genf: World Health Organization. Last updated September 2003. <http://www3.who.int/whosis/menu.cfm>. 2003

Wichmann, H.-E.: Epidemiologische Studien zum Krebsrisiko durch Dieselmotorabgas. In: Umwelthygiene. Bd. 19. Medizinisches Institut für Umwelthygiene, Jahresbericht 1986/87, Hrsg. v. d. Ges. z. Förderung d. Lufthygiene und Silikoseforschung e.V., Düsseldorf. Düsseldorf: Stefan W. Albers. 1987, S. 167-194

Wichmann, H.-E.: Positive gesundheitliche Auswirkungen des Einsatzes von Partikelfiltern bei Dieselfahrzeugen - Risikoabschätzung für die Mortalität in Deutschland. Umweltmed. Forsch. Prax. 9 (2004), 85-99

Wichmann, H.E., Spix, C., Tuch, T., Wolke, G., Peters, A., Heinrich, J., Kreyling, W.G., Heyder, J.: Daily mortality and fine and ultrafine particles in Erfurt, Germany part I: role of particle number and particle mass. Res. Rep. Health Eff. Inst. 98 (2000), 5-86

Woitowitz, H.-J.; Lange, H.-J.; Dudeck, J.; Rösler J.; Rödelsperger, K.: Zehn Merksätze zur Interpretation von "negativen" Studien in der arbeitsmedizinischen Epidemiologie. Arbeitsmedizin Sozialmedizin Umweltmedizin 31 (1996), 18-19

Wolff, R.K.; Henderson, R.F.; Snipes, M.B.; Griffith, W.C.; Mauderly, J.L.; Cud-dihy, R.G.; McClellan, R.O.: Alterations in particle accumulation and clearance in lungs of rats chronically exposed to diesel exhaust. Fundam. Appl. Toxicol. 9 (1987), 154-166

Woskie, S.R., Smith, T.J., Hammond, S.K., Schenker, M.B., Garshick, E. , Speizer, F.E.: Estimation of the Diesel exhaust exposures of railroad workers: I. Current exposures. Am. J. Ind. Med. 13 (1988a), 381-394

Woskie, S.R., Smith, T.J., Hammond, S.K., Schenker, M.B., Garshick, E. , Speizer, F.E.: Estimation of the Diesel exhaust exposures of railroad workers: II. National and historical exposures. Am. J. Ind. Med. 13 (1988b), 395-404

Yu, C.P.: Extrapolation modeling of particle deposition and retention from rats to humans. In: Mauderly, J.L.; McCunney, R.J. (Hrsg.): Particle overload in the rat lung. Implications for human risk assessment. Washington, London: Taylor and Francis 1996, 279-291

8 ANHANG (Appendix)

Teilweise in Englisch (partly in English)

8.1 Gewichtsentwicklung (Body weight gain)

General remark

The sequence of dusts of experiment No. 95/1 in the Appendices is different from the sequence in the presentation of the results in the main text as it follows the original experimental design.

Remark on the graphical presentation of the body weight data:

If the standard deviation of each data point would have been drawn in the Figures, it would be very difficult or impossible to distinguish the error bars at some time points or a unreasonable effort for the graphical presentation would have been necessary. Therefore, in the Figures only error bars of alternating data points have exemplarily been drawn in; the mean value that they refer to can be identified by the fact that the standard deviation is symmetrical around the respective data point. The evaluation of the body weight data of all groups at the time points 6 and 12 months is presented in Table 3.3 (Table 3.3 gives the mean values and the results of Student's t-Test, which makes also use of the standard deviations).

8.1.1 Analysis of body weight development - Table

Starting on next page

Table 8.1 Statistical analysis of body weight development (the sequence of dusts of Experiment No. 95/1 in this Table is different from the sequence in the presentation of the results in the Report as it follows the original experimental design; compare with Table 3.2)

Group	Observ.- time [weeks]	Body weight [g]		No. of rats	p-value ^a
		Mean	Std.-dev.		
Experiment No. 95/1 (part 1 of the 19-dust study with 6 mining dusts, "coal dust study")					
95/1 A					
0.5 % Tween 80 in 0.9%NaCl-sol. 20 x 0.4 mL	0	189.9	12.8	48	control
	26	259.6	28.7	47	
	52	296.2	46.7	46	
	104	309.4	43.0	26	
95/1 B I					
Lean coal (Magerkohle) 11 x 6 mg	0	191.6	11.2	48	0.27
	26	254.2	19.7	48	0.28
	52	285.3	27.2	46	0.18
	104	296.9	36.9	27	0.26
95/1 B II					
Lean coal (Magerkohle) 20 x 6 mg	0	190.3	12.0	48	0.58
	26	254.7	22.8	48	0.35
	52	291.6	30.2	45	0.58
	104	291.2	40.8	22	0.14
95/1 C I					
Steam coal (Gasflammkohle) 10 x 6 mg	0	189.8.	11.4	48	0.72
	26	256.0	22.4	47	0.50
	52	283.2	30.6	45	0.12
	104	280.3	34.1	26	0.0093 **
95/1 C II					
Steam coal (Gasflammkohle) 20 x 6 mg	0	189.6	12.9	48	0.79
	26	256.6	22.8	46	0.58
	52	288.6	35.1	46	0.38
	104	280.1	39.5	21	0.020 *
95/1 D I					
Rich coal (Fettkohle) 10 x 6 mg	0	187.9	10.7	48	0.68
	26	257.8	18.5	48	0.71
	52	293.2	30.4	48	0.71
	104	298.9	40.4	27	0.36
95/1 D II					
Rich coal (Fettkohle) 20 x 6 mg	0	189.9	12.3	48	0.70
	26	248.9	20.2	46	0.040 *
	52	276.0	27.0	45	0.014 *
	104	283.5	32.6	19	0.033 *

ctd. on next page

Table 8.1 Statistical analysis of body weight development (continued)

Group	Observ.- time [weeks]	Body weight [g]		No. of rats	p-value ^a
		Mean	Std.-dev.		
95/1 E I					
Lower rich coal (Untere Fettkohle) 10 x 6 mg	0	190.2	12.4	48	0.61
	26	256.5	23.7	48	0.56
	52	284.6	57.2	47	0.29
	104	300.5	40.3	29	0.43
95/1 E II					
Lower rich coal (Untere Fettkohle) 20 x 6 mg	0	189.6	11.6	48	0.78
	26	260.1	19.9	45	0.93
	52	297.1	31.2	44	0.91
	104	303.4	27.4	24	0.56
95/1 F I					
Rock dust (Gesteinsstaub) 10 x 6 mg	0	187.1	12.0	48	0.48
	26	255.7	23.9	48	0.46
	52	282.1	32.5	48	0.094
	104	294.2	39.0	24	0.20
95/1 F II					
Rock dust (Gesteinsstaub) 20 x 6 mg	0	192.7	12.7	48	0.15
	26	254.1	21.4	48	0.29
	52	275.2	27.1	45	0.010 *
	104	287.1	38.5	25	0.057
95/1 G I					
Quartz DQ12 5 x 1 mg	0	190.5	8.7	38	0.49
	26	258.4	21.4	38	0.83
	52	285.7	23.5	35	0.19
	104	281.2	34.6	18	0.026 *
95/1 G II					
Quartz DQ12 10 x 1 mg	0	188.5	10.6	38	0.88
	26	249.7	23.1	36	0.094
	52	279.9	36.9	34	0.096
	104	260.2	27.5	21	< 0.0005***
95/1 G III					
Quartz DQ12 20 x 1 mg	0	187.0	12.2	38	0.49
	26	250.2	24.0	37	0.11
	52	276.7	32.2	35	0.029 *
	104	239.2	20.1	12	< 0.0005***

ctd. on next page

Table 8.1 Statistical analysis of body weight development (continued)

Group	Observ.- time [weeks]	Body weight [g]		No. of rats	p-value ^a
		Mean	Std.-dev.		
Experiment No. 95/5 (part 2 of the 19-dust study with 13 non-mining dusts, first half)					
95/5 A I					
Carbon black 101 (Flammruß) 5 x 6.0 mg	0	188.6	12.5	48	n.c.
+ diesel soot (lorry) 1 x 2.5 mg	26	257.3	23.1	46	0.96
	52	284.2	37.5	45	0.91
	104	299.2	48.2	26	0.093
95/5 A II					
Carbon black 101 (Flammruß) 10 x 6.0 mg	0	187.3	8.6	48	n.c.
+ diesel soot (lorry) 1 x 3.0 mg	26	253.5	19.1	46	0.34
	52	278.1	30.5	43	0.24
	104	294.0	37.5	23	0.021 *
95/5 A III					
Carbon black 101 (Flammruß) 20 x 6.0 mg	0	188.6	9.6	48	n.c.
+ diesel soot (lorry) 1 x 6.0 mg	26	259.3	20.4	47	0.57
	52	279.8	25.7	45	0.33
	104	308.5	40.0	26	0.35
95/5 B I					
Carbon black Printex 90 5 x 1.5 mg	0	188.3	9.3	48	n.c.
+ titanium dioxide P25 1 x 3.0 mg	26	259.4	17.7	48	0.52
	52	283.7	27.9	47	0.81
	104	303.7	45.6	30	0.17
95/5 B II					
Carbon black Printex 90 5 x 3.0 mg	0	188.7	10.7	48	n.c.
+ titanium dioxide P25 1 x 6.0 mg (21)	26	253.7	18.5	48	0.35
Carbon black Printex 90 5 x 3.0 mg (27)	52	275.1	24.3	46	0.058
	104	291.7	30.4	28	0.0038 **
95/5 B III					
Carbon black Printex 90 5 x 6.0 mg	0	190.7	10.6	48	n.c.
	26	257.2	21.7	48	0.98
	52	277.0	28.3	46	0.15
	104	288.6	40.1	28	0.0038 **
95/5 B IV					
Carbon black Printex 90 10 x 6.0 mg	0	189.9	10.7	48	n.c.
	26	259.5	22.7	47	0.56
	52	275.9	28.1	47	0.10
	104	not determined			

ctd. on next page

Table 8.1 Statistical analysis of body weight development (continued)

Group	Observ.- time [weeks]	Body weight [g]		No. of rats	p-value ^a	
		Mean	Std.-dev.			
95/5 C I						
Aluminium oxide C 5 x 6.0 mg	0	not determined				
	26	248.7	21.8	46	0.039	*
	52	271.2	25.9	46	0.011	*
	104	283.6	41.0	29	0.0008	***
95/5 CII						
Aluminium oxide C 10 x 6.0 mg	0	not determined				
	26	250.1	24.8	48	0.11	
	52	265.4	30.8	47	0.0011	**
	104	219.7	20.3	13	< 0.0005	***
95/5 D I						
Aluminium silicate P 820 5 x 6.0 mg	0	not determined				
	26	251.5	23.6	48	0.18	
	52	273.2	29.0	48	0.037	*
	104	292.6	43.1	29	0.014	*
95/5 D II						
Aluminium silicate P 820 10 x 6.0 mg	0	not determined				
	26	248.9	26.1	48	0.071	
	52	269.3	30.1	47	0.0074	**
	104	271.3	39.2	27	< 0.0005	***
95/5 E I						
Kaolin 10 x 6.0 mg	0	not determined				
	26	245.6	22.9	48	0.0063	**
	52	269.5	31.7	48	0.0098	**
	104	287.7	39.7	33	0.0018	**
95/5 E II						
Kaolin 20 x 6.0 mg	0	not determined				
	26	248.4	21.2	48	0.029	*
	52	270.1	27.7	48	0.0074	**
	104	not determined				
95/5 F						
No treatment	0	not determined				
	26	257.1	16.9	48	control	
	52	285.0	25.6	48		
	104	317.7	37.1	36		

ctd. on next page

Table 8.1 Statistical analysis of body weight development (continued)

Group	Observ.- time [weeks]	Body weight [g]		No. of rats	p-value ^a
		Mean	Std.-dev.		
Experiment No. 95/6 (part 2 of the 19-dust study with 13 non-mining dusts, second half)					
95/6 A I					
Diesel soot (lorry) 3 x 2.5 mg	0	198.6	11.2	48	0.71
	27	251.3	23.6	48	0.62
	53	278.9	34.1	44	0.33
	104	294.2	36.9	29	0.71
95/6 A II					
Diesel soot (lorry) 5 x 3.0 mg	0	198.7	11.6	48	0.69
	27	255.6	20.9	48	0.66
	53	287.3	28.9	48	0.80
	104	303.3	45.4	32	0.62
95/6 A III					
Diesel soot (lorry) 5 x 6.0 mg	0	200.6	9.6	48	0.18
	27	257.1	21.2	47	0.45
	53	287.5	30.1	45	0.78
	104	290.8	48.5	25	0.55
95/6 B I					
Titanium dioxide P 25 5 x 3.0 mg	0	194.6	10.3	48	0.14
	27	245.3	20.6	47	0.067
	53	270.3	29.5	44	0.019 *
	104	286.0	31.5	27	0.21
95/6 B II					
Titanium dioxide P 25 5 x 6.0 mg	0	197.6	7.8	48	0.89
	27	250.7	17.3	48	0.48
	53	279.9	25.9	47	0.34
	104	293.8	30.1	29	0.65
95/6 B III					
Titanium dioxide P 25 10 x 6.0 mg	0	198.4	9.8	48	0.77
	27	254.4	23.5	47	0.87
	53	283.0	31.7	43	0.69
	104	283.3	45.0	22	0.22
95/6 C I					
Titanium dioxide P 805 15 x 0.5 mg	0	199.4	12.5	24	0.57
	27	265.2	23.0	11	0.14
	53	301.6	28.0	10	0.15
	104	323.1	38.1	6	0.15

ctd. on next page

Table 8.1 Statistical analysis of body weight development (continued)

Group	Observ.- time [weeks]	Body weight [g]		No. of rats	p-value ^a
		Mean	Std.-dev.		
95/6 C II					
Titanium dioxide P 805 30 x 0.5 mg	0	197.8	7.3	24	0.99
	27	259.0	20.1	18	0.38
	53	288.5	27.8	16	0.76
	104	286.0	30.1	12	0.34
95/6 D I					
Toner 10 x 6.0 mg	0	198.8	10.9	24	0.71
	27	255.9	19.0	24	0.67
	53	288.0	29.6	24	0.77
	104	287.3	30.2	14	0.37
95/6 D II					
Toner 20 x 6.0 mg	0	198.1	9.8	24	0.91
	27	259.1	20.3	24	0.32
	53	293.0	29.0	23	0.36
	104	289.7	23.6	12	0.49
95/6 E I					
Titanium dioxide, fine 10 x 6.0 mg	0	199.3	8.1	48	0.45
	27	254.5	17.3	45	0.83
	53	287.6	27.6	43	0.76
	104	302.9	39.6	26	0.64
95/6 E II					
Titanium dioxide, fine 20 x 6.0 mg	0	199.4	8.9	48	0.42
	27	258.5	18.8	46	0.27
	53	290.2	24.7	45	0.45
	104	310.8	37.8	31	0.19
95/6 F					
Zirconium(IV)-oxide 10 x 6.0 mg	0	195.9	9.1	48	0.33
	27	251.6	19.2	48	0.65
	53	283.8	28.3	46	0.76
	104	290.3	37.4	34	0.43
95/6 G I					
Lung dust 336/1 10 x 6.0 mg	0	197.6	11.3	40	0.92
	27	254.9	20.8	40	0.79
	53	284.5	29.6	40	0.86
	104	296.9	34.8	30	0.92
95/6 G II					
Lung dust 336/1 20 x 6.0 mg	0	198.9	10.0	40	0.60
	27	249.6	15.6	34	0.35
	53	275.3	24.3	34	0.12
	104	271.6	36.7	21	0.018 *

ctd. on next page

Table 8.1 Statistical analysis of body weight development (continued)

Group	Observ.- time [weeks]	Body weight [g]		No. of rats	p-value ^a
		Mean	Std.-dev.		
95/6 H I					
Silica, fumed 5 x 3.0 mg	0	197.5	10.9	40	0.88
	27	250.4	24.7	40	0.53
	53	279.0	35.1	39	0.36
	104	296.6	39.6	25	0.90
95/6 H II					
Silica, fumed 10 x 3.0 mg	0	199.5	11.8	40	0.49
	27	256.5	19.8	35	0.55
	53	292.8	26.1	35	0.29
	104	318.1	39.2	19	0.082
95/6 K					
No treatment	0	197.8	10.4	48	control
	27	253.6	22.8	47	
	53	285.7	32.0	47	
	104	297.9	37.6	28	

^a Student's t-Test; each group compared to concurrent controls.

* p < 0.05; ** p < 0.01; *** p < 0.001

n.c.: not calculated, because of missing (control) values

8.1.2 Body weight development - Figures

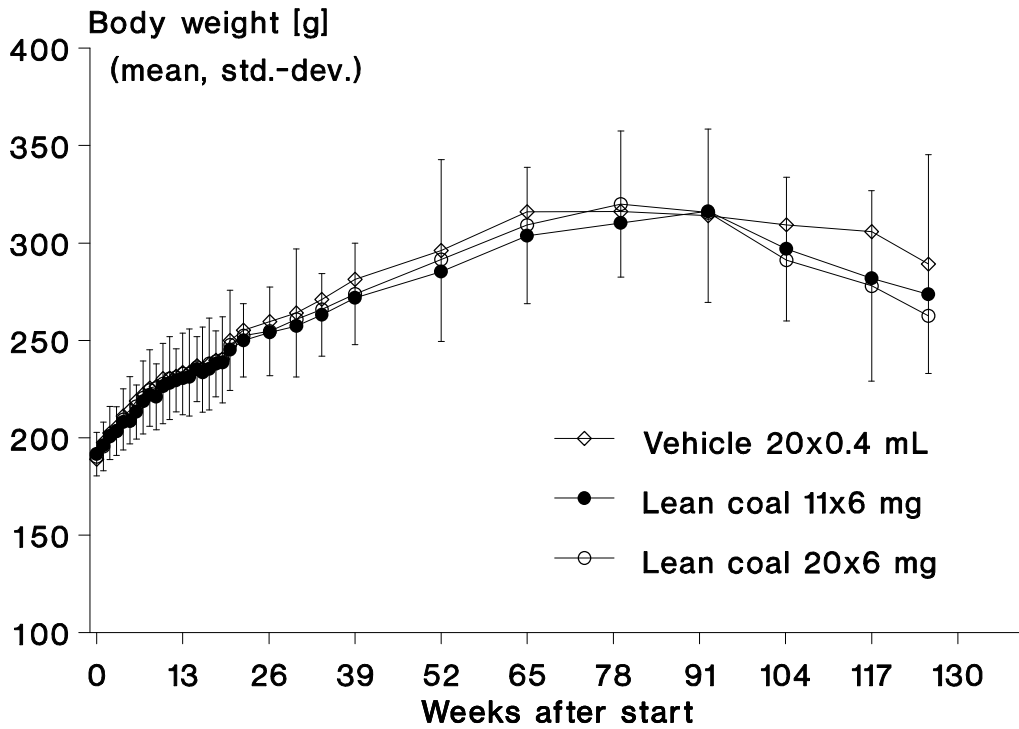


Fig. 8.1 Body weight development of groups 95/1 A (vehicle), 95/1 BI and BII (lean coal)

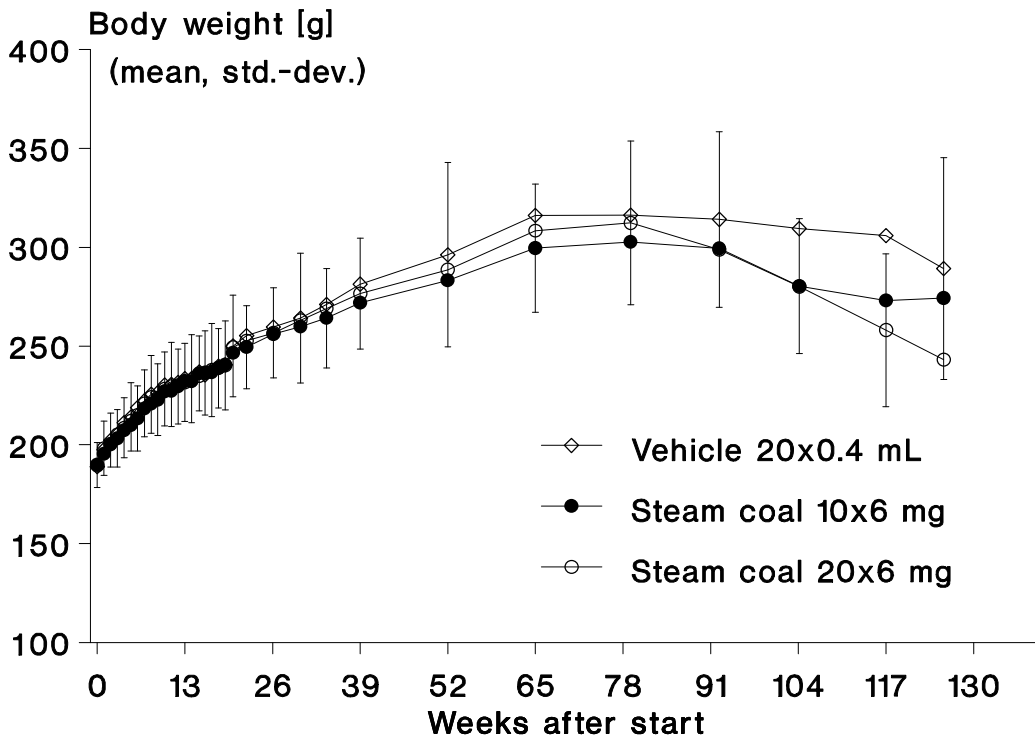


Fig. 8.2 Body weight development of groups 95/1 A (vehicle), 95/1 CI and CII (steam coal)

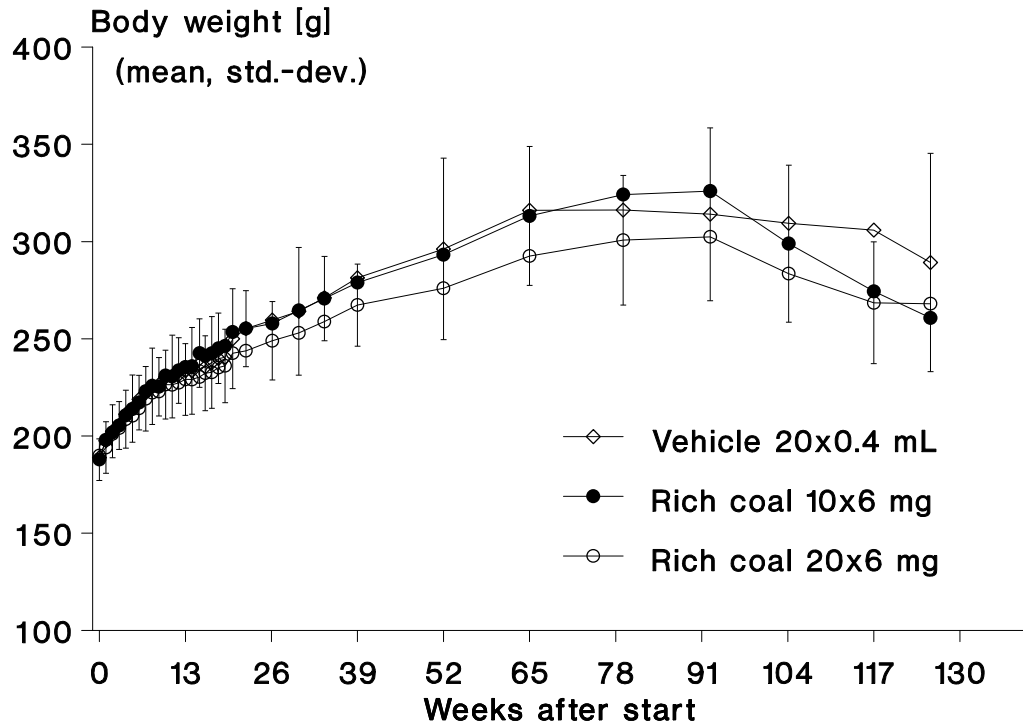


Fig. 8.3 Body weight development of groups 95/1 A (vehicle), 95/1 DI and DII (rich coal)

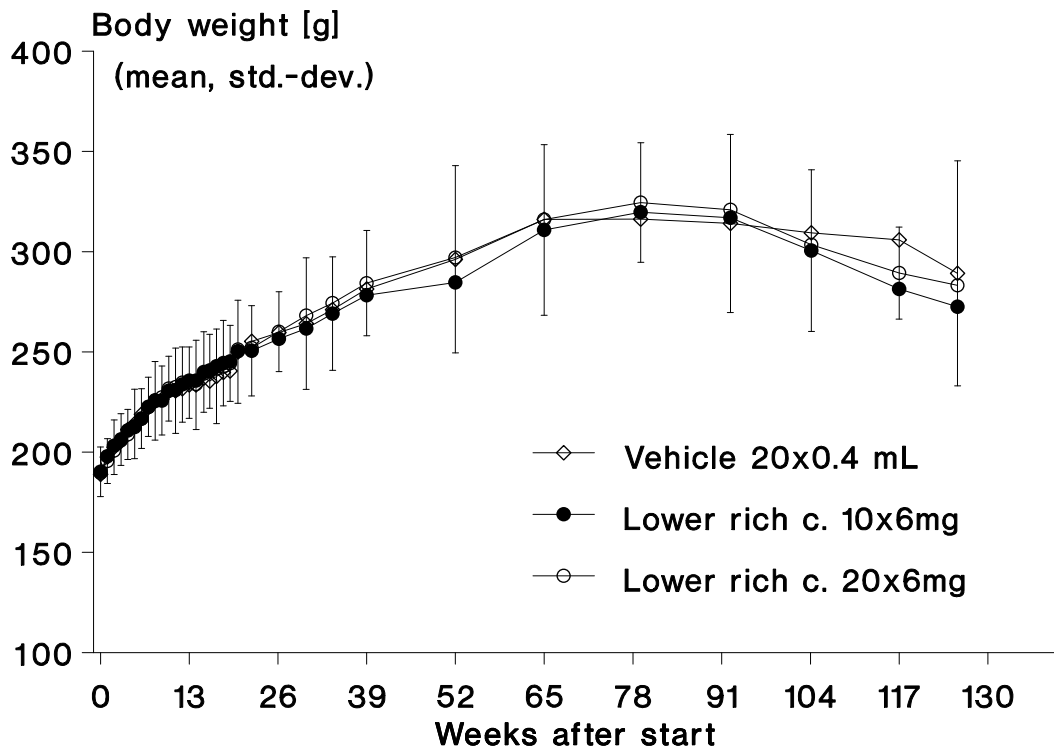


Fig. 8.4 Body weight development of groups 95/1 A (vehicle), 95/1 EI and EII (lower rich coal)

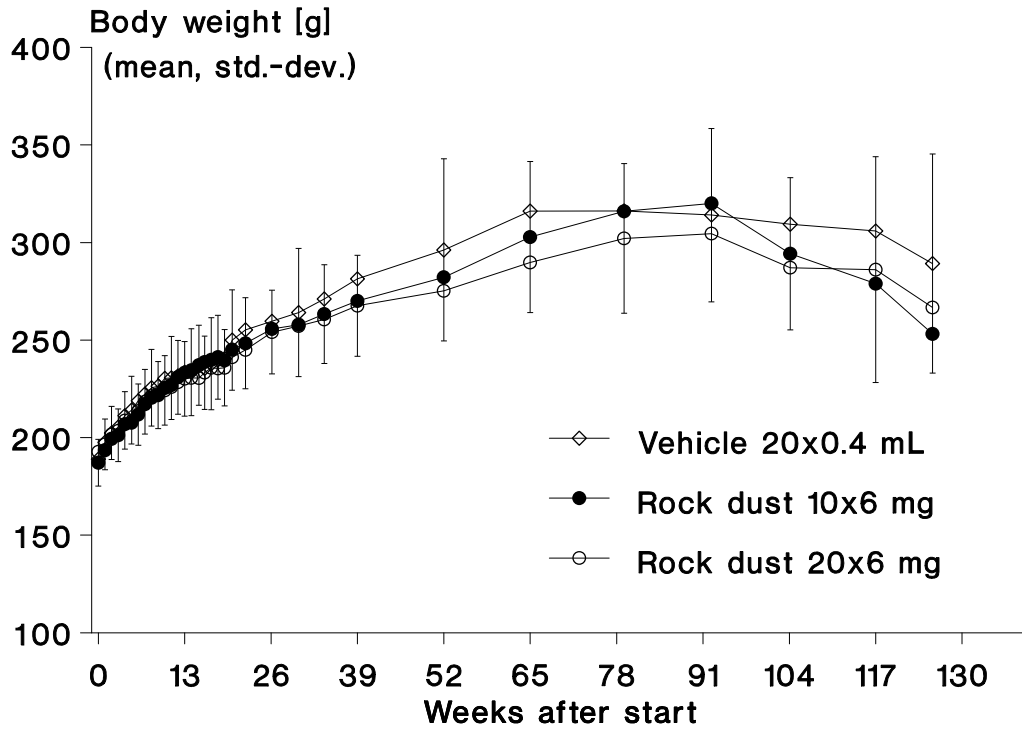


Fig. 8.5 Body weight development of groups 95/1 A (vehicle), 95/1 FI and FII (rock dust)

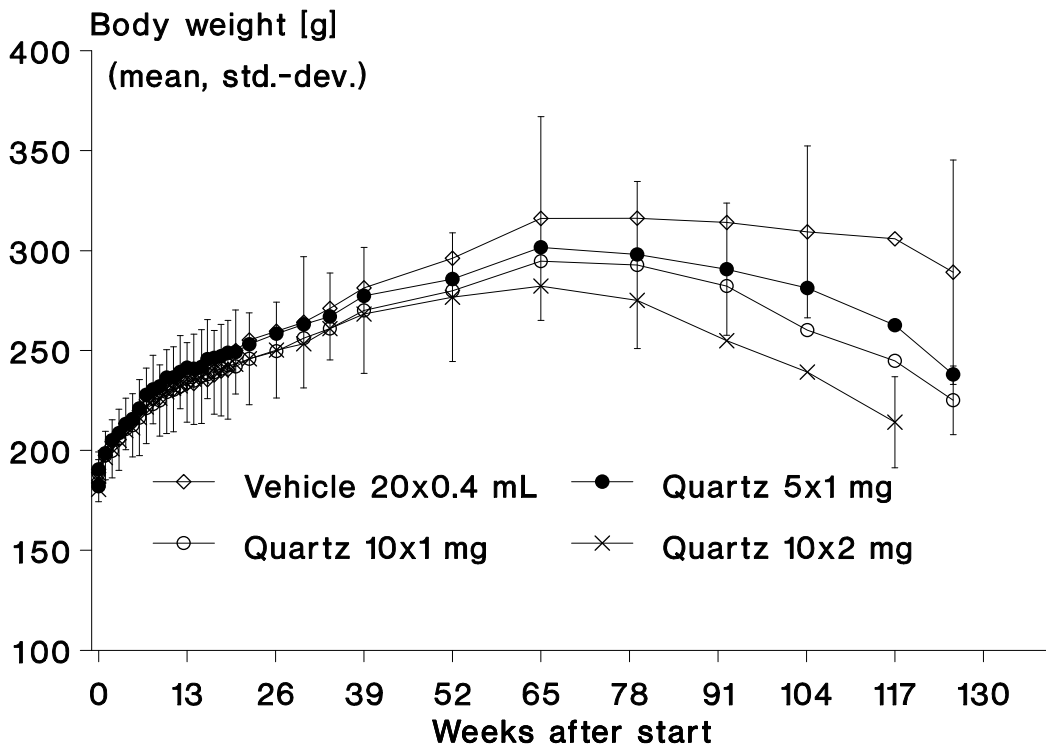


Fig. 8.6 Body weight development of groups 95/1 A (vehicle), 95/1 GI, GII and GIII (quartz DQ12)

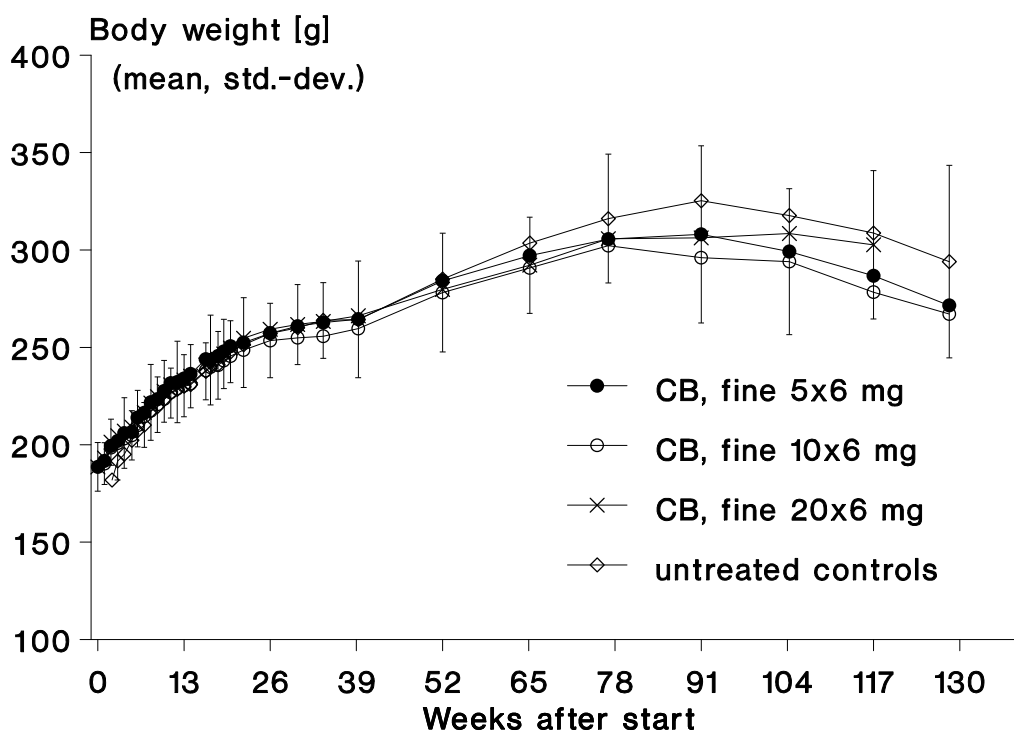


Fig. 8.7 Body weight development of groups 95/5 F (untreated controls), 95/5 AI, All and AllI (carbon black 101, fine; the low dose group additionally received 1 x 2.5 mg diesel soot, by mistake; likewise the middle dose group received 1 x 3 mg diesel soot and the high dose group received 1 x 6 mg diesel soot)

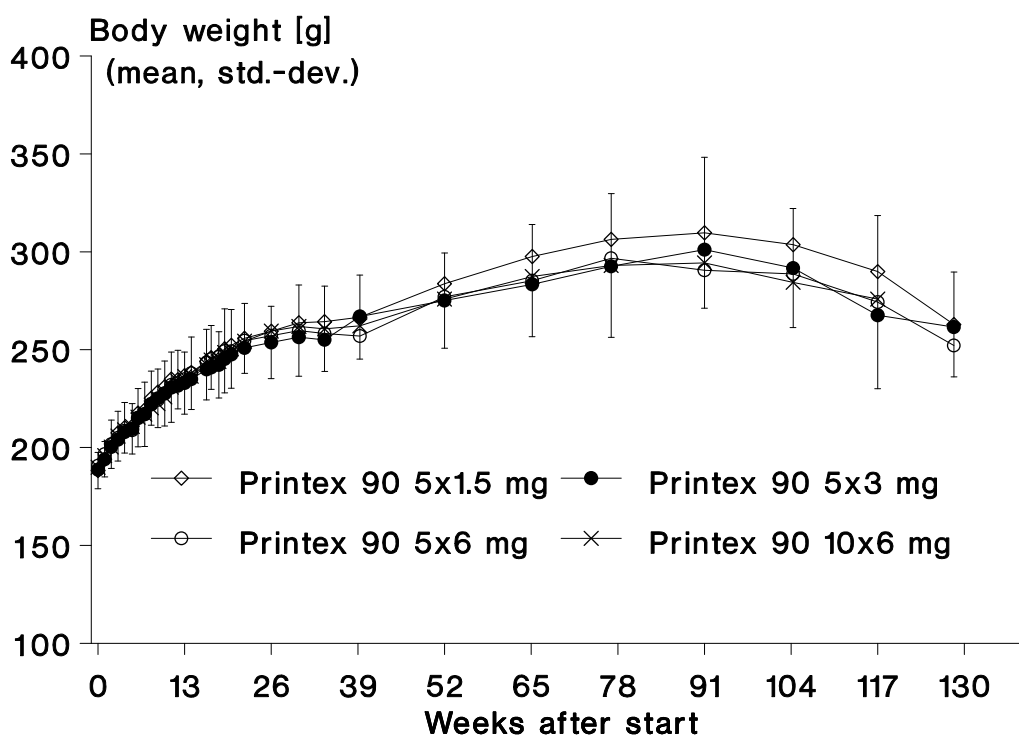


Fig. 8.8 Body weight development of groups 95/5 BI, BII, BIII and BIV (carbon black Printex 90; the lowest dose group additionally received 1 x 3 mg titanium dioxide P25, by mistake; likewise part of the rats of the second dose group received 1 x 6 mg titanium dioxide P25)

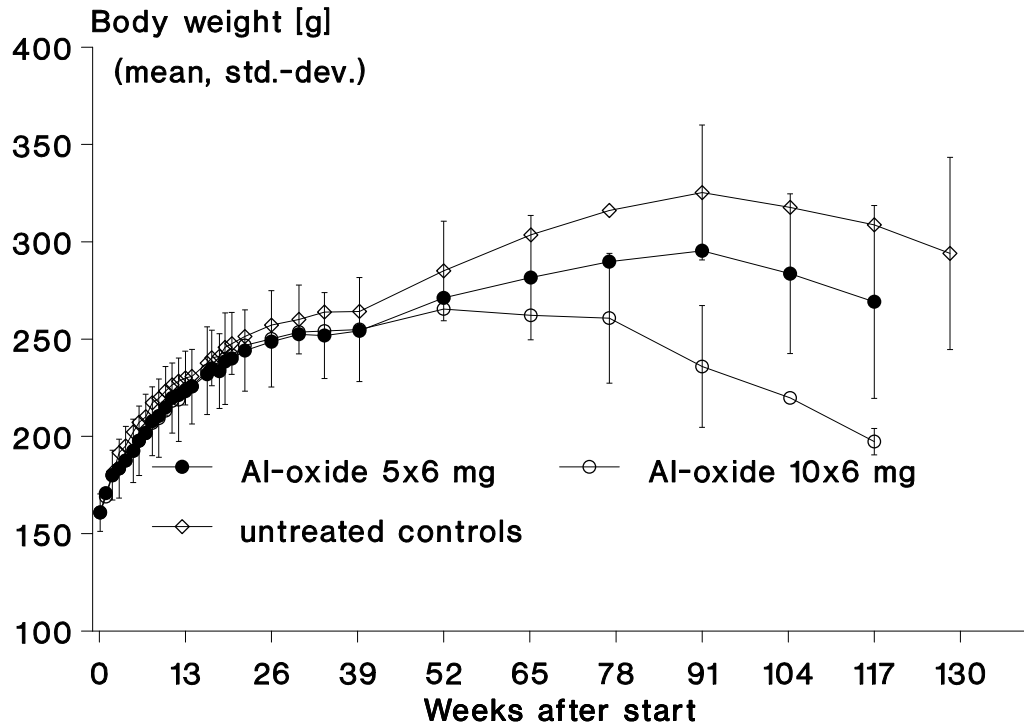


Fig. 8.9 Body weight development of groups 95/5 F (untreated controls), 95/5 CI and CII (aluminium oxide C)

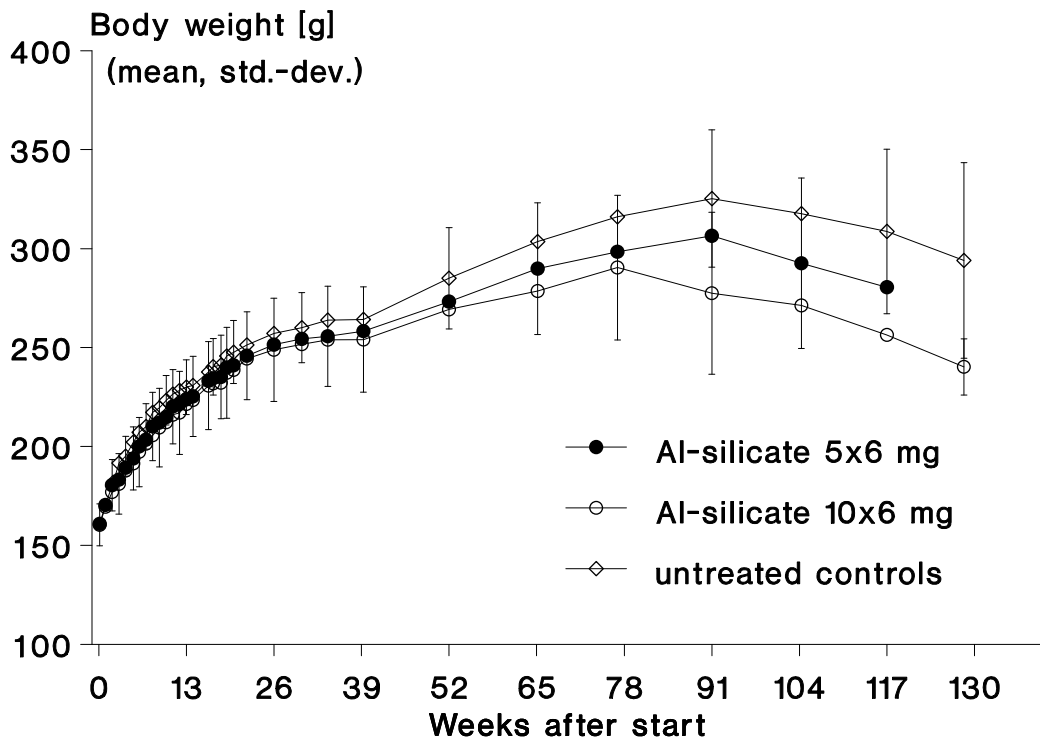


Fig. 8.10 Body weight development of groups 95/5 F (untreated controls), 95/5 DI and DII (aluminium silicate P820)

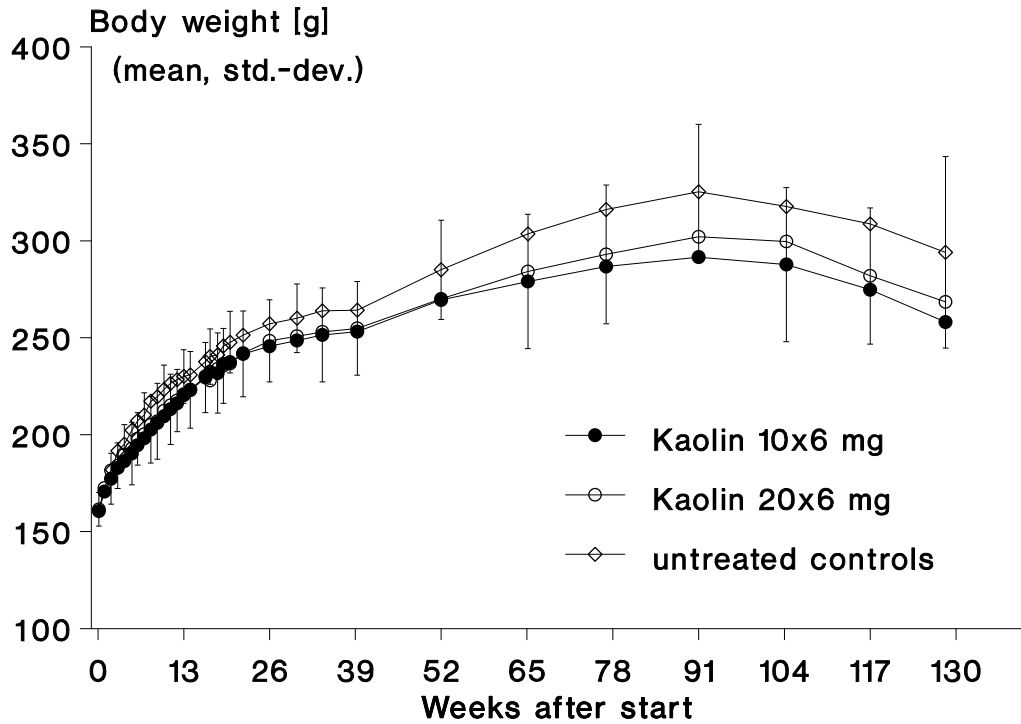


Fig. 8.11 Body weight development of groups 95/5 F (untreated controls), 95/5 EI and EII (kaolin)

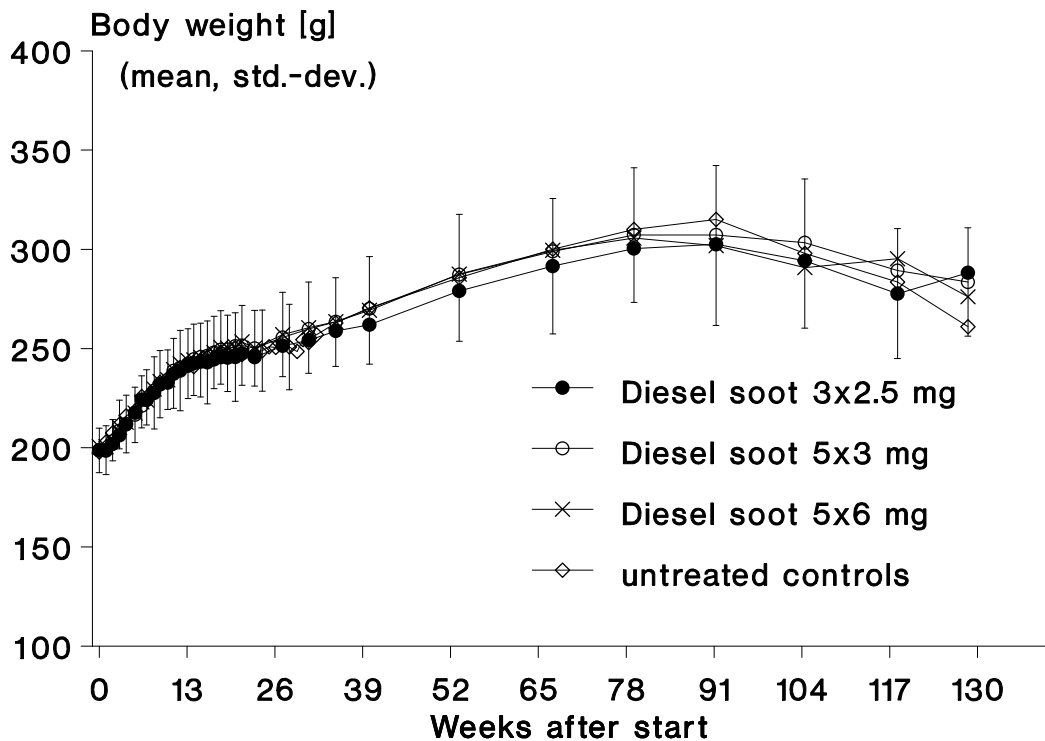


Fig. 8.12 Body weight development of groups 95/6 K (untreated controls), 95/6 AI, AII and AIII (diesel soot)

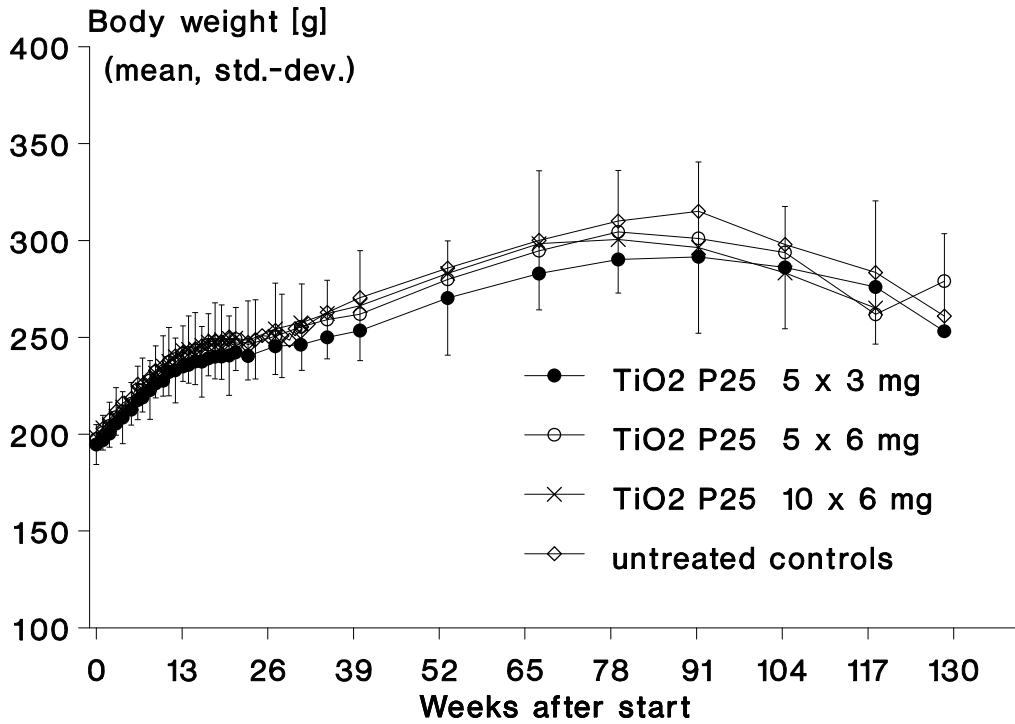


Fig. 8.13 Body weight development of groups 95/6 K (untreated controls), 95/6 BI, BII and BIII (titanium dioxide P25, ultrafine, hydrophilic)

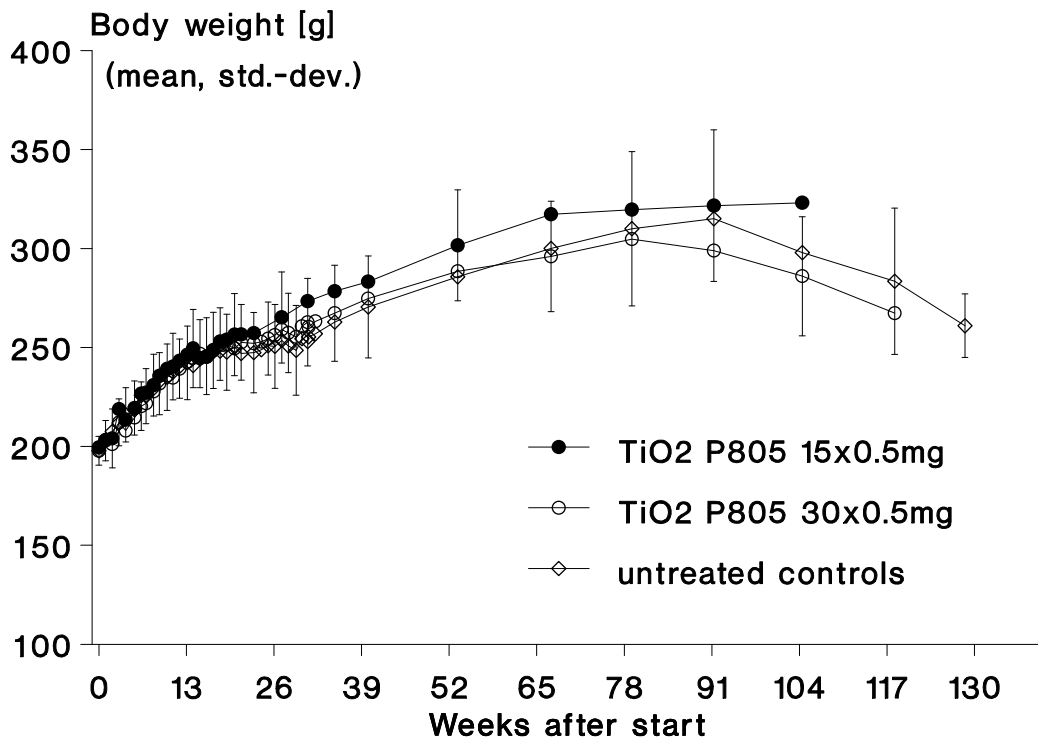


Fig. 8.14 Body weight development of groups 95/6 K (untreated controls), 95/6 CI and CII (titanium dioxide P805, ultrafine, hydrophobic)

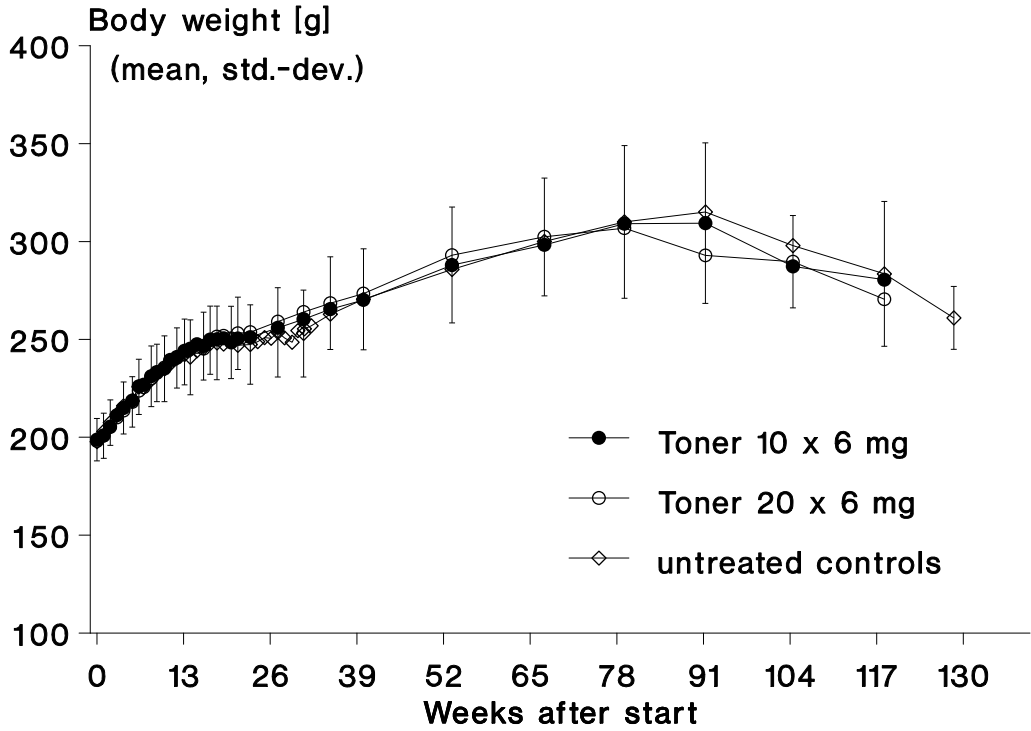


Fig. 8.15 Body weight development of groups 95/6 K (untreated controls), 95/6 DI and DII (test toner)

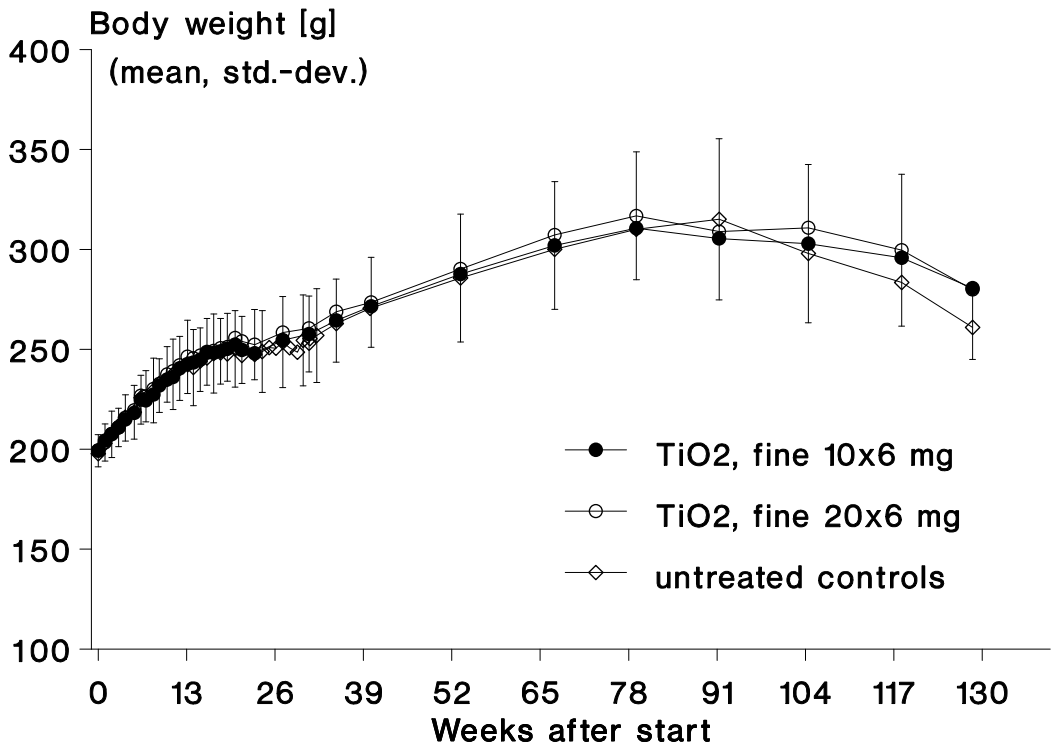


Fig. 8.16 Body weight development of groups 95/6 K (untreated controls), 95/6 EI and EII (titanium dioxide, fine)

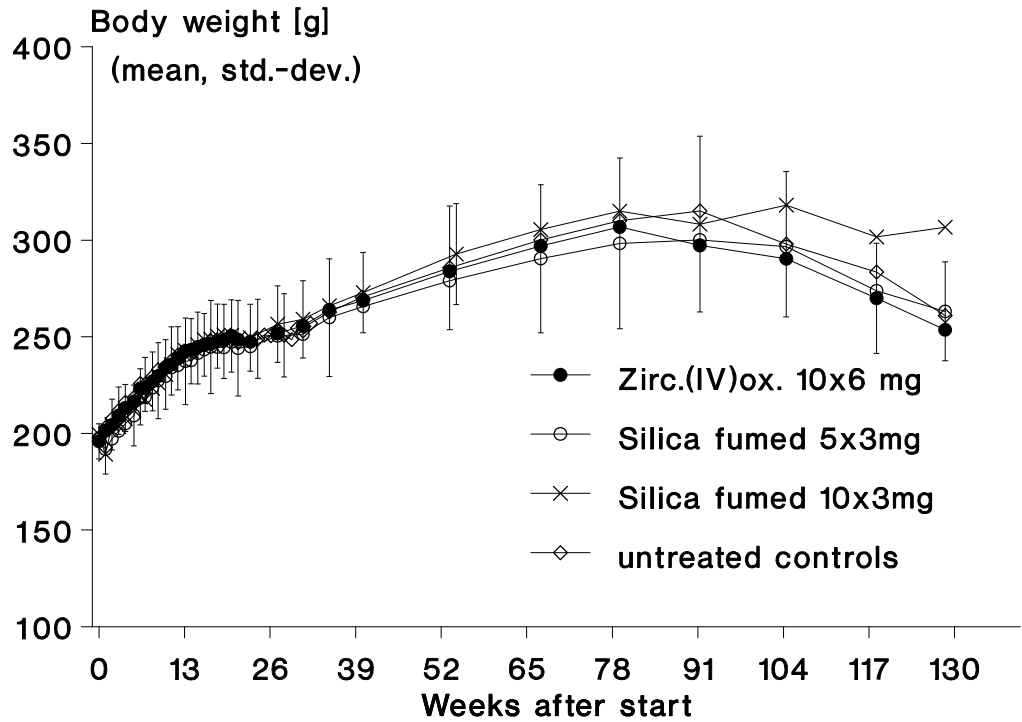


Fig. 8.17 Body weight development of groups 95/6 K (untreated controls), 95/6 F (zirconium dioxide), 95/6 HI and HII (silica, fumed)

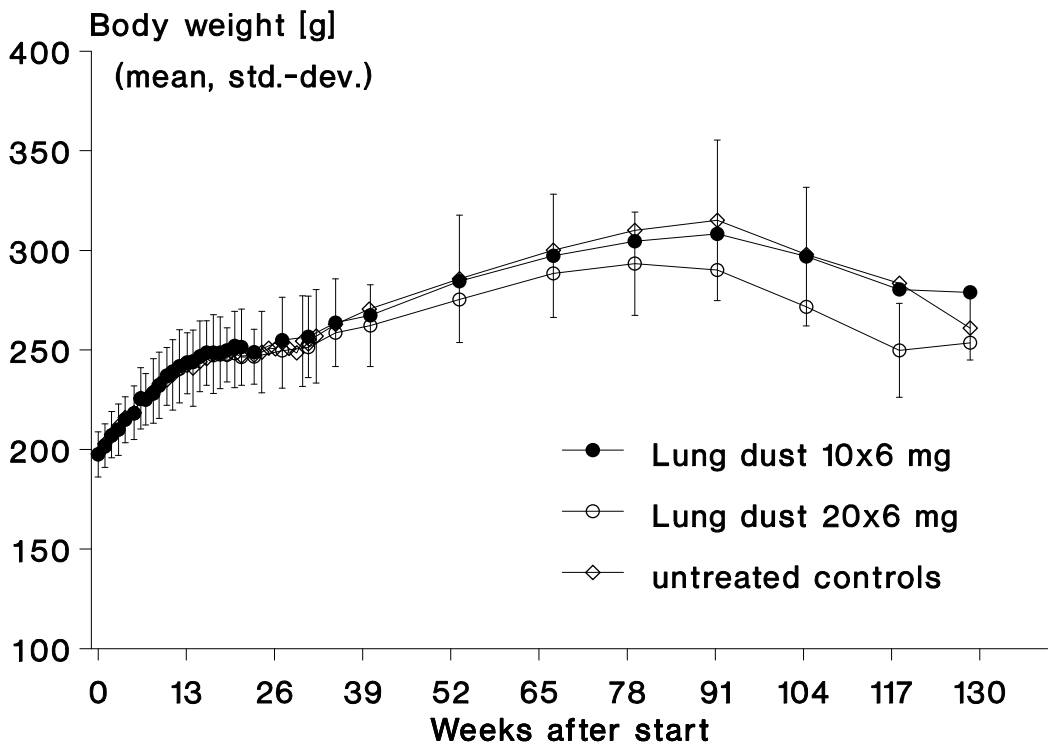


Fig. 8.18 Body weight development of groups 95/6 K (untreated controls), 95/6 GI and GII (lung dust)

8.2 Überlebenszeiten (Survival analysis)

8.2.1 Survival analysis - Tables

Starting on next page

Table 8.2 Survival analysis (the sequence of dusts of Experiment No. 95/1 in this Table is different from the sequence in the presentation of the results in the Report as it follows the original experimental design)

Group No.	Substance, dose	n ^a	Time to death [weeks]				p-value ^b of statist. test		
			1st rat	20 %	50 %	80 %	100 %	Log-rank	Wilcoxon
95/1 A	0.5% Tween 80 in 0.9% NaCl-sol. 20 x 0.4 mL	47	49.86	82.29	110.14	124.29	126.14	control	
95/1 BI	Lean coal (Magerkohle) 11 x 6 mg	48	26.43	72.86	109.00	125.14	126.00	0.96	0.67
95/1 BII	Lean coal (Magerkohle) 20 x 6 mg	48	33.29	71.29	101.29	119.00	126.00	0.16	0.17
95/1 CI	Steam coal (Gasflammkohle) 10 x 6 mg	47	8.14	84.00	108.29	126.00	126.00	0.47	0.69
95/1 CII	Steam coal (Gasflammkohle) 20 x 6 mg	46	60.14	79.00	95.14	122.00	126.14	0.60	0.45
95/1 DI	Rich coal (Fettkohle) 10 x 6 mg	48	54.71	82.71	106.14	125.86	126.00	0.49	0.79
95/1 DII	Rich coal (Fettkohle) 20 x 6 mg	46	42.14	78.14	99.00	121.71	126.00	0.50	0.34
95/1 EI	Lower rich coal (Untere Fettkohle) 10 x 6 mg	48	39.14	83.86	107.86	123.14	126.00	0.91	0.97
95/1 EII	Lower rich coal (Untere Fettkohle) 20 x 6 mg	45	29.14	75.14	105.71	121.86	126.14	0.34	0.46
95/1 FI	Rock dust (Gesteinsstaub) 10 x 6 mg	48	53.57	79.14	102.29	124.71	126.00	0.91	0.72
95/1 FII	Rock dust (Gesteinsstaub) 20 x 6 mg	48	29.86	76.00	105.14	120.43	126.00	0.21	0.24
95/1 GI	Quartz 5 x 1 mg	38	34.57	78.71	103.29	121.57	126.00	0.60	0.58
95/1 GII	Quartz 10 x 1 mg	36	32.29	88.71	105.71	116.00	126.00	0.37	0.65
95/1 GIII	Quartz 20 x 1 mg	36	39.86	80.71	100.00	110.57	124.71	0.0048	0.048

ctd. on next page

Table 8.2 Survival analysis (continued)

Group No.	Substance, dose	n ^a	Time to death [weeks]				p-value ^b of statistical test		
			1st rat	20 %	50 %	80 %	100 %	Log-rank	Wilcoxon
95/5 A I	Carbon black, fine 5 x 6.0 mg + diesel soot, lorry 1 x 2.5 mg	46	41.00	89.00	106.29	126.00	128.71	0.008 / 0.61	0.022 / 0.46
95/5 A II	Carbon black, fine 10 x 6.0 mg + diesel soot, lorry 1 x 3.0 mg	46	29.43	75.14	104.14	126.14	128.71	0.012 / 0.82	0.008 / 0.87
95/5 A III	Carbon black, fine 20 x 6.0 mg + diesel soot, lorry 1 x 6.0 mg	47	37.29	87.57	108.00	122.71	127.00	0.003 / 0.71	0.004 / 0.82
95/5 B I	Carbon black, ultrafine 5 x 1.5 mg + TiO ₂ , ultrafine 1 x 3.0 mg	48	49.57	88.71	110.00	127.86	129.00	0.023 / 0.48	0.036 / 0.49
95/5 B II a	Carbon black, ultrafine 5 x 3.0 mg + TiO ₂ , ultrafine 1 x 6.0 mg	21	78.71	93.14	112.14	128.86	128.86	0.98 / 0.08	0.75 / 0.15
95/5 B II b	Carbon black 5 x 3.0 mg	27	41.00	76.71	106.57	121.57	128.86	0.0007 / 0.57	0.004 / 0.68
95/5 B III	Carbon black, ultraf. 5 x 6.0 mg	48	39.00	90.14	108.14	125.00	129.00	0.009 / 0.90	0.013 / 0.84
95/5 B IV	Carbon black, ultraf. 10 x 6.0 mg	48	8.00	79.71	100.00	122.29	126.71	0.0001 / 0.33	0.0003 / 0.44
95/5 C I	Aluminium oxide C 5 x 6.0 mg	46	58.57	91.43	110.71	124.57	127.71	0.003 / 0.93	0.012 / 0.75
95/5 C II	Aluminium oxide C 10 x 6.0 mg	48	49.00	71.14	96.71	106.29	121.86	0.0001 / 0.0002	0.0001 / 0.0044
95/5 D I	Aluminium silikate P 820 5 x 6.0 mg	48	79.86	96.00	106.71	124.86	126.86	0.002 / 0.97	0.017 / 0.40
95/5 D II	Aluminium silikate P 820 10 x 6.0 mg	48	49.00	93.14	107.57	125.57	129.57	0.026 / 0.84	0.024 / 0.76
95/5 E I	Kaolin 10 x 6.0 mg	48	55.86	94.57	115.00	129.57	129.71	0.17 / 0.19	0.19 / 0.15
95/5 E II	Kaolin 20 x 6.0 mg	48	55.57	98.86	121.00	129.71	129.86	not calculated	
95/5 F	No treatment	48	64.14	95.57	124.00	129.14	129.14	control	

ctd. on next page

Table 8.2 Survival analysis (continued)

Group No.	Substance, dose	n ^a	Time to death [weeks]					p-value ^b of statistical test	
			1st rat	20 %	50 %	80 %	100 %	Log-rank	Wilcoxon
95/6 AI	Diesel soot (lorry) 3 x 2.5 mg	48	30.43	78.86	116.86	125.29	129.00	0.56	0.66
95/6 AII	Diesel soot (lorry) 5 x 3.0 mg	48	67.14	91.14	115.29	129.00	129.00	0.99	0.73
95/6 AIII	Diesel soot (lorry) 5 x 6.0 mg	48	4.14	91.14	108.14	118.29	129.00	0.06	0.15
95/6 BI	TiO ₂ , ultraf., h.philic 5 x 3.0 mg	48	4.14	89.14	114.29	129.14	129.29	0.66	0.68
95/6 BII	TiO ₂ , ultraf., h.philic 5 x 6.0 mg	48	50.86	90.14	114.29	125.14	128.86	0.23	0.61
95/6 BIII	TiO ₂ , ultraf., h.philic 10 x 6.0 mg	47	41.29	80.29	104.29	113.29	125.29	0.0001	0.0008
95/6 CI	TiO ₂ , ultraf., h.phobic 15 x 0.5 mg	18	0.86	0.86	85.57	111.71	111.71	(0.013)	0.054) ^c
95/6 CII	TiO ₂ , ultraf., h.phobic 30 x 0.5 mg	22	0.43	23.71	113.86	121.57	123.71	(0.98)	0.71) ^c
95/6 DI	Toner 10 x 6.0 mg	24	75.43	83.00	111.29	123.43	123.57	0.26	0.47
95/6 DII	Toner 20 x 6.0 mg	24	47.71	90.00	101.43	123.57	123.71	0.38	0.40
95/6 EI	TiO ₂ , fine 10 x 6.0 mg	48	6.14	70.86	107.86	120.71	128.57	0.044	0.10
95/6 EII	TiO ₂ , fine 20 x 6.0 mg	46	48.00	94.14	113.14	126.57	129.00	0.72	0.97
95/6 F	ZrO ₂ 10 x 6.0 mg	48	37.29	90.43	115.29	126.86	129.43	0.88	0.92
95/6 GI	Lung dust 336/1 10 x 6.0 mg	40	67.00	102.86	117.43	128.71	128.71	0.55	0.25
95/6 GII	Lung dust 336/1 20 x 6.0 mg	34	61.86	83.86	106.57	124.86	128.71	0.15	0.35
95/6 HI	Silica, fumed 5 x 3.0 mg	40	40.29	88.57	113.43	124.71	128.86	0.47	0.86
95/6 HII	Silica, fumed 10 x 3.0 mg	36	0.29	87.14	111.71	121.43	128.57	0.17	0.29
95/6 K	No treatment	48	24.43	92.86	113.29	129.43	129.43	control	

^a Number of rats at start minus number of rats that died from anaesthesia or were killed for examinations (the number of rats excluded is 41 altogether among 2050 rats at start - or more than 22,000 instillations with anaesthesia).

^b As a rule, the survival curve of each treatment group was compared to the concurrent controls. The untreated controls in experiment No. 95/5 showed a extraordinarily good survival; therefore, the groups 95/5 were additionally compared to the vehicle controls of experiment No. 95/1 and the statistically significant differences in survival compared to the untreated controls are not considered as an effect of the dusts, particularly because similar significance did not occur in experiment No. 95/6.

^c Statistical test refers only to the long-term survival of rats surviving the acute toxic effects of the hydrophobic titanium dioxide.

8.2.2 Mortality curves - Figures

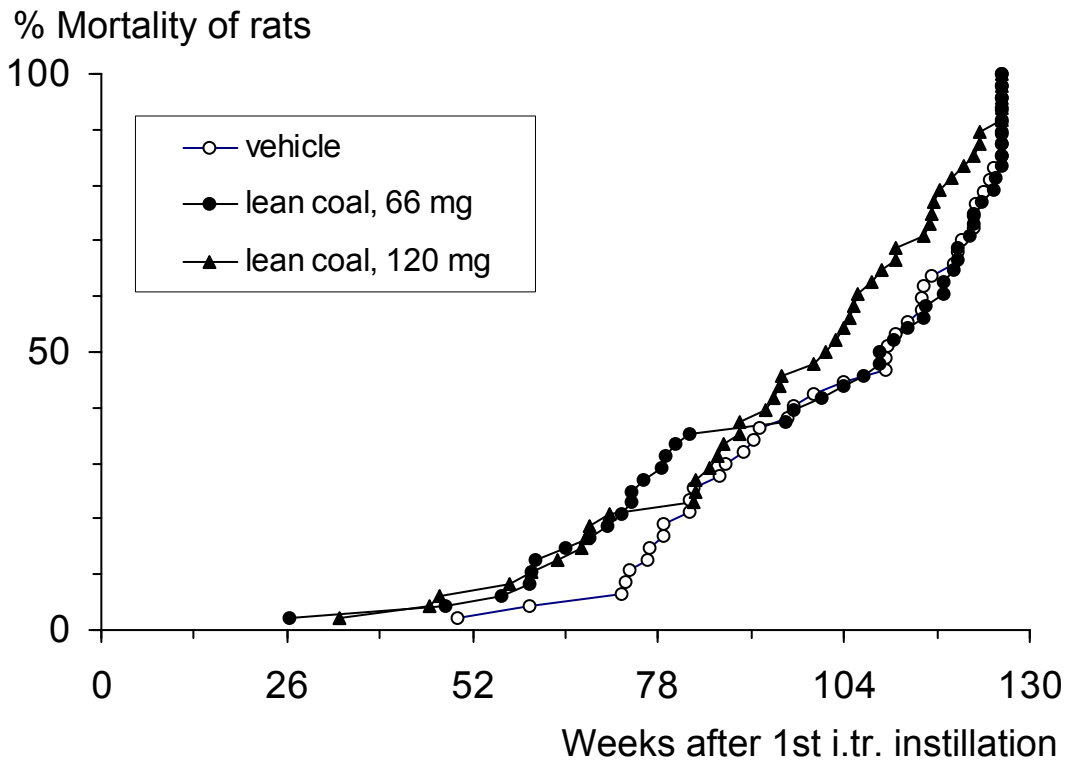


Fig. 8.19 Mortality curves of groups 95/1 A (vehicle), 95/1 BI and BII (lean coal)

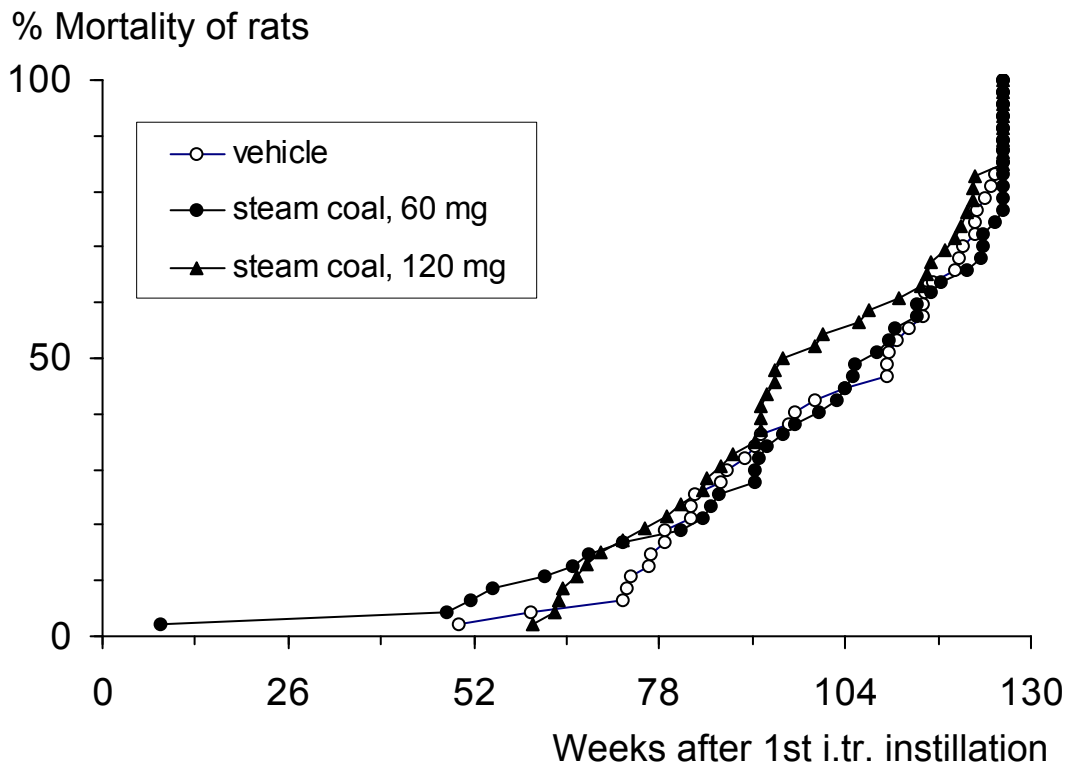


Fig. 8.20 Mortality curves of groups 95/1 A (vehicle), 95/1 CI and CII (steam coal)

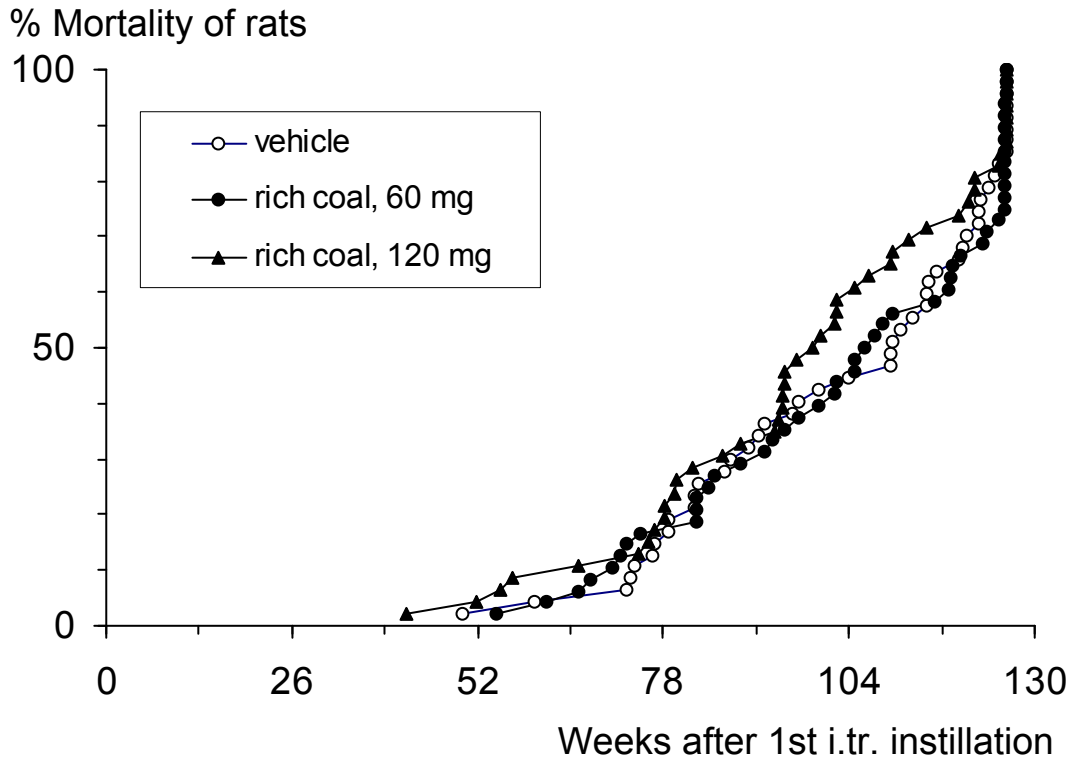


Fig. 8.21 Mortality curves of groups 95/1 A (vehicle), 95/1 DI and DII (rich coal)

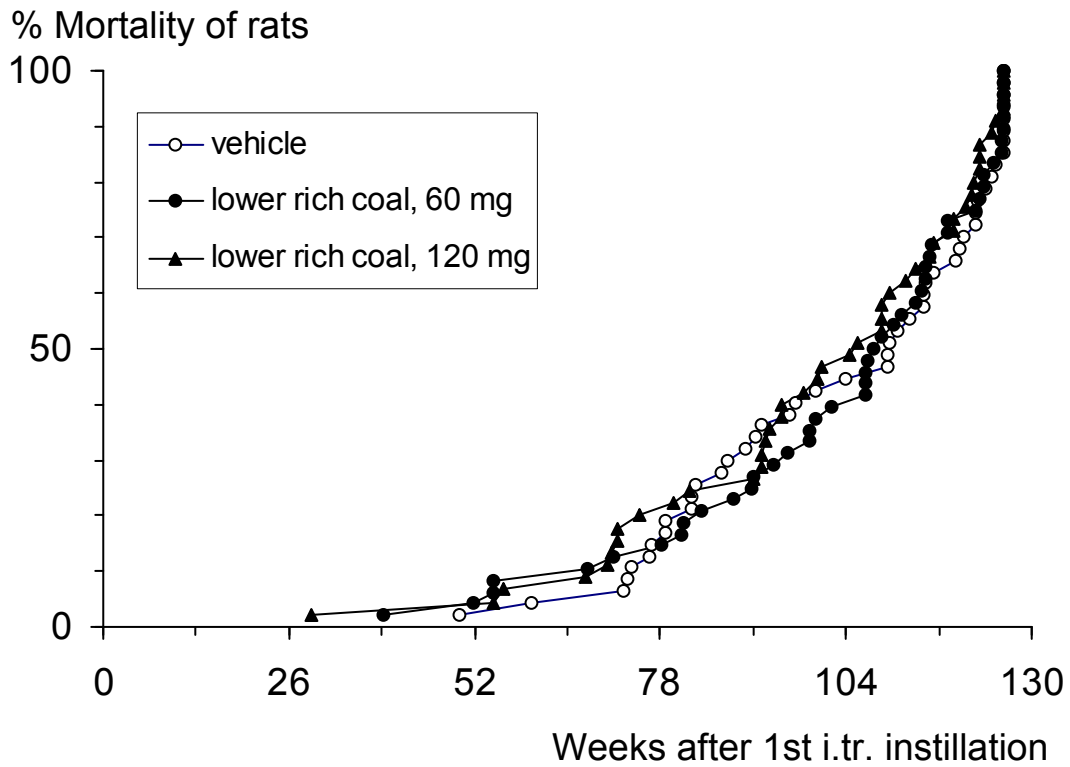


Fig. 8.22 Mortality curves of groups 95/1 A (vehicle), 95/1 EI and EII (lower rich coal)

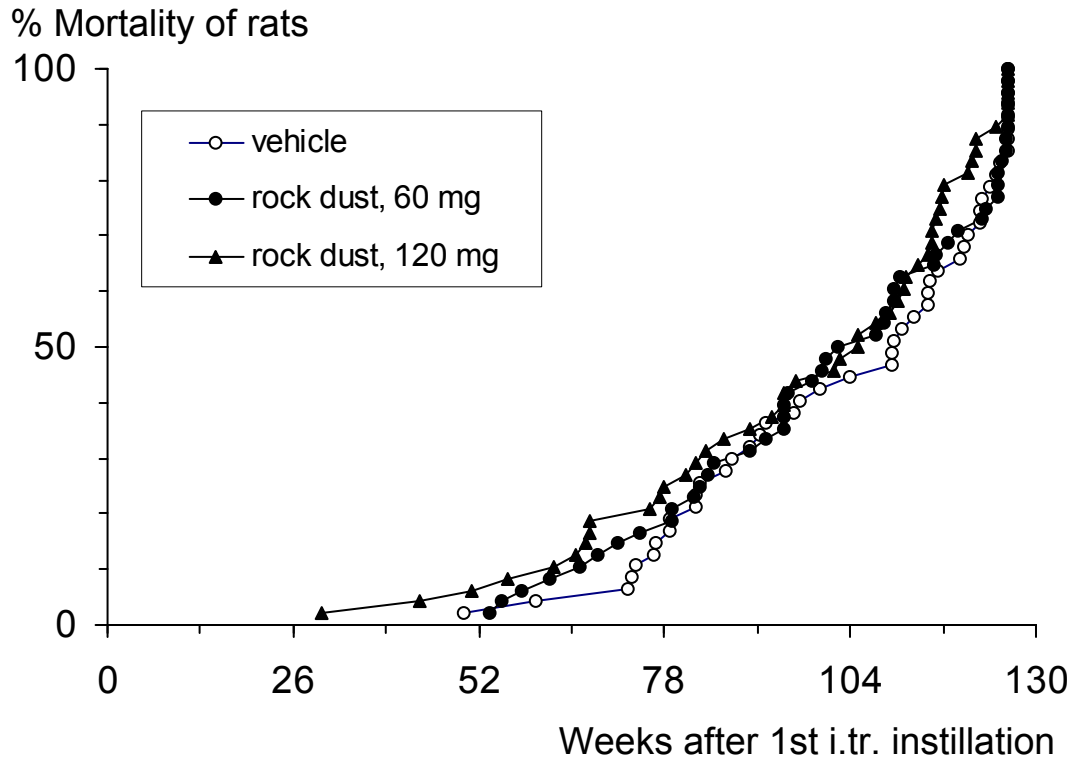


Fig. 8.23 Mortality curves of groups 95/1 A (vehicle), 95/1 FI and FII (rock dust)

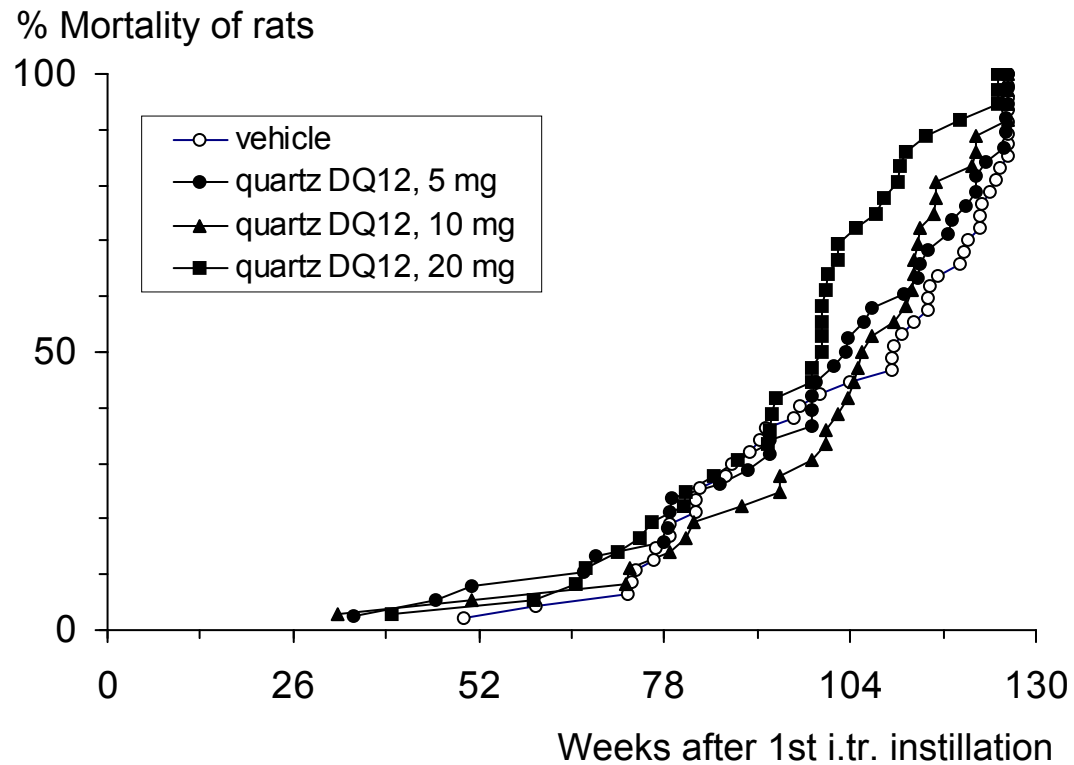


Fig. 8.24 Mortality curves of groups 95/1 A (vehicle), 95/1 GI, GII and GIII (quartz dust DQ12)

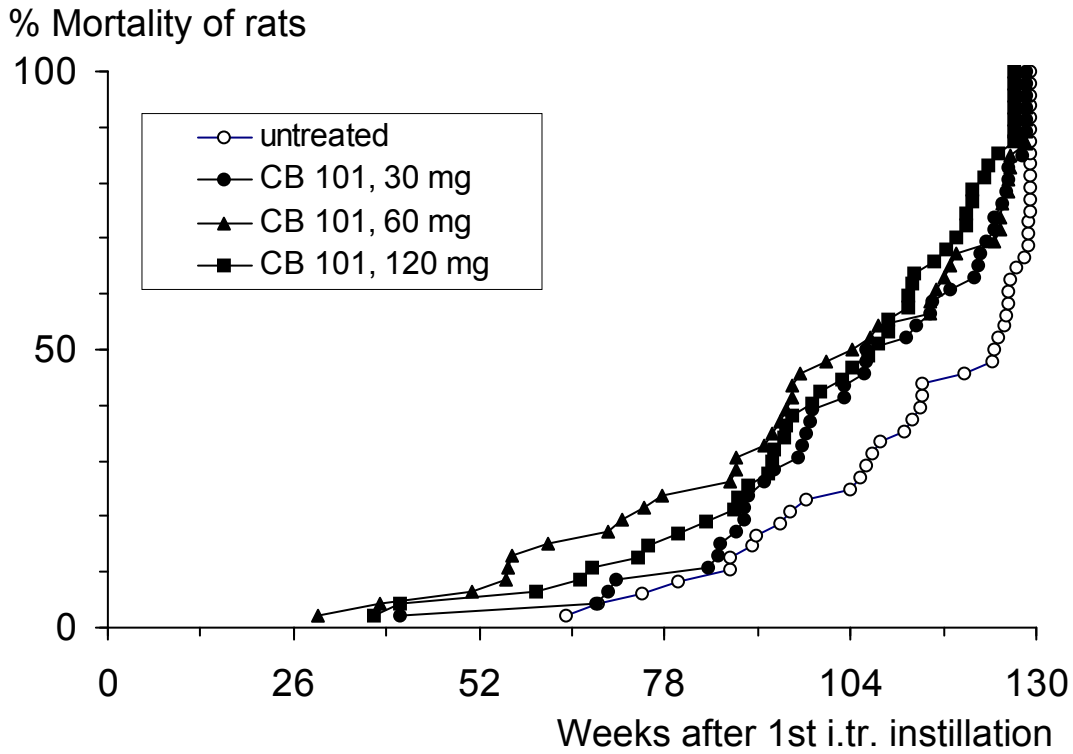


Fig. 8.25 Mortality curves of groups 95/5 F (untreated controls), 95/5 AI, AII and AIII (Carbon Black 101; the low dose group additionally received 1 x 2.5 mg diesel soot, by mistake; likewise the middle dose group received 1 x 3 mg diesel soot and the high dose group received 1 x 6 mg diesel soot)

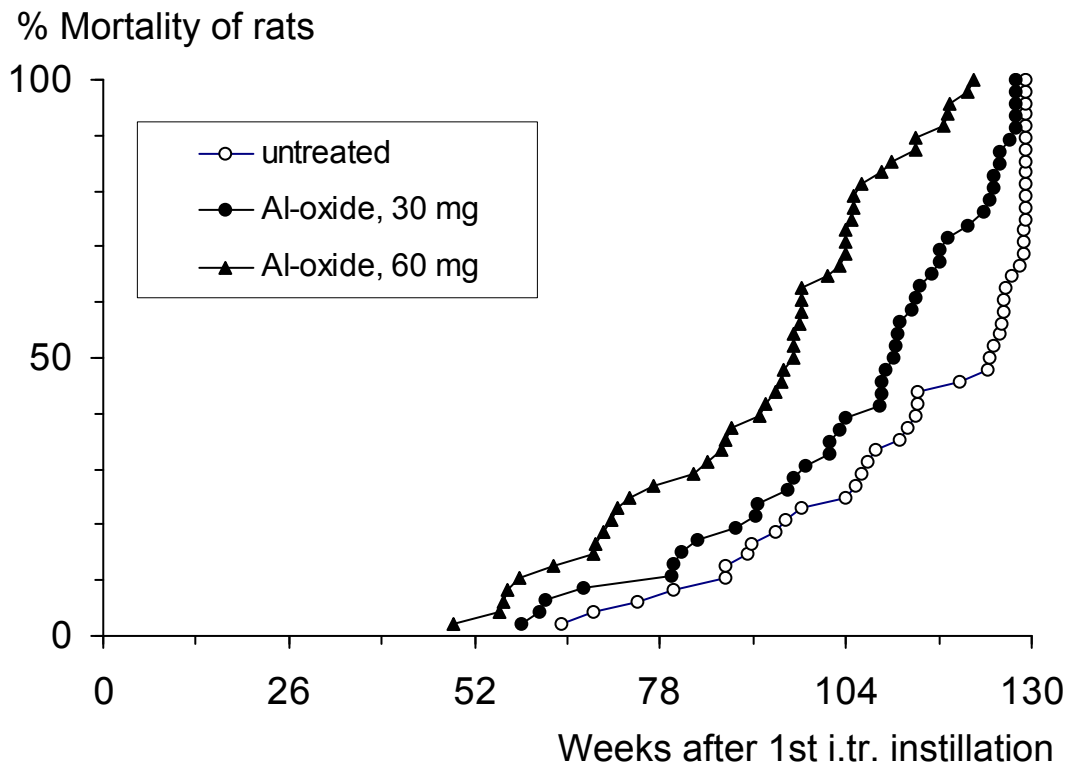


Fig. 8.26 Mortality curves of groups 95/5 F (untreated controls), 95/5 CI and CII (aluminium oxide)

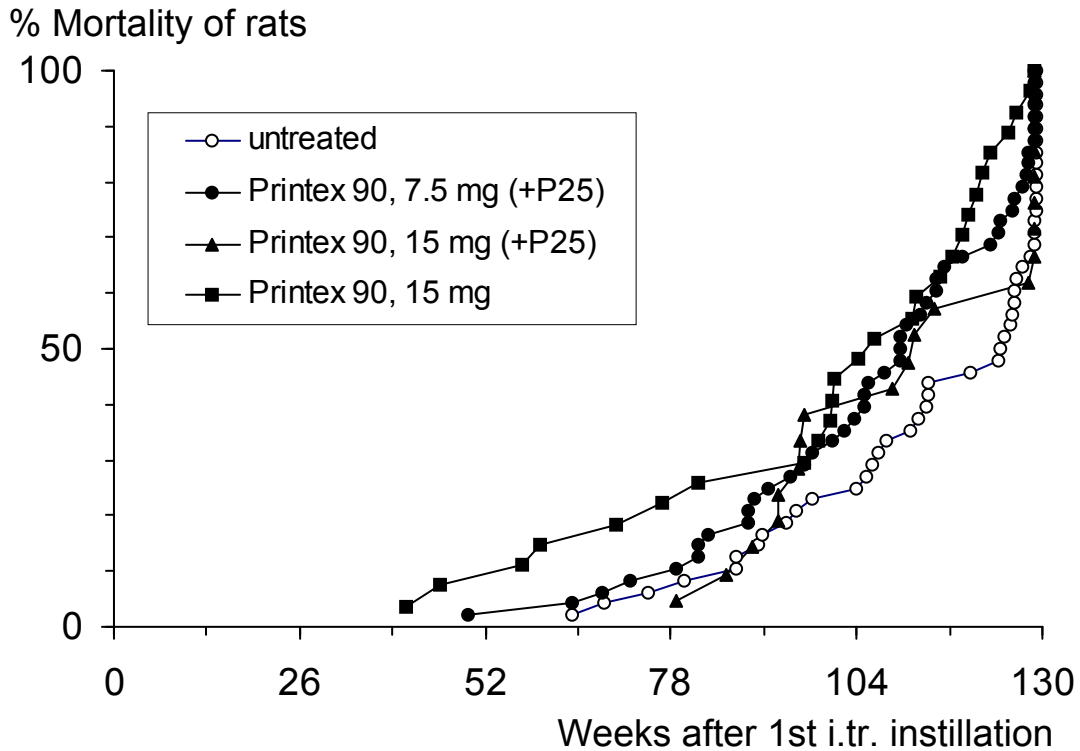


Fig. 8.27 Mortality curves of groups 95/5 F (untreated controls), 95/5 BI, BIIa and BIIb (carbon black Printex 90; the lowest dose group additionally received 1 x 3 mg titanium dioxide P25, by mistake; likewise part of the rats of the second dose group, originally group BII, received 1 x 6 mg titanium dioxide P25 and thus became group BIIa, the remaining rats correctly instilled became group BIIb)

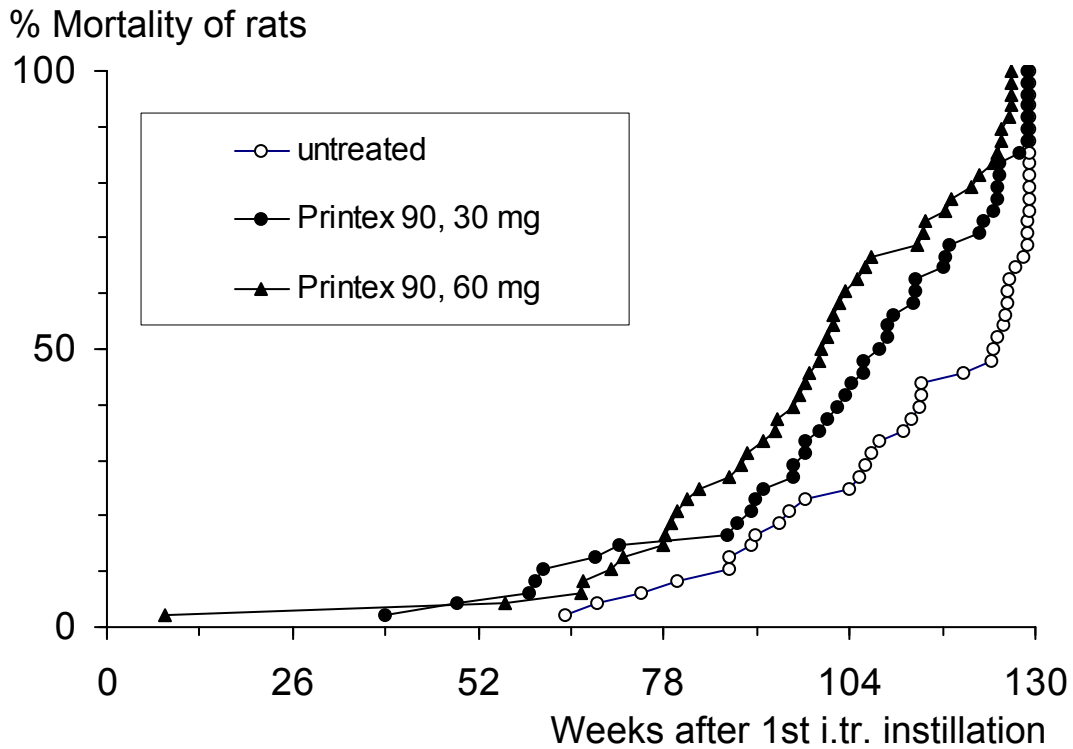


Fig. 8.28 Mortality curves of groups 95/5 F (untreated controls), 95/5 BIII and BIV (carbon black Printex 90)

% Mortality of rats

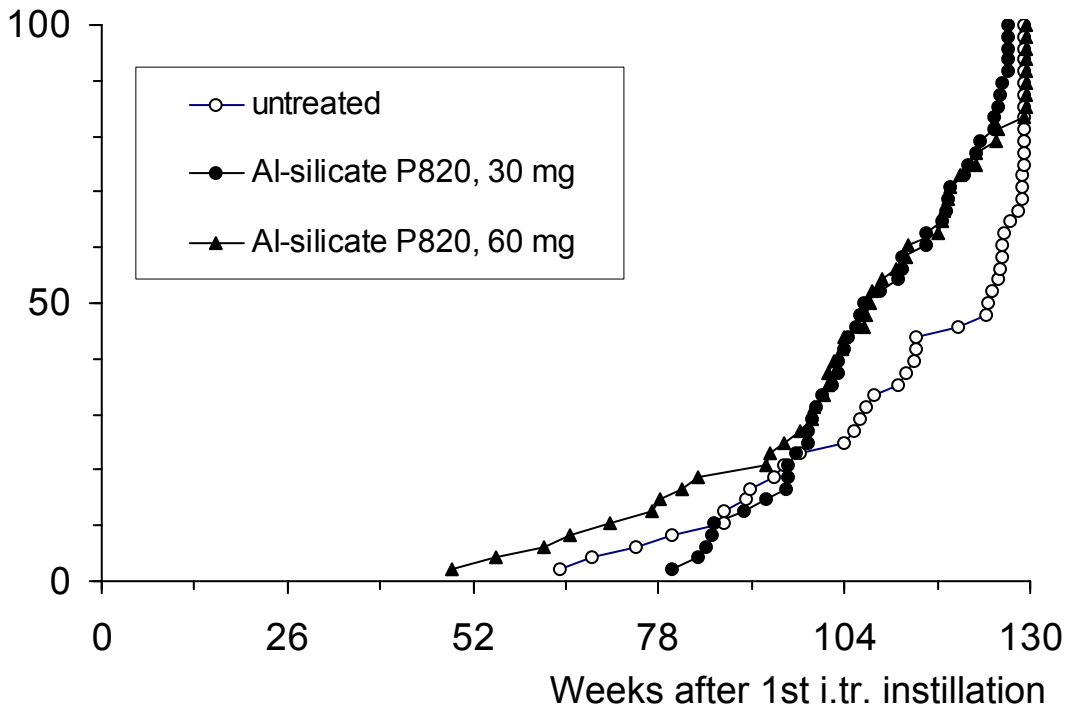


Fig. 8.29 Mortality curves of groups 95/5 F (untreated controls), 95/5 DI and DII (aluminium silicate P 820)

% Mortality of rats

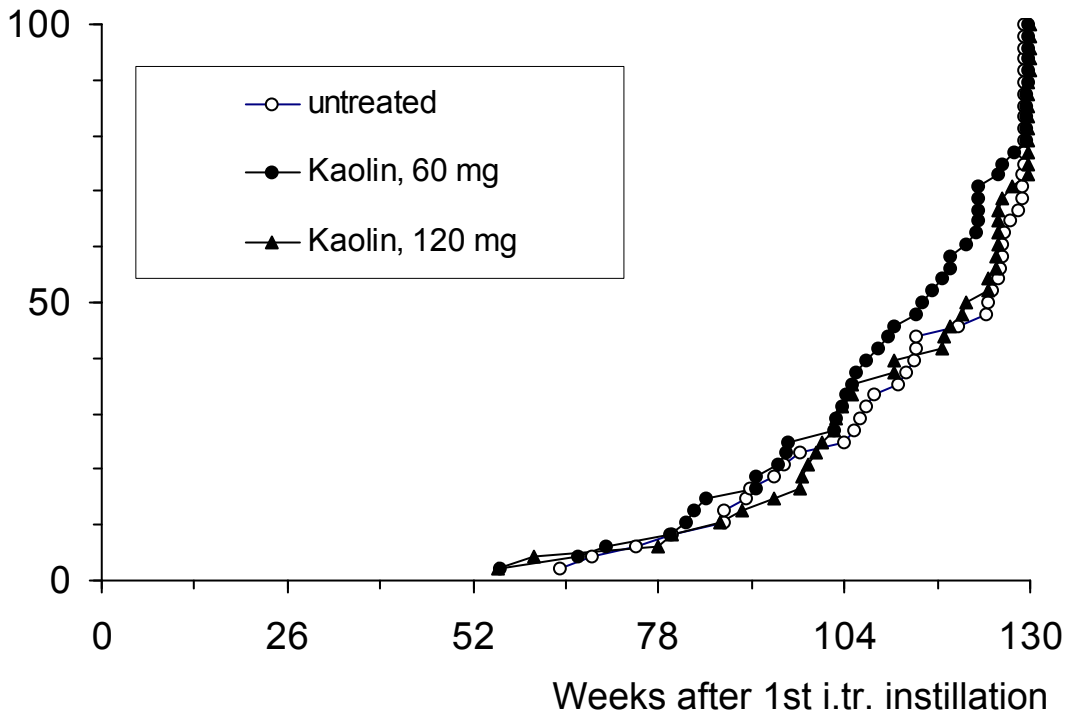


Fig. 8.30 Mortality curves of groups 95/5 F (untreated controls), 95/5 EI and EII (kaolin)

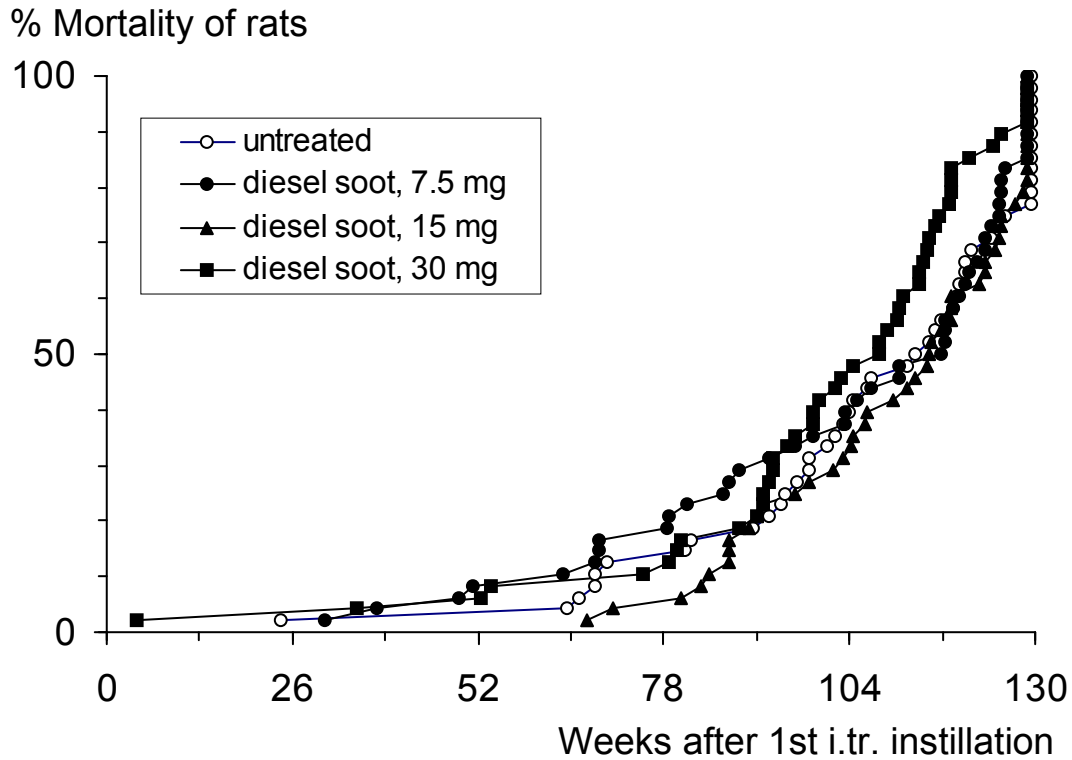


Fig. 8.31 Mortality curves of groups 95/6 K (untreated controls), 95/6 AI, All and AllI (diesel soot)

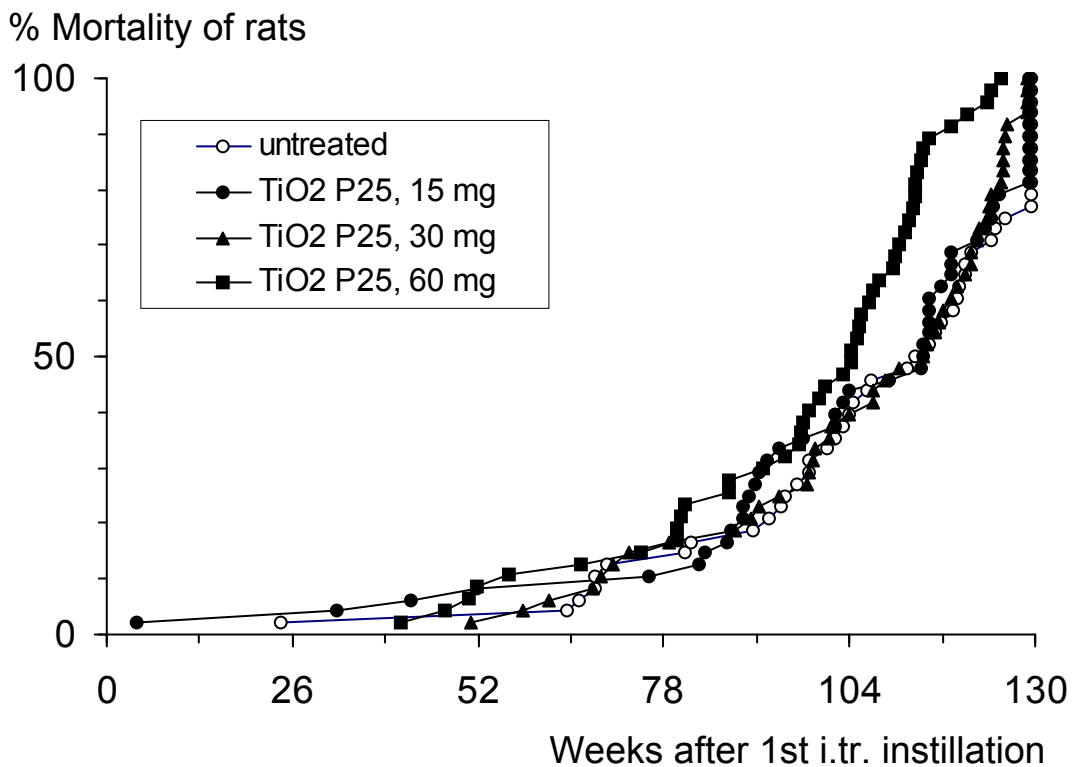


Fig. 8.32 Mortality curves of groups 95/6 K (untreated controls), 95/6 BI, BII and BIII (titanium dioxide P25)

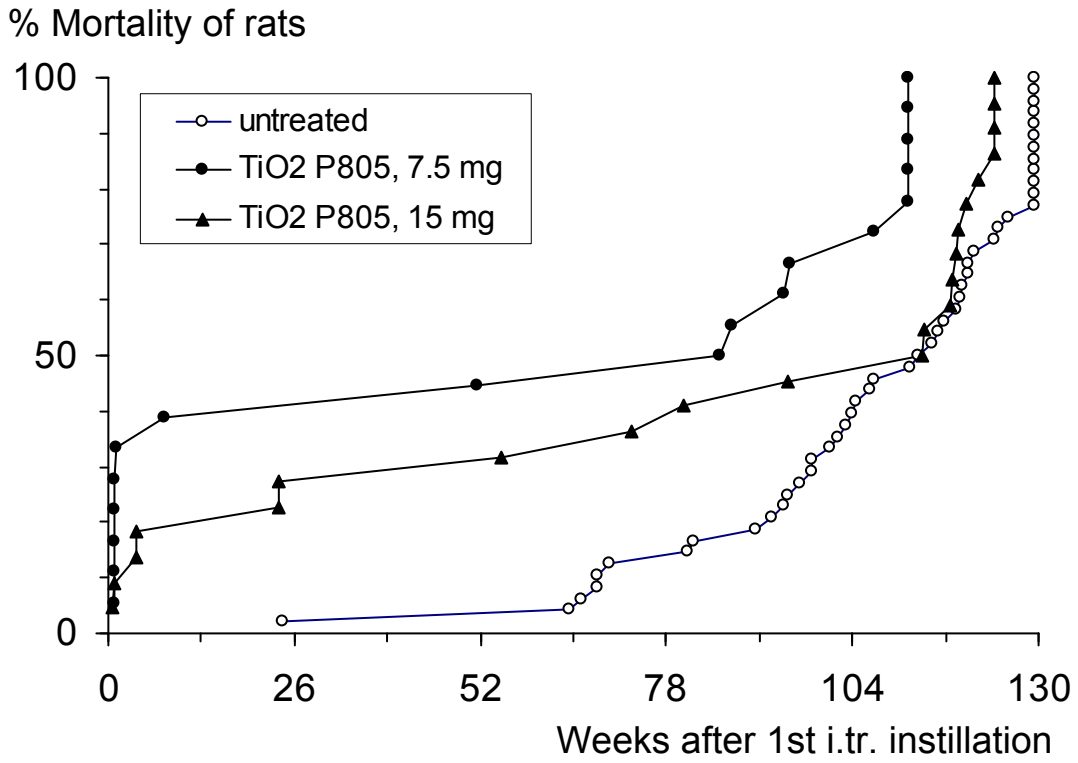


Fig. 8.33 Mortality curves of groups 95/6 K (untreated controls), 95/6 CI and CII (hydrophobic ultrafine titanium dioxide P 805)

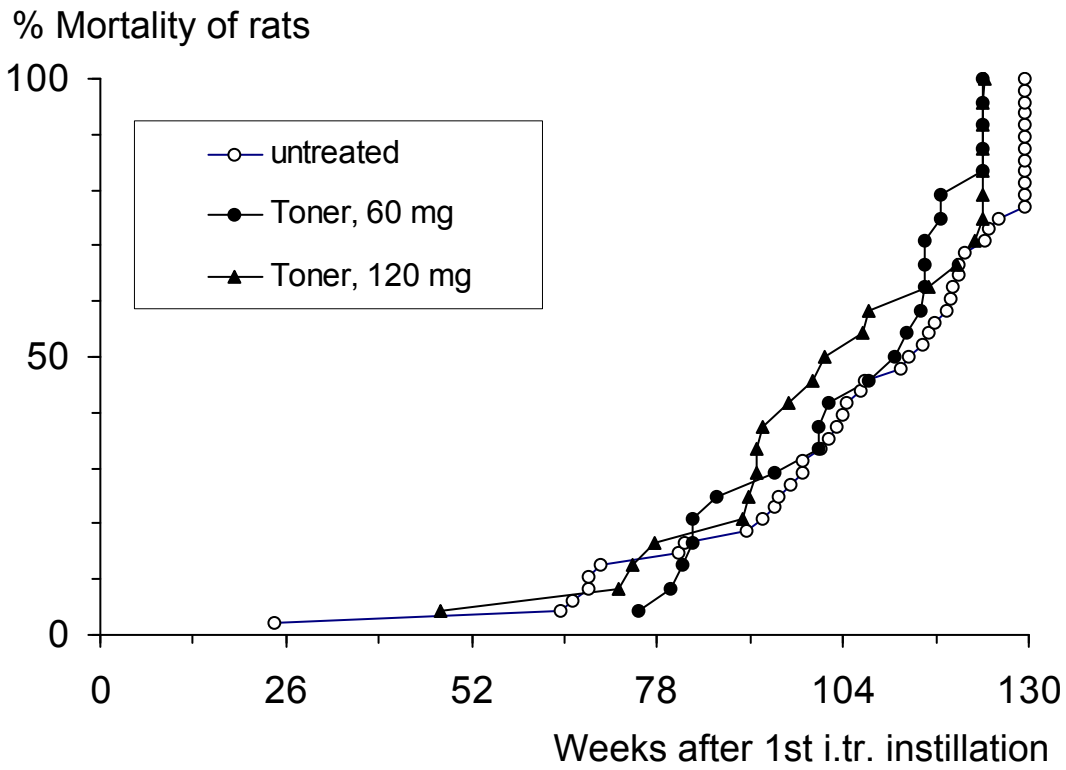


Fig. 8.34 Mortality curves of groups 95/6 K (untreated controls), 95/6 DI and DII (test toner)

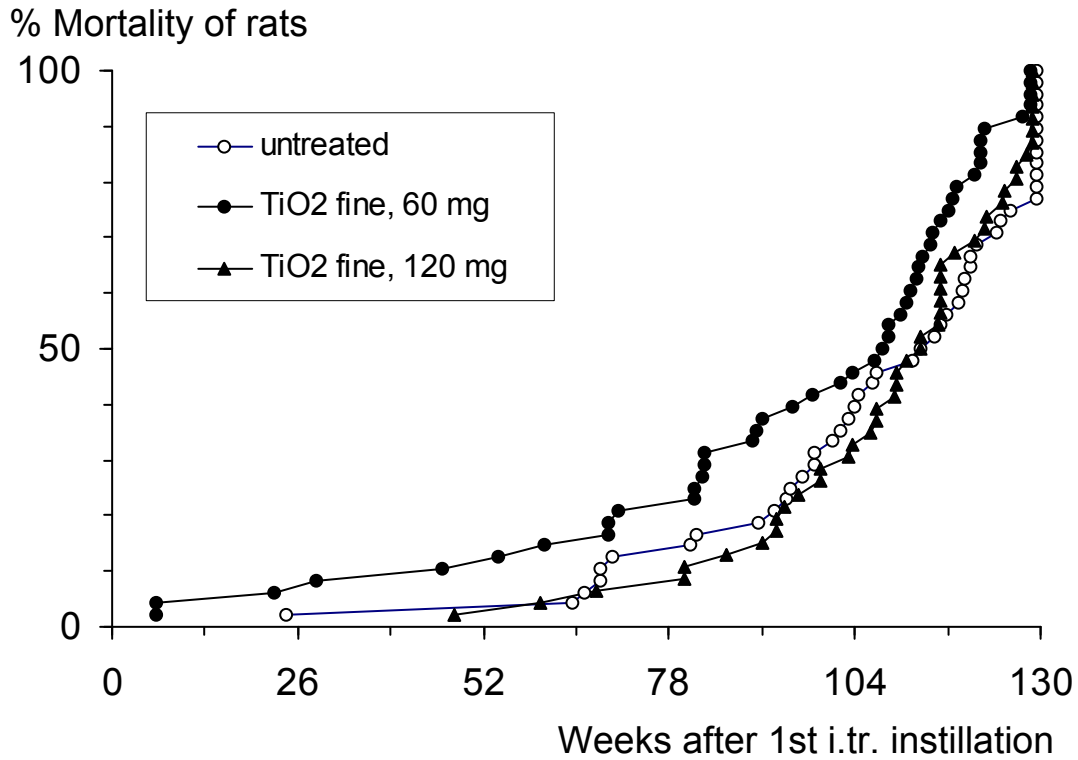


Fig. 8.35 Mortality curves of groups 95/6 K (untreated controls), 95/6 EI and EII (titanium dioxide, fine, Aldrich)

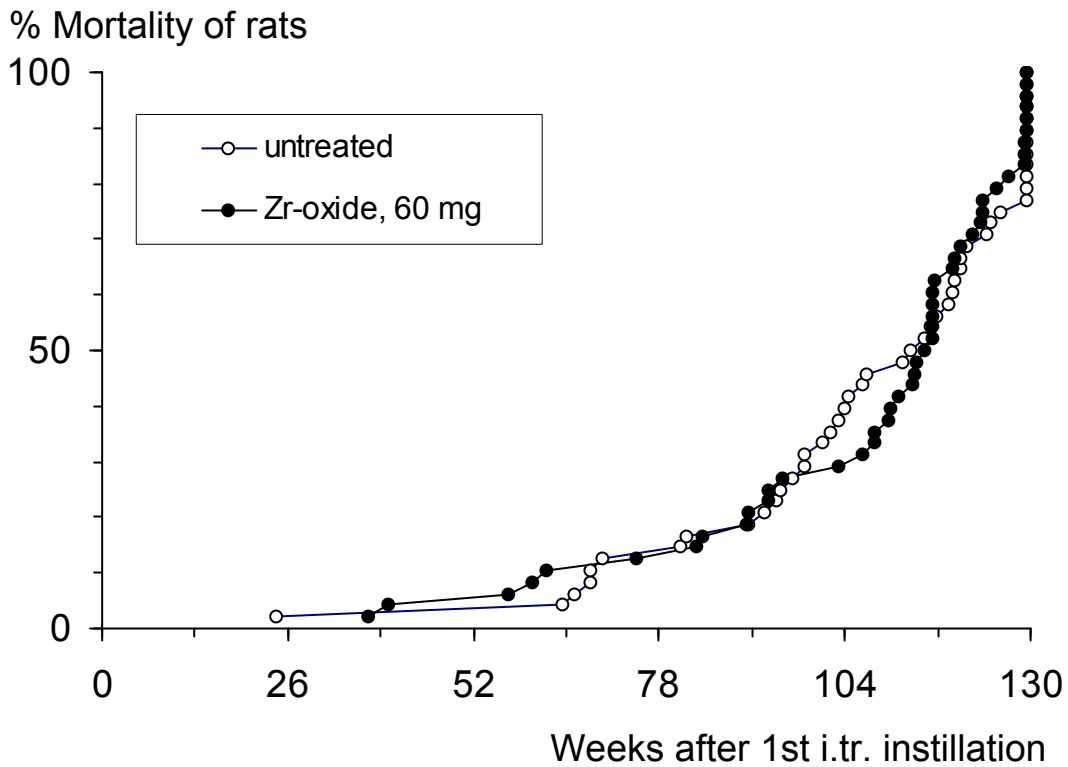


Fig. 8.36 Mortality curves of groups 95/6 K (untreated controls) and 95/6 F (zirconium dioxide)

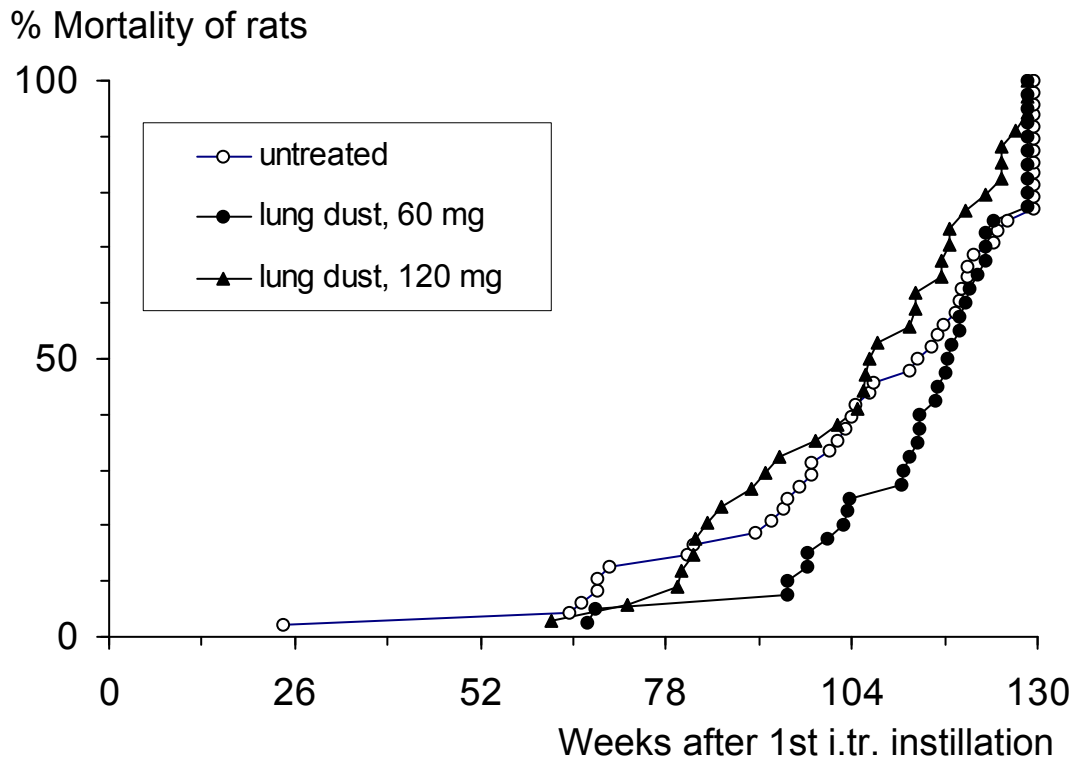


Fig. 8.37 Mortality curves of groups 95/6 K (untreated controls), 95/6 GI and GII (lung dust 336/1)

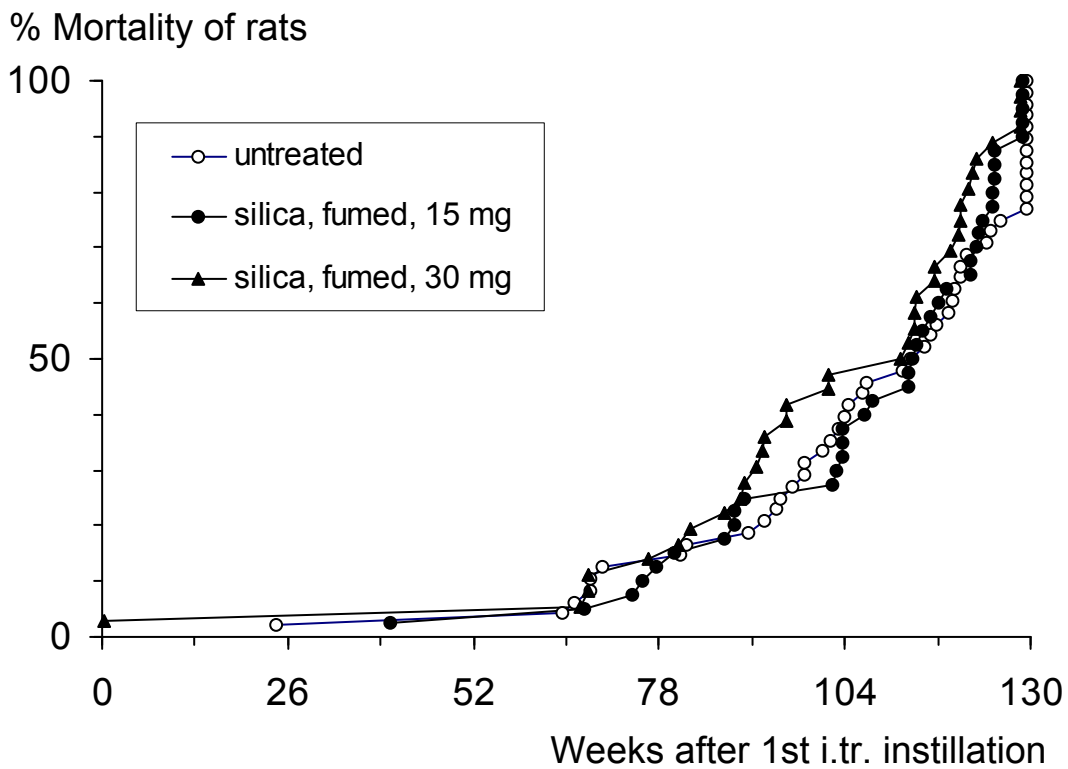


Fig. 8.38 Mortality curves of groups 95/6 K (untreated controls), 95/6 HI and HII (silica, fumed)

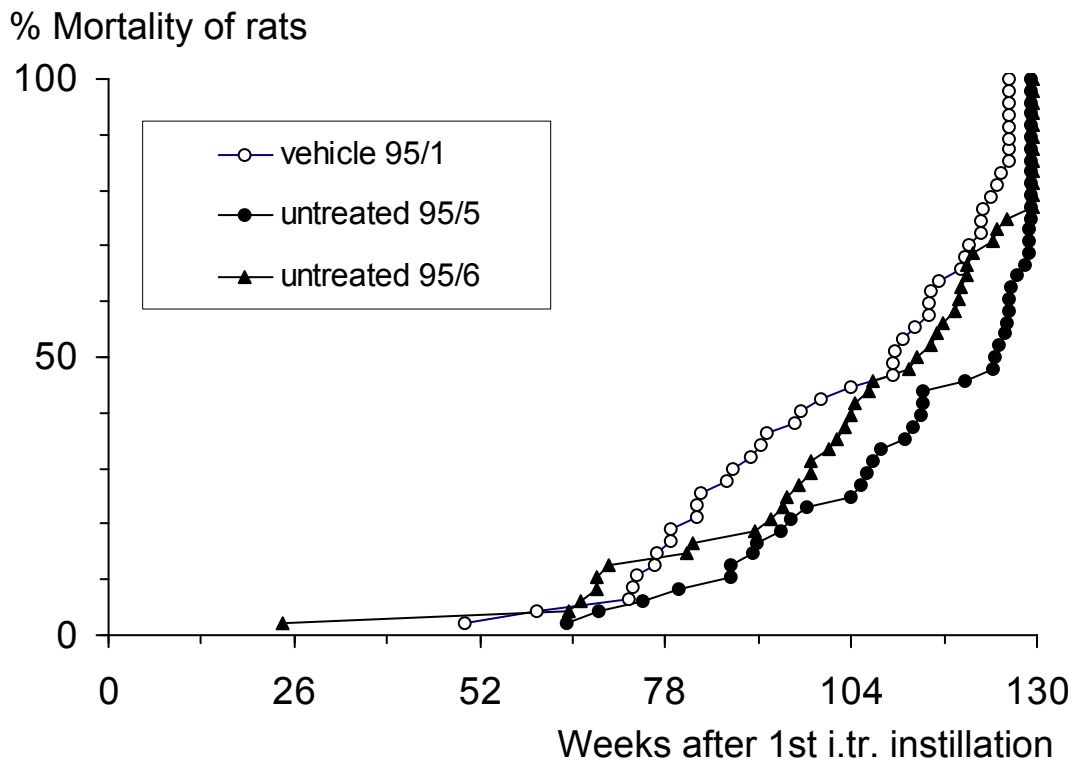


Fig. 8.39 Mortality curves of the control groups 95/1 A (vehicle), 95/5 F (untreated) and 95/6 (untreated)

8.3 **Beispiele von Grunddatenblättern (Examples of basic data sheets with survival time, macroscopic tumour findings, microscopic tumour diagnoses of each rat)**

8.3.1 **Explanations and legends to abbreviations used in basic data sheets**

Before the complete histological tumour diagnoses were available to the authors, a preliminary evaluation based on the macroscopical inspection of the lungs was done for experiments No. 95/5 and 95/6. For comparison, the same criteria were also applied to experiment No. 95/1. The macroscopically found lung tumours were evaluated using three definitions:

macrosc.(1): lung tumour(s) visible (no constraints)

macrosc.(2): lung tumour(s) visible and no tumour of the uterus found

macrosc.(3): lung tumour(s) visible and no suspicion of metastasis (due to size and number of other tumours in abdomen or thorax)

The evaluation of the histological tumour diagnoses of the coal dust study was completed and published in 2003. For the statistical calculations, a computer program of the authors and indicator values explained below were used. For reasons addressed in the main report, the histological tumour diagnoses of the remaining groups were completed later by the same group of pathologists in Hannover. The calculation of rats at risk and rats with tumour of this part of the study was done by the pathologists (Bellmann, B., Ernst, H., Mohr, U.: Final report of the research project F2007 of the Federal Institute of Occupational Safety and Health, BAuA, Dortmund, Germany, 2005). These tumour frequencies were then used for further statistical calculations and it was not considered reasonable to transfer the diagnoses of each rat into the system of indicator numbers of the basic data sheets. The complete set of basic data sheets has been made available to the BAuA. This report exemplarily contains the data sheets for the control group and the highest dose groups of the first part of the study (coal dust study).

Abbreviations used in basic data sheets

abd.:	abdominal	DD:	differential diagnosis
ad.:	adenoma	epi.:	epithelioma
AdCa:	adenocarcinoma	histol.:	histologically
aden.	adenomatous	ker.:	keratinizing
adsq.:	adenosquamous	leiomyoS:	leiomyosarcoma
b:	benign	m:	malignant
br.-alv.:	bronchiolo-alveolar	macrosc.:	macroscopically
ca:	carcinoma	non-k.:	non-keratinizing
CK:	cystic-keratinizing	sqcCa:	squamous cell carcinoma

Legend to "Indicators" in basic data sheets

(For detailed explanation see section 2.4.5 of the main report.)

- 1 time of "natural" death uncertain (e.g. animal died through anaesthesia or was killed for examinations); not included in analysis of tumour incidences and calculation of survival times of the group

(41 animals among 2050 rats at start in the total study, in which about 22,000 instillations with anaesthesia were done. After exclusion of the groups receiving the toxic hydrophobic titanium dioxide: 33 animals among 2002 rats at start)
- 0 time of death certain; animal evaluated; no (primary) lung tumour
- 1 time of death certain; no (primary) lung tumour; rat not included in analysis of tumour incidence due to early death (survival time less than 26 weeks), but included in calculation of survival times of the group

(13 rats in the groups receiving the toxic hydrophobic titanium dioxide; 7 rats among the other 2002 rats)
- 2 time of death certain; presence or absence of (primary) lung tumour uncertain (due to autolysis or cannibalism); rat not included in analysis of tumour incidence (but included in calculation of survival times of the group)

(56 among 2050 rats at start)
- 3 positive (tumour in the sense of the test)
- 4 time of death certain; no primary lung tumour; (malignant) tumour of the uterus (maybe metastases to the lung)
- 5 time of death certain; no (primary) lung tumour; other tumour(s) in abdomen or thorax
- 7 positive (tumour in the sense of the test) plus (independent, malignant) tumour of the uterus
- 8 positive (tumour in the sense of the test) plus other tumour(s) in abdomen or thorax
- 12 positive (tumour in the sense of the test) plus (independent, malignant) tumour of the uterus plus other tumour(s) in abdomen or thorax

8.3.2 Examples of basic data sheets

Starting on the next page, examples of the data sheets are enclosed which contain the basic data like date of death of each animal, survival time, macroscopic tumour findings and microscopic tumour diagnoses (coal dust study only).

95/1 A		Vehicle control			PRIMARY LUNG TUMOURS										Lung metastases		
		20 x 0.4 mL			aden./br.-alv.				squamous cell						(tumour diagnosis or		
Rat No.	Day of death	Survival [weeks]	Indicator	(b)	(m)	(m)	(m)	(b)	(b)	(m)	(m)	(m)	primary localization)				
No.	Day	Mo.	Year	macrosc.(1)	macrosc.(2)	macrosc.(3)	histol.	br.-alv. ad.	AdCa	br.-alv. ca.	adsq. ca	CK epi.	non-ker. epi	CK sqcCa	ker. sqcCa	non-k.sqcCa	
1	17	10	95	15.00	-1	-1	-1	-1	-	-	-	-	-	-	-	-	
2	17	6	96	49.86	4	4	4	4	-	-	-	-	-	-	-	-	abd. leiomyoS
3	26	8	96	59.86	0	0	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	
4	25	11	96	72.86	4	4	4	4	-	-	-	-	-	-	-	-	uterus
5	29	11	96	73.43	0	0	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	
6	3	12	96	74.00	0	0	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	
7	20	12	96	76.43	0	0	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	
8	23	12	96	76.86	0	0	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	
9	6	1	97	78.86	5	5	5	5	-	-	-	-	-	-	-	-	
10	6	1	97	78.86	0	0	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	
11	30	1	97	82.29	4	4	4	4	-	-	-	-	-	-	-	-	
12	31	1	97	82.43	4	4	4	4	-	-	-	-	-	-	-	-	
13	3	2	97	82.86	0	0	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	
14	2	3	97	86.71	5	5	5	5	-	-	-	-	-	-	-	-	
15	6	3	97	87.29	0	0	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	
16	24	3	97	89.86	4	4	4	4	-	-	-	-	-	-	-	-	
17	3	4	97	91.29	4	4	4	4	-	-	-	-	-	-	-	-	
18	10	4	97	92.29	0	0	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	
19	7	5	97	96.14	0	0	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	
20	12	5	97	96.86	4	4	4	0	-	-	-	-	-	-	-	-	
21	2	6	97	99.86	0	0	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	
22	30	6	97	103.86	0	0	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	
23	11	8	97	109.86	5	5	5	5	-	-	-	-	-	-	-	-	salivary gland
24	11	8	97	109.86	8	8	8	5	-	-	-	-	-	-	-	-	
25	13	8	97	110.14	4	4	4	4	-	-	-	-	-	-	-	-	
26	21	8	97	111.29	4	4	4	4	-	-	-	-	-	-	-	-	
27	1	9	97	112.86	0	0	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	
28	15	9	97	114.86	0	0	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	
29	15	9	97	114.86	0	0	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	
30	18	9	97	115.29	8	8	5	5	-	-	-	-	-	-	-	-	lymphoma/leukemia
31	24	9	97	116.14	0	0	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	
32	16	10	97	119.29	7	4	4	4	-	-	-	-	-	-	-	-	uterus
33	20	10	97	119.86	0	0	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	
34	24	10	97	120.43	4	4	4	4	-	-	-	-	-	-	-	-	lymphoma/leukemia
35	6	11	97	122.29	0	0	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	
36	6	11	97	122.29	0	0	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	
37	8	11	97	122.57	4	4	4	4	-	-	-	-	-	-	-	-	
38	14	11	97	123.43	0	0	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	
39	20	11	97	124.29	5	5	5	5	-	-	-	-	-	-	-	-	lymphoma/leukemia
40	24	11	97	124.86	4	4	4	4	-	-	-	-	-	-	-	-	
41	2	12	97	126.00	4	4	4	4	-	-	-	-	-	-	-	-	
42	2	12	97	126.00	0	0	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	
43	3	12	97	126.14	0	0	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	
44	3	12	97	126.14	0	0	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	
45	3	12	97	126.14	5	5	5	5	-	-	-	-	-	-	-	-	
46	3	12	97	126.14	0	0	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	
47	3	12	97	126.14	5	5	5	5	-	-	-	-	-	-	-	-	lymphoma/leukemia
48	3	12	97	126.14	0	0	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	
				Sum:	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
Rats with primary lung tumour(s):					0	/	47	=	0.0	%							

95/1 B II		Lean coal			PRIMARY LUNG TUMOURS										Lung metastases		
		20 x 6 mg			aden./br.-alv.				squamous cell						(tumour diagnosis or		
Rat No.	Day of death	Survival [weeks]	Indicator	(b)	(m)	(m)	(m)	(b)	(b)	(m)	(m)	(m)	primary localization)				
No.	Day	Mo.	Year	macrosc.(1)	macrosc.(2)	macrosc.(3)	histol.	br.-alv. ad.	AdCa	br.-alv. ca.	adsq. ca	CK epi.	non-ker. epi	CK sqcCa	ker. sqcCa	non-k. sqcCa	
1	22	2	96	33.29	0	0	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	20	5	96	45.86	4	4	4	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3	31	5	96	47.43	0	0	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4	8	8	96	57.29	4	4	4	12	-	+	-	-	-	-	-	-	uterus
5	29	8	96	60.29	0	0	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6	23	9	96	63.86	0	0	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-
7	17	10	96	67.29	0	0	0	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-
8	21	10	96	67.86	4	4	4	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-
9	24	10	96	68.29	4	4	4	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10	14	11	96	71.29	4	4	4	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-
11	3	2	97	82.86	4	4	4	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-
12	5	2	97	83.14	0	0	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-
13	5	2	97	83.14	4	4	4	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-
14	19	2	97	85.14	8	8	8	5	-	-	-	-	-	-	-	-	+ (unknown)
15	27	2	97	86.29	4	4	4	7	-	-	+	+	-	+	-	-	-
16	5	3	97	87.14	0	0	0	3	+	-	-	-	-	-	-	-	-
17	20	3	97	89.29	8	8	8	8	-	-	+	+	++	-	++	-	-
18	21	3	97	89.43	3	3	3	8	-	-	+	-	-	-	+	-	+ leukemia/lymphoma
19	15	4	97	93.00	7	4	4	4	-	-	-	-	-	-	-	-	uterus
20	22	4	97	94.00	4	4	4	7	-	-	+	-	-	-	-	-	-
21	28	4	97	94.86	3	3	3	3	-	-	+	-	+	-	+	-	-
22	30	4	97	95.14	0	0	0	3	+	-	+	-	-	-	-	-	-
23	2	6	97	99.86	5	5	5	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-
24	12	6	97	101.29	4	4	4	7	-	-	-	+	-	-	-	-	-
25	23	6	97	102.86	0	0	0	8	++	-	+	-	-	-	-	-	clitoral gland
26	30	6	97	103.86	0	0	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-
27	7	7	97	104.86	0	0	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-
28	11	7	97	105.43	7	4	7	7	-	-	-	-	+	-	+	-	uterus
29	14	7	97	105.86	0	0	0	8	-	-	+	-	-	-	-	-	+ (unknown)
30	29	7	97	108.00	8	8	8	8	+	-	+	-	-	-	++	-	liver
31	6	8	97	109.14	8	8	5	12	-	-	+	-	+	-	++	+	adrenal gland
32	20	8	97	111.14	3	3	3	3	-	-	-	-	-	-	+	-	-
33	21	8	97	111.29	7	4	7	7	-	-	++	-	-	-	-	-	-
34	17	9	97	115.14	8	8	8	8	-	-	+	-	+	-	-	-	-
35	23	9	97	116.00	3	3	3	3	-	-	++	-	+	-	-	-	-
36	24	9	97	116.14	3	3	3	3	-	-	++	-	-	-	+	-	-
37	27	9	97	116.57	0	0	0	3	++	-	+	-	-	-	-	-	-
38	2	10	97	117.29	3	3	3	3	+	-	-	-	-	-	-	++	-
39	14	10	97	119.00	3	3	3	3	-	-	++	-	-	-	-	-	-
40	27	10	97	120.86	3	3	3	8	-	-	++	-	+	-	-	-	histiocyt. sarcoma
41	6	11	97	122.29	0	0	0	3	-	-	++	-	+	-	-	-	-
42	10	11	97	122.86	0	0	0	3	-	-	++	-	-	-	-	-	-
43	10	11	97	122.86	8	8	8	8	-	-	++	-	++	-	-	+	-
44	2	12	97	126.00	3	3	3	3	-	-	++	-	-	-	-	-	-
45	2	12	97	126.00	3	3	3	3	-	-	++	-	-	-	++	-	-
46	2	12	97	126.00	7	4	7	7	-	-	+	-	+	-	-	-	-
47	2	12	97	126.00	8	8	8	8	-	-	++	-	+	-	-	-	-
48	2	12	97	126.00	0	0	0	3	-	-	++	+	-	+	-	-	-
				Sum:	6	1	25	3	12	1	10	3	1				
Rats with primary lung tumour(s):					31	/	48	=	64.6	%							

95/1 C II		Steam coal 20 x 6 mg			PRIMARY LUNG TUMOURS										Lung metastases (tumour diagnosis or primary localization)	
Rat No.	Day of death Day Mo. Year	Survival [weeks]	Indicator				aden./br.-alv.		squamous cell							
			macrosc.(1)	macrosc.(2)	macrosc.(3)	histol.	(b)	(m)	(m)	(m)	(b)	(b)	(m)	(m)	(m)	
							br.-alv. ad.	AdCa	br.-alv. ca.	adsq. ca	CK epi.	non-ker. epi	CK sqcCa	ker. sqcCa	non-k.sqcCa	
1	12 10 95	14.29	-1	-1	-1	-1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
2	16 11 95	19.29	-1	-1	-1	-1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
3	28 8 96	60.14	0	0	0	3	+	-	-	-	-	-	-	-	-	
4	19 9 96	63.29	0	0	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
5	23 9 96	63.86	4	4	4	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
6	28 9 96	64.57	2	2	2	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
7	10 10 96	66.29	7	4	4	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	uterus
8	21 10 96	67.86	4	4	4	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	uterus
9	4 11 96	69.86	0	0	0	3	-	-	-	-	-	-	-	-	+	
10	25 11 96	72.86	3	3	3	3	-	-	-	-	+	-	-	-	-	
11	16 12 96	75.86	7	4	7	7	-	-	-	-	+	-	-	-	-	
12	7 1 97	79.00	7	4	4	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	uterus
13	21 1 97	81.00	0	0	0	3	-	-	+	-	-	-	-	-	-	
14	11 2 97	84.00	0	0	0	3	-	-	-	-	++	-	-	-	-	
15	15 2 97	84.57	8	8	8	8	-	-	-	-	-	-	-	+	-	
16	2 3 97	86.71	4	4	4	7	+	-	-	-	+	-	-	-	-	
17	13 3 97	88.29	0	0	0	3	-	-	+	-	-	-	-	-	-	
18	3 4 97	91.29	8	8	8	8	-	-	-	-	-	-	+	-	-	
19	9 4 97	92.14	8	8	8	8	-	-	-	-	+	-	++	-	-	
20	10 4 97	92.29	3	3	3	3	-	-	-	-	+	-	-	-	-	
21	10 4 97	92.29	8	8	8	3	-	-	-	-	-	-	++	-	-	
22	15 4 97	93.00	4	4	4	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
23	22 4 97	94.00	3	3	3	3	-	-	-	-	-	-	-	+	-	
24	22 4 97	94.00	7	4	4	7	-	-	+	-	-	-	-	-	-	
25	30 4 97	95.14	0	0	0	3	+	-	-	-	+	-	-	-	-	
26	2 6 97	99.86	4	4	4	7	-	-	+	-	-	-	-	-	-	
27	9 6 97	100.86	4	4	4	7	-	-	+	-	-	-	-	-	-	
28	14 7 97	105.86	3	3	3	3	-	-	++	-	+	-	-	-	-	
29	24 7 97	107.29	3	3	3	3	-	-	++	-	+	-	++	-	-	
30	23 8 97	111.57	8	8	8	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	uterus
31	13 9 97	114.57	8	8	8	8	-	-	++	-	-	-	++	+	-	
32	19 9 97	115.43	8	8	8	8	+	-	-	-	++	-	-	++	-	
33	22 9 97	115.86	7	4	4	7	-	-	-	-	-	-	++	-	-	
34	6 10 97	117.86	4	4	4	7	-	-	-	-	-	-	-	-	+	
35	16 10 97	119.29	0	0	0	3	+	-	-	-	-	-	-	-	-	
36	23 10 97	120.29	3	3	3	3	-	-	++	-	++	-	-	-	-	
37	29 10 97	121.14	0	0	0	3	-	-	+	-	-	-	-	-	-	
38	4 11 97	122.00	8	8	8	8	-	-	+	-	-	-	-	+	-	
39	4 11 97	122.00	8	8	8	8	-	-	+	-	++	-	-	-	-	
40	6 11 97	122.29	8	8	8	8	-	-	++	-	+	-	-	-	+	
41	3 12 97	126.14	8	8	8	8	-	-	++	-	++	-	-	-	-	
42	3 12 97	126.14	3	3	3	3	-	-	++	-	-	-	-	-	-	
43	3 12 97	126.14	3	3	3	3	-	-	++	-	+	-	+	-	-	
44	3 12 97	126.14	3	3	3	3	-	-	+	-	++	-	-	-	-	
45	3 12 97	126.14	0	0	0	3	-	-	++	-	-	-	-	-	-	
46	3 12 97	126.14	3	3	3	3	-	-	-	-	-	-	-	-	++	
47	3 12 97	126.14	8	8	8	8	+	-	+	-	+	-	-	-	-	
48	3 12 97	126.14	3	3	3	3	-	-	++	-	++	-	++	-	-	
						Sum:	6	0	20	0	18	0	8	5	4	
Rats with primary lung tumour(s):							38	/	45	=	84.4	%				

95/1 D II		Rich coal 20 x 6 mg			PRIMARY LUNG TUMOURS										Lung metastases (tumour diagnosis or primary localization)		
Rat No.	Day of death Day Mo. Year	Survival [weeks]	Indicator				aden./br.-alv.		squamous cell								
			macrosc.(1)	macrosc.(2)	macrosc.(3)	histol.	(b)	(m)	(m)	(m)	(b)	(b)	(m)	(m)	(m)		
							br.-alv. ad.	AdCa	br.-alv. ca.	adsq. ca	CK epi.	non-ker. epi	CK sqcCa	ker. sqcCa	non-k.sqcCa		
1	26 9 95	11.86	-1	-1	-1	-1	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
2	26 9 95	11.86	-1	-1	-1	-1	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
3	25 4 96	42.14	4	4	4	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	uterus	
4	1 7 96	51.71	0	0	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
5	25 7 96	55.14	0	0	0	3	-	-	+	-	-	-	-	-	-		
6	7 8 96	57.00	4	4	4	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	uterus	
7	10 10 96	66.14	4	4	4	7	-	-	-	-	++	-	-	-	-	uterus	
8	8 12 96	74.57	2	2	2	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
9	18 12 96	76.00	5	5	5	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
10	23 12 96	76.71	0	0	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
11	2 1 97	78.14	0	0	0	3	-	-	-	-	+	-	-	-	-		
12	2 1 97	78.14	4	4	4	7	+	-	-	-	-	-	-	-	-		
13	12 1 97	79.57	5	5	5	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	thorax (unclassifiable)	
14	14 1 97	79.86	0	0	0	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
15	29 1 97	82.00	3	3	3	3	-	-	-	-	++	-	++	-	-		
16	1 3 97	86.43	7	4	4	8	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+ (unknown)	
17	17 3 97	88.71	4	4	4	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
18	21 4 97	93.71	8	8	8	3	-	-	-	-	-	-	-	+	-		
19	24 4 97	94.14	3	3	3	3	-	-	-	-	+	-	++	++	-		
20	28 4 97	94.71	0	0	0	3	-	-	++	-	-	-	-	-	-		
21	28 4 97	94.71	3	3	3	3	++	-	-	-	+	-	-	-	-		
22	29 4 97	94.86	3	3	3	3	-	-	-	-	-	-	-	+	-		
23	30 4 97	95.00	4	4	4	12	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+ (unknown)	
24	11 5 97	96.57	3	3	3	3	-	-	++	-	-	-	-	+	-		
25	28 5 97	99.00	3	3	3	3	-	-	-	-	-	-	-	-	+		
26	5 6 97	100.14	4	4	4	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
27	17 6 97	101.86	7	4	4	7	-	-	-	-	+	-	-	-	-	uterus	
28	20 6 97	102.29	7	4	7	7	-	-	-	-	+	-	+	-	-	uterus	
29	20 6 97	102.29	3	3	3	3	-	-	++	-	++	-	++	-	-		
30	7 7 97	104.71	7	4	4	7	-	-	-	-	+	-	-	-	-		
31	21 7 97	106.71	8	8	8	8	-	-	-	-	-	-	-	-	+	thorax	
32	11 8 97	109.71	0	0	0	3	+	-	+	-	+	-	-	-	-		
33	13 8 97	110.00	7	4	4	7	-	-	+	+	++	-	-	-	-		
34	29 8 97	112.29	3	3	3	3	-	-	++	-	-	-	-	-	-		
35	16 9 97	114.86	3	3	3	3	-	-	+	-	++	-	-	-	-		
36	17 10 97	119.29	7	4	4	7	-	-	-	-	+	-	-	-	-	uterus	
37	28 10 97	120.86	3	3	3	3	-	-	++	-	+	-	-	+	-		
38	3 11 97	121.71	0	0	0	3	+	-	-	-	-	-	-	-	-		
39	3 11 97	121.71	7	4	7	7	-	-	++	-	-	-	-	+	-		
40	25 11 97	124.86	8	8	8	8	+	-	+	-	-	-	+	-	+		
41	27 11 97	125.14	3	3	3	3	+	-	+	-	-	-	-	-	-		
42	3 12 97	126.00	7	4	4	7	-	-	+	-	++	-	-	++	-	uterus	
43	3 12 97	126.00	7	4	7	7	-	-	++	-	-	-	+	-	+		
44	3 12 97	126.00	0	0	0	3	-	-	++	-	-	-	-	-	-		
45	3 12 97	126.00	3	3	3	3	-	-	++	-	+	-	++	-	-		
46	3 12 97	126.00	8	8	8	8	+	-	-	-	-	-	+	+	-		
47	3 12 97	126.00	3	3	3	3	-	-	++	-	-	-	-	-	-		
48	3 12 97	126.00	0	0	0	3	++	-	++	-	-	-	-	-	-		
			Sum:					9	0	18	1	17	0	8	8	4	
Rats with primary lung tumour(s):							36	/	45	=	80.0	%					

95/1 E II		Lower rich coal 20 x 6 mg			PRIMARY LUNG TUMOURS										Lung metastases (tumour diagnosis or primary localization)				
Rat No.	Day of death	Survival [weeks]	Indicator	aden./br.-alv.	aden./br.-alv.	aden./br.-alv.	aden./br.-alv.	aden./br.-alv.	aden./br.-alv.	aden./br.-alv.	aden./br.-alv.	aden./br.-alv.	aden./br.-alv.	aden./br.-alv.	aden./br.-alv.	aden./br.-alv.	aden./br.-alv.	aden./br.-alv.	
No.	Day	Mo.	Year	[weeks]	(b)	(m)	(m)	(m)	(b)	(b)	(m)	(m)	(m)	(m)	(m)	(m)	(m)	(m)	
					br.-alv. ad.	AdCa	br.-alv. ca.	adsq. ca	CK epi.	non-ker. epi	CK sqcCa	ker. sqcCa	non-k. sqcCa						
1	6	7	95	0.14	-1	-1	-1	-1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
2	15	11	95	19.00	-1	-1	-1	-1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
3	16	11	95	19.14	-1	-1	-1	-1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
4	25	1	96	29.14	0	0	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
5	22	7	96	54.71	2	2	2	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
6	1	8	96	56.14	0	0	0	3	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	
7	20	10	96	67.57	3	3	3	3	-	-	+	-	-	-	++	-	-	-	
8	11	11	96	70.71	7	4	4	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	uterus	
9	14	11	96	71.14	7	4	7	7	-	-	+	-	-	-	++	-	-	-	
10	21	11	96	72.14	0	0	0	3	-	-	++	-	-	-	-	-	-	-	
11	21	11	96	72.14	3	3	3	3	-	-	++	-	-	-	+	-	-	-	
12	12	12	96	75.14	0	0	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
13	14	1	97	79.86	0	0	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
14	29	1	97	82.00	0	0	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
15	2	4	97	91.00	8	8	8	3	-	-	-	-	-	-	++	+	-	-	
16	11	4	97	92.29	8	8	8	3	-	-	++	-	+	-	+	-	-	-	
17	11	4	97	92.29	0	0	0	8	-	-	++	-	-	-	-	-	-	-	
18	15	4	97	92.86	5	5	5	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
19	18	4	97	93.29	5	5	5	8	-	-	++	-	-	-	-	-	-	-	
20	30	4	97	95.00	0	0	0	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	
21	30	4	97	95.00	0	0	0	3	-	-	++	+	-	-	-	-	-	++	
22	22	5	97	98.14	3	3	3	8	-	-	-	+	-	-	-	-	-	leukemia/lymphoma	
23	5	6	97	100.14	3	3	3	3	-	-	++	-	++	-	-	-	-	-	
24	9	6	97	100.71	0	0	0	3	+	-	++	-	-	-	-	-	-	-	
25	6	7	97	104.57	7	4	4	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	uterus	
26	14	7	97	105.71	3	3	3	8	-	-	+	-	++	-	-	-	-	histiocy. sarcoma	
27	5	8	97	108.86	3	3	3	3	-	-	-	++	+	-	-	-	-	-	
28	5	8	97	108.86	3	3	3	3	-	-	-	-	-	-	++	-	-	-	
29	6	8	97	109.00	7	4	4	7	-	-	-	-	+	-	-	-	-	uterus	
30	14	8	97	110.14	3	3	3	3	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	
31	29	8	97	112.29	8	8	8	8	+	-	++	-	++	-	-	-	-	-	
32	8	9	97	113.71	3	3	3	3	-	-	++	-	-	-	-	-	-	-	
33	22	9	97	115.71	8	8	5	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
34	25	9	97	116.14	0	0	0	3	-	-	++	-	-	-	-	-	-	-	
35	16	10	97	119.14	8	8	8	8	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	
36	16	10	97	119.14	7	4	7	7	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	
37	28	10	97	120.86	3	3	3	3	-	-	-	-	++	-	++	-	+	-	
38	3	11	97	121.71	8	8	8	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	uterus	
39	4	11	97	121.86	7	4	7	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
40	10	11	97	122.71	3	3	3	3	-	-	++	-	+	-	++	+	-	-	
41	10	11	97	122.71	3	3	3	3	-	-	++	-	-	-	+	-	-	-	
42	10	11	97	122.71	3	3	3	3	-	-	++	-	-	-	-	-	-	-	
43	22	11	97	124.43	8	8	8	8	-	-	++	-	+	-	-	-	-	-	
44	25	11	97	124.86	3	3	3	3	-	-	++	-	+	-	-	+	-	-	
45	4	12	97	126.14	3	3	3	3	-	-	++	-	+	-	-	-	++	-	
46	4	12	97	126.14	8	8	8	8	-	-	++	-	++	-	-	-	-	-	
47	4	12	97	126.14	3	3	3	3	-	-	++	-	++	-	-	-	-	-	
48	4	12	97	126.14	3	3	3	3	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	
									Sum:	3	0	23	3	14	1	12	4	4	
Rats with primary lung tumour(s):										34	/	44	=	77.3	%				

95/1 F II		Rock dust 20 x 6 mg			PRIMARY LUNG TUMOURS										Lung metastases (tumour diagnosis or primary localization)			
Rat No.	Day of death	Survival [weeks]	Indicator	(b)	(m)	(m)	(m)	(b)	(b)	(m)	(m)	(m)	(m)					
No.	Day	Mo.	Year	macrosc.(1)	macrosc.(2)	macrosc.(3)	histol.	br.-alv. ad.	AdCa	br.-alv. ca.	adsq. ca	CK epi.	non-ker. epi	CK sqcCa	ker. sqcCa	non-k. sqcCa		
1	31	1	96	29.86	2	2	2	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
2	6	5	96	43.57	2	2	2	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
3	26	6	96	50.86	0	0	0	4	-	-	?	-	-	-	-	-	DD: primary in uterus	
4	1	8	96	56.00	4	4	4	4	-	-	-	-	-	-	-	-	uterus	
5	16	9	96	62.57	2	2	2	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
6	7	10	96	65.57	4	4	4	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
7	16	10	96	66.86	4	4	4	7	-	-	++	-	-	-	-	-	-	
8	21	10	96	67.57	4	4	4	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
9	21	10	96	67.57	4	4	4	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
10	19	12	96	76.00	0	0	0	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
11	29	12	96	77.43	4	4	4	4	-	-	-	-	-	-	-	-	uterus	
12	2	1	97	78.00	7	4	4	7	-	-	-	++	-	+	-	-	-	
13	22	1	97	80.86	4	4	4	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
14	2	2	97	82.43	0	0	0	3	-	-	+	-	-	-	+	-	-	
15	11	2	97	83.71	0	0	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
16	2	3	97	86.43	5	5	5	4	-	-	-	-	-	-	-	-	uterus	
17	26	3	97	89.86	8	8	8	7	-	-	-	-	-	-	++	-	-	
18	18	4	97	93.14	3	3	3	3	-	-	-	-	-	-	+	-	-	
19	28	4	97	94.57	0	0	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
20	28	4	97	94.57	4	4	4	4	-	-	-	-	-	-	-	-	uterus	
21	10	5	97	96.29	4	4	4	7	++	-	+	-	-	-	-	-	-	
22	17	6	97	101.71	7	4	7	3	-	-	+	-	-	++	-	-	-	
23	23	6	97	102.57	7	4	4	7	-	-	-	+	-	-	-	-	-	
24	11	7	97	105.14	4	4	4	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
25	11	7	97	105.14	0	0	0	3	-	-	+	-	-	-	-	-	-	
26	28	7	97	107.57	7	4	7	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
27	11	8	97	109.57	7	4	7	7	-	-	+	-	-	-	-	-	-	
28	18	8	97	110.57	3	3	3	8	-	-	-	-	-	+	-	-	-	
29	24	8	97	111.43	3	3	3	3	-	-	-	-	-	-	-	+	-	
30	26	8	97	111.71	3	3	3	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
31	8	9	97	113.57	4	4	4	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
32	18	9	97	115.00	3	3	3	3	-	-	++	-	++	-	-	-	-	
33	21	9	97	115.43	8	8	8	8	-	-	-	-	-	-	+	-	-	
34	22	9	97	115.57	7	4	4	7	-	-	-	-	-	-	++	-	-	
35	25	9	97	116.00	3	3	3	3	+	-	-	-	-	-	++	-	-	
36	28	9	97	116.43	4	4	4	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
37	30	9	97	116.71	0	0	0	3	-	-	-	-	+	-	-	-	-	
38	2	10	97	117.00	3	3	3	3	-	-	-	-	-	+	-	-	-	
39	26	10	97	120.43	3	3	3	3	-	-	-	+	-	-	-	-	-	
40	30	10	97	121.00	4	4	4	4	-	-	-	-	-	-	-	-	uterus	
41	3	11	97	121.57	0	0	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
42	4	11	97	121.71	3	3	3	3	-	-	++	-	+	-	-	-	-	
43	23	11	97	124.43	8	8	8	8	+	-	-	-	-	-	-	-	-	
44	4	12	97	126.00	3	3	3	3	++	-	-	-	-	-	-	+	-	
45	4	12	97	126.00	0	0	0	3	-	-	++	-	-	-	-	-	-	
46	4	12	97	126.00	0	0	0	3	-	-	++	-	-	-	-	-	-	
47	4	12	97	126.00	8	8	8	8	-	-	++	-	++	-	+	-	-	
48	4	12	97	126.00	5	5	5	8	+	-	-	-	-	-	-	-	lymphoma/leukemia	
					Sum:				5	0	11	0	6	1	5	6	2	
Rats with primary lung tumour(s):									26	/	45	=	57.8	%				

95/1 G III		Quartz			PRIMARY LUNG TUMOURS										Lung metastases			
		10 x 2 mg			aden./br.-alv.				squamous cell				(tumour diagnosis or primary localization)					
Rat No.	Day of death	Survival [weeks]	Indicator	(b)	(m)	(m)	(m)	(b)	(b)	(m)	(m)	(m)						
No.	Day	Mo.	Year	macrosc.(1)	macrosc.(2)	macrosc.(3)	histol.	br.-alv. ad.	AdCa	br.-alv. ca.	adsq. ca	CK epi.	non-ker. epi	CK sqcCa	ker. sqcCa	non-k.sqcCa		
1	24	8	95	7.00	-1	-1	-1	-1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
2	10	4	96	39.86	4	4	4	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	abd. sarcoma
3	26	8	96	59.57	0	0	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
4	7	10	96	65.57	5	5	5	8	-	-	-	-	+	-	-	-	-	
5	17	10	96	67.00	4	4	4	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
6	18	11	96	71.57	4	4	4	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
7	9	12	96	74.57	7	4	7	7	-	-	-	-	++	-	-	-	-	
8	20	12	96	76.14	0	0	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
9	21	1	97	80.71	3	3	3	3	-	-	+	-	++	-	+	-	-	
10	22	1	97	80.86	7	4	4	7	-	-	-	-	+	-	-	-	-	uterus
11	20	2	97	85.00	3	3	3	3	-	-	++	-	+	-	-	-	-	
12	14	3	97	88.14	3	3	3	3	-	-	+	-	++	-	-	-	-	
13	14	4	97	92.57	3	3	3	3	-	-	+	-	+	-	++	-	-	
14	15	4	97	92.71	0	0	0	3	-	-	-	-	-	-	-	+	-	
15	18	4	97	93.14	5	5	5	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
16	22	4	97	93.71	8	8	8	8	-	-	+	-	++	-	-	-	-	
17	26	5	97	98.57	3	3	3	3	-	-	-	-	++	-	+	+	-	
18	27	5	97	98.71	3	3	3	3	-	-	+	-	+	-	-	-	-	
19	5	6	97	100.00	3	3	3	3	-	-	-	-	++	-	-	-	-	
20	5	6	97	100.00	8	8	8	8	-	-	+	-	++	-	-	-	-	
21	5	6	97	100.00	0	0	0	3	+	-	+	-	-	-	-	-	-	
22	5	6	97	100.00	5	5	5	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
23	9	6	97	100.57	3	3	3	3	-	-	+	-	++	-	-	-	-	
24	12	6	97	101.00	8	8	8	8	-	-	-	-	+	-	-	-	-	
25	20	6	97	102.14	3	3	3	3	+	-	-	-	++	-	-	-	-	
26	20	6	97	102.14	4	4	4	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
27	8	7	97	104.71	3	3	3	3	-	-	-	-	++	-	-	-	-	
28	28	7	97	107.57	3	3	3	3	+	-	-	-	+	-	+	-	-	
29	4	8	97	108.57	3	3	3	3	-	-	-	-	+	-	-	+	-	
30	18	8	97	110.57	7	4	7	7	-	-	-	-	-	-	-	+	-	
31	21	8	97	111.00	8	8	8	8	-	-	+	-	+	-	+	-	-	
32	26	8	97	111.71	3	3	3	3	-	-	-	-	++	-	++	-	-	
33	15	9	97	114.57	3	3	3	3	-	-	++	-	++	-	-	-	-	
34	19	10	97	119.43	3	3	3	3	-	-	+	-	-	-	-	-	-	
35	3	11	97	121.57	0	0	0	-1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
36	24	11	97	124.57	3	3	3	3	+	-	++	-	+	-	+	-	-	
37	25	11	97	124.71	7	4	7	7	+	-	++	-	++	-	-	-	-	
38	25	11	97	124.71	8	8	8	8	+	-	-	-	+	-	-	-	-	

Sum: 6 0 14 0 24 0 7 4 0

Rats with primary lung tumour(s): 28 / 36 = 77.8 %

8.4 Daten nach intratrachealer Instillation verschiedener Dosen von Quarz DQ12 in Rattenlungen: Quarzretention, Lungen-Frischgewichte und Hydroxyprolinegehalte

Tabellen und Abbildungen beginnend auf der nächsten Seite

Tab. 8.3 SiO₂- und Hydroxyprolingehalt in Rattenlungen^a zu verschiedenen Zeiten nach intratrachealer (i.tr.) Instillation einer Quarzstaub- oder Mischstaubsuspension. Bei den Daten handelt es sich um Vergleichsgruppen aus Versuchen in den Jahren 1968-69 zur Prüfung der antisilikogenen Wirkung von Poly-2-vinylpyridin-N-oxid und anderen polymeren Schutzstoffen (Brockhaus, 1970, 1971) in unterschiedlicher Dosierung und Verabreichungsart (größter Teil von A. Brockhaus, W. Dehnen, F. Pott; 1968/1969; unveröff.), kleiner Teil veröffentlicht (Pott et al., 1970b)

Versuchs- gruppe	Quarzstaub ^b u.a. angegebene i.tr. [mg]	SiO ₂ / Lunge ^c		Zeit nach instill. [Wo]	Lungengewicht ^d		Hydroxyprolin / Lunge [mg] ^e		
		Mittelw. [mg]	% d. inst. Dosis		feucht Mittelwert [g]	trocken Mittelwert [g]	Mittelwert	95% -Vertr. bereich	
Unbehandelt	0	-	-						
68/96 F	1	0,48	48	12	0,94	-	2,63	2,14 - 3,12	
68/124 G	2	1,12	56	4	1,81	-	3,48	3,18 - 3,78	
68/124 G	2	0,99	50	12	2,07	0,40	3,02	2,50 - 3,54	
69/20 CI	2	0,39	20	63	2,35	0,42	5,48	4,45 - 6,50	
68/124 F	5	2,34	47	4	5,11	-	17,1	11,3 - 22,9	
68/124 F	5	2,17	43	4	2,23	0,48	3,28	2,97 - 3,59	
69/13 AI	12,5	5,86	47	12	3,16	0,60	6,39	4,76 - 8,03	
69/64 DI	12,5	5,08	41	13	3,88	-	7,03	6,05 - 8,01	
69/120 AI	12,5	6,05	48	20	4,8	-	11,8	10,2 - 13,4	
69/50 A	25	12,8	51	12	4,0	-	7,52	6,58 - 8,45	
69/50 C	25	10,3	41	4	4,2	-	7,4	6,38 - 8,45	
69/52 EI	30	14,5	48	26	6,5	-	21,1	16,0 - 26,3	
69/52 A	30	14,5	48	8	5,07	-	13,0	11,1 - 15,0	
69/52 A	30	12,4	41	16	5,59	-	17,6	15,2 - 20,0	
69/52 A	30	9,45	32	24	5,61	-	23,6	20,3 - 27,0	
68/124 A	40	17,8	45	40	6,20	-	25,6	20,9 - 30,3	
68/124 A	40	15,4	39	4	4,57	0,94	10,0	8,61 - 11,0	
68/96 B	40	22,0	55	12	5,88	1,26	22,4	16,0 - 28,9	
68/96 B	40	15,5	39	4	4,59	0,56	12,0	9,73 - 14,2	
68/96 B	40	15,5	39	12	6,00	1,42	20,7	16,9 - 24,4	

Tab. 8.3 Fortsetzung

Versuchs- gruppe	Quarzstaub ^b u.a. angegebene i.tr. [mg]	SiO ₂ / Lunge ^c		Zeit nach Instill. [Wo]	Lungengewicht ^d Mittelwert [g]		Hydroxyprolin / Lunge [mg] ^e	
		Mittelw. [mg]	% d. inst. Dosis		feucht	trocken	Mittelwert	95% -Vertr. bereich
69/10 A	40	25,8	65	4	5,3	-	14,8	12,4 - 17,2
69/10 A	40	19,3	48	12	6,2	-	22,0	18,6 - 35,4
69/10 A	40	17,1	43	24	6,3	-	28,7	24,0 - 33,5
69/100 B	40	23,6	59	4	4,8	-	12,9	11,6 - 14,1
69/100 B	40	17,4	44	12	5,25	-	18,6	15,5 - 21,7
69/100 B	40	14,0	35	20	5,92	-	22,1	18,0 - 26,3
69/58 G	40	24,4	61	4	5,25	-	11,6	9,47 - 13,6
69/58 N	45	25,8	57	4	5,52	-	15,0	12,5 - 17,5
69/53 A	50	19,2	38	26	6,8	-	34,2	30,5 - 37,9
69/53 A	50	18,6	37	30	9,2	-	54,4	37,7 - 71,2
69/53 A	50	17,7	35	39	7,6	-	36,5	30,6 - 42,4
69/69 A	50	22,0	44	12	6,6	-	23,6	19,7 - 27,4
69/87 C	50	16,8	34	48	8,23	-	51,2	42,6 - 59,8
69/75 A	50	25,0	50	4	5,9	-	15,9	12,7 - 19,1
69/75 A	50	26,7	53	12	7,0	-	34,2	26,1 - 42,3
68/96 A	60	24,9	42	4	6,98	0,91	22,5	19,2 - 25,8
68/96 A	60	19,1	32	12	8,41	2,04	38,8	32,3 - 45,2
68/124 C	Kohle ^f	0,34	-	4	1,73	0,35	3,26	2,96 - 3,55
68/124 C	Kohle ^f	0,16	-	12	1,88	0,34	3,74	3,10 - 4,38
68/124 D	5 + Kohle ^g	2,71	54	4	1,99	0,34	3,75	3,29 - 4,20
68/124 D	5 + Kohle ^g	2,43	49	12	2,44	0,50	5,05	4,58 - 5,52
69/120 BI	12,5 + Kohle ^h	7,01	56	12	4,2	-	10,2	8,58 - 11,8
69/64 FI	12,5 + Kohle ^h	6,48	52	20	4,9	-	12,7	9,95 - 15,5
69/13 BI	12,5 + A.kohle ⁱ	5,83	47	13	4,44	-	9,24	7,76 - 10,7
69/64 CI	25 + Kohle ^k	13,2	53	12	4,9	-	14,5	11,0 - 18,0

Tab. 8.3 Fortsetzung

Versuchs- gruppe	Quarzstaub ^b u.a. angegebene i.tr. [mg]	SiO ₂ / Lunge ^c		Zeit nach Instill. [Wo]	Lungengewicht ^d Mittelwert [g]		Hydroxyprolin / Lunge [mg] ^e	
		Mittelwert [mg]	% d. inst. Dosis		feucht	trocken	Mittelwert	95% -Vertr. bereich
68/124 E	5 + TiO ₂ ^m	3,89	78	4	2,12	0,45	4,45	3,77 - 5,12
68/124 E	5 + TiO ₂ ^m	3,03	61	12	2,68	0,54	7,39	5,64 - 9,14
69/13 C	12,5 + TiO ₂ ⁿ	4,93	39	13	5,06	-	10,7	9,00 - 12,4
69/64 EI	12,5 + TiO ₂ ⁿ	4,91	39	20	5,1	-	15,5	12,8 - 18,3
69/64 BI	25 + TiO ₂ ^p	12,5	50	12	4,8	-	16,5	13,6 - 19,5
69/20 BI	2 + TiO ₂ ^q	0,73 ^r	37	63	5,86	-	22,3	18,1 - 26,6
69/20 BI	2 + TiO ₂ ^q	3,85 ^s	8	63	5,86	-	17,1	11,3 - 22,9
69/20 CI	2	0,39	20	63	5,11	-	22,3	18,1 - 26,6
69/20 CI	2	0,70 ^r	35	63	5,11	-	17,1	11,3 - 22,9

^a Wistar-Ratten, weiblich (Zucht: Ivanovas, Kißlegg, Allgäu). Körpergewicht bei Versuchsbeginn 160 - 200 g.

^b Quarz DQ 12, Lieferung Nr. 6, 1966/67 (s. Tab. 2.1, gleiche Probe wie in den älteren und neueren Kanzerogenitätsversuchen), i.tr. als Einzeldosis in meist 0,5 mL 0,9%iger NaCl-Lösung.

^c SiO₂-Bestimmung nach Baumann (1960), Mittelwerte von meist 8 bis 12 Lungen in mg und in % der instillierten Quarz-dosis.

^d ohne Trachea und Hauptbronchien.

^e Hydroxyprolinbestimmung nach Grant (1964), modifiziert von Dehnen, siehe auch (Pott et al., 1970).

^f 40 mg Kohlenstaub, Quarzgehalt nicht bekannt, wahrscheinlich wesentlich kleiner als 1 %.

^g 5 mg Quarz + 40 mg Kohlenstaub, Quarzgehalt der Kohle im Verhältnis zu DQ 12 unbedeutend.

^h 12,5 mg Quarz + 37,5 mg Kohle.

ⁱ 12,5 mg Quarz + 37,5 mg Anthrazitkohle.

^k 25 mg Quarz + 25 mg Kohle.

^m 5 mg Quarz + 40 mg TiO₂-Staub „ultrafein“.

ⁿ 12,5 mg Quarz + 37,5 mg TiO₂ „fein“.

^p 25 mg Quarz + 25 mg TiO₂ „fein“.

^q 2 mg Quarz + 48 mg TiO₂ „fein“.

^r SiO₂-Gehalt der *mediastinalen Lymphknoten*.

^s TiO₂-Gehalt der *mediastinalen Lymphknoten*.

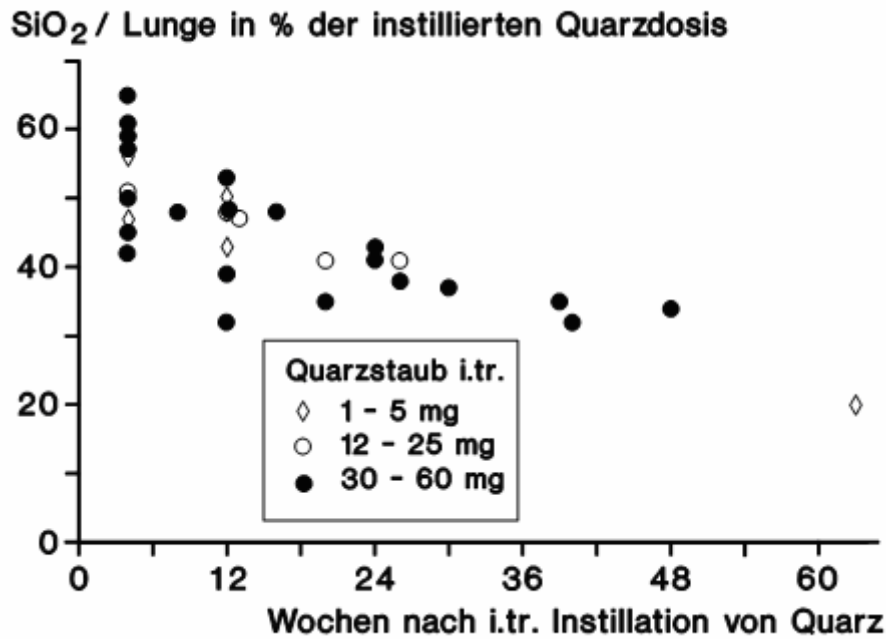


Abb. 8.40 SiO₂-Gehalt von Rattenlungen in Abhängigkeit vom Zeitraum nach intratrachealer Quarzinstillation und von der Dosis (Daten aus Tab. 8.3, ohne Mischstäube)

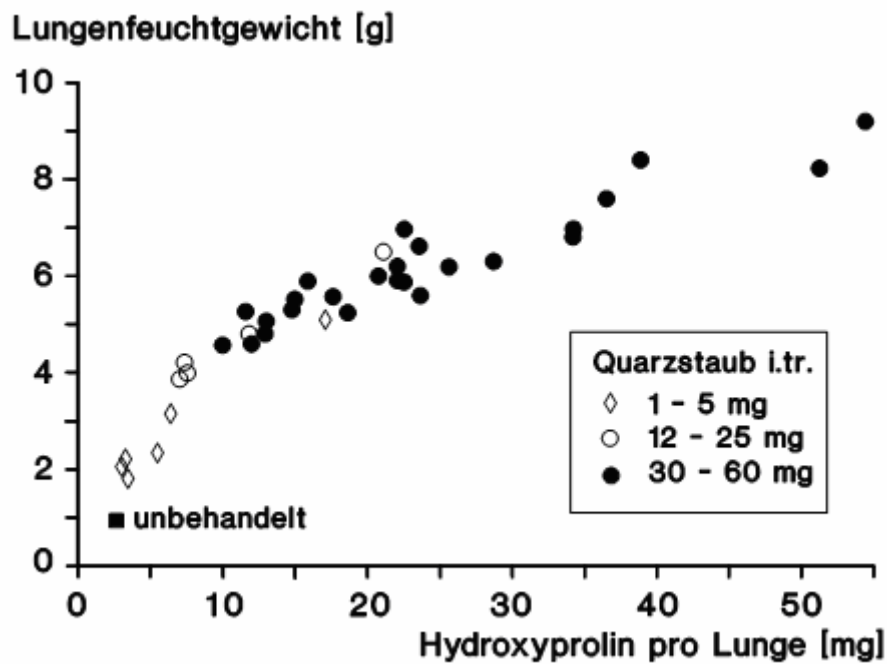


Abb. 8.41 Beziehungen zwischen Lungenfeuchtgewicht und Hydroxyprolinegehalt von Rattenlungen nach intratrachealer Instillation unterschiedlicher Quarzdosen und Zeitspannen (Daten aus Tab. 8.3, ohne Mischstäube)

8.5 Methode der intratrachealen Instillation

Um eine nach ausreichendem Training praktisch 100 %ige Treffsicherheit zu erreichen, beinhaltet die von uns verwendete Methode der intratrachealen Instillation zwei instrumentelle Details. Das erste ist ein in der Humanmedizin übliches Otoskop. Das zweite ist anstatt eines der serienmäßig für den HNO-Bereich verfügbaren Spekula ein der Anatomie des Rattenmauls angepasstes Spekulum. Wir hatten davon eine Serie mit verschiedenen Längen anfertigen lassen, die auf den Abstand zwischen Schneidezähnen und Kehldeckel der zu instillierenden Versuchstiere abgestimmt waren (kleine oder große Ratten, Hamster, Mäuse, Meerschweinchen). Wichtig ist die Form des Spekulums; sie wird unten beschrieben. Weitere Voraussetzung für eine 100 %ige Treffsicherheit ist die klare Sicht in den mit dem Spekulum offen gehaltenen Kehlkopf vor der Einführung der Kanüle. Hierzu wird das narkotisierte Tier auf dem Rücken auf einen Operationstisch für Ratten gelegt (Neigungswinkel ungefähr 20°), der auf einem normalen Tisch steht. Eine assistierende Person steht am Fußende der Ratte, die instillierende Person sitzt ihr gegenüber. Die assistierende Person schiebt eine zusammengedrückte Pinzette zwischen Ober- und Unterkiefer der Ratte; die in ihre normale gespreizte Lage zurückgebrachte Pinzette öffnet das Maul der Ratte, so dass ihr Kopf mit der Pinzette durch Druck insbesondere gegen die Hinterwand der langen Schneidezähne des Oberkiefers der sitzend instillierenden Person entgegengehalten werden kann. Gleichzeitig hält die assistierende Person den Unterleib des Tieres mit der zweiten Hand und fixiert dadurch den gestreckten Hals des Tieres in dieser Lage. Der Hals des Tieres muss gestreckt sein und darf durch das Einschieben des Spekulums nicht zusammengeschoben und gekrümmt werden, da so der Einblick in den Kehlkopf verhindert würde. Die instillierende Person hält das Otoskop in der linken Hand und führt das Spekulum in das relativ lange Maul des Tieres und die Spitze des Spekulums bis an den Kehldeckel heran, um mit Hilfe der Lichtquelle des Otoskops und der Lupe in den Kehlkopf blicken zu können. Dazu müssen mehrere Voraussetzungen aufeinander abgestimmt sein: Die Formung der offenen, schräg angeschliffenen Spitze des Spekulums mit abgestumpften Kanten, die etwas eingezogene Form der länglichen Trichterform und die eingeschliffene Lücke in dem sich verjüngenden Mittelstück des speziell gefertigten Spekulums. Ein rundum geschlossenes Spekulum, wie serienmäßig für den HNO-Bedarf produziert, lässt sich nicht genügend tief in das Maul der Tiere einführen. Die eingeschliffene seitliche Öffnung muss so gestaltet sein, dass die langen Schneidezähne des unten liegenden Oberkiefers mit dem unteren Bügel der Pinzette dort Platz finden. Die abgestumpfte Spitze des Spekulums ermöglicht durch leichten Druck gegen die Hinterwand des Rachens, dass der Kehldeckel – trotz der Manipulation – den Kehlkopf offen hält und damit den Eingang in die Luftröhre nicht reflektorisch verschließt. Durch den leichten Druck gegen die Hinterwand des Rachens sind die Stimmbänder und damit der Eintritt in die Trachea während der Atmung deutlich zu erkennen. Erst wenn dieses klare Bild der Stimmbänder, die sich bei der Atmung bewegen, zu sehen ist, wird die am Ende etwas gebogene und zunächst schräg nach oben und nicht in Richtung des Verlaufs der Trachea zeigende Knopfkanüle dem oben liegenden Kehldeckel entlang bis zum Eintritt in die Trachea geführt, dann wird die Kanüle mit der Spritze (Tuberkulinspritze) um 180° Winkelgrad gedreht, ihre Richtung der schräg (ca. 20°) nach unten verlaufenden Trachea angepasst und ca. 3 cm in die Trachea vorgeschoben.

Mit dieser Methode ist eine sonst häufige Fehlinstillation in die Speiseröhre praktisch ausgeschlossen. Ein entscheidender Trainingspunkt beim Erlernen der Methode besteht in der Einübung der korrekten Darstellung des geöffneten Kehldeckels und der Sicht der Stimmbänder durch das weit genug aber nicht zu weit eingeschobene Spekulum. Darüber hinaus muss von Anfang an streng geübt und vom anwesenden Beobachter überprüft werden, dass die zunächst etwas schräg nach oben gerichtete Spritze mit Kanüle mit dem etwas nach oben gebogenen Knopfende beim Einführen in die Trachea zunächst über die Oberfläche des geöffneten Kehldeckels bis in den Kehlkopf geschoben wird und erst dann gedreht und der Richtung der Trachea angepasst wird. Bei Anfängern mussten zunächst mindestens zwei bis drei Dutzend Tiere geopfert werden, um im Anschluss an die Instillation einer Suspension von Ruß und Titandioxid durch Sektion der Lunge und des Magens zu prüfen, ob die Instillationen das gewünschte Ziel immer erreicht haben. Im unmittelbaren Anschluss an die Instillation werden die Tiere während der ersten Atemzüge mit dem Kopf hochgehalten und dann in den Käfig gelegt.

8.6 Formeln und Parameterwerte zum *biologically based* Dosis-Zeit-Risikomodell

Expositions-Dosis-Zeitmodell

Inhalationsversuche:

$$\frac{dx}{dt} = X - k(x) \cdot x \quad \text{mit} \quad X = \begin{cases} \dot{D}_{\text{inh}}, & \text{falls } t \leq t_E \\ 0, & \text{falls } t > t_E \end{cases}$$

Dabei ist t_E die Expositionsdauer. Die Depositionsrate \dot{D}_{inh} hängt von der Expositions-konzentration C , Atemzeitvolumen \dot{V} und deponiertem Anteil α_{inh} ab. Ein Faktor H mag den wöchentlichen Anteil der Expositionszeit wiedergeben:

$$\dot{D}_{\text{inh}} = \alpha_{\text{inh}} H C \dot{V}$$

Kanzerogenitätsversuche mit intratrachealer Instillation:

$$\frac{dx}{dt} = X - k(x) \cdot x \quad \text{mit} \quad X = \begin{cases} \dot{D}_{\text{itr}}, & \text{falls } t = (j-1) \cdot t_i \text{ mit } j = 1, 2, 3, \dots, \text{inj} \\ 0 & \text{andernfalls} \end{cases}$$

Dabei ist \dot{D}_{itr} die Staubmenge pro Instillation, die sich als Produkt aus der Nenndosis mit einem Faktor $\alpha_{\text{itr}} (<1)$ ergibt, inj ist die Gesamtzahl der Instillationen und t_i ist die Zeit zwischen den Instillationen.

Eliminationsrate bei beiden Arten des Versuchsdesigns:

$$k(x) = \frac{\ln 2}{\text{HWZ}_0 + \text{koeff} \cdot x}$$

Unter *Staubmenge* ist „eigentlich“ das Staubvolumen (in nL) zu verstehen, in unserem Modell wird nur mit der Staubmasse (in mg) gerechnet, daher ist eine Umrechnung mit der Materialdichte ρ notwendig:

$$\text{koeff} = \frac{\text{koeff}_v}{\rho} 1000 \quad \frac{\text{g}}{\text{mg}} \frac{\text{nL}}{\text{cm}^3}$$

Folgende Beziehung für die Eliminationsrate ergibt sich für $\rho = 1,8 \text{ g/cm}^3$:

$$k(x) = \frac{\ln 2}{60 \text{ d} + 56 \text{ d} \cdot x/\text{mg}}$$

Es sind:

α_{inh} Deponierter Anteil der eingeatmeten Staubmenge; (0,18)

α_{itr}	Deponierter Anteil der intratracheal instillierten Staubmenge; (0,8)
C	Partikelkonzentration in der Atemluft während der Expositionsphasen des Inhalationsversuchs; [mg/m ³]
\dot{D}_{inh}	(Mittlere) Depositionsrate in einem Inhalationsversuch; [mg/Tage]
\dot{D}_{itr}	Dosis pro Instillation in einem Intratrachealversuch; [mg/Tage]
H	Anteil der Expositionsdauer pro Woche in einem Inhalationsversuch
HWZ ₀	Halbwertszeit der Elimination einer sehr kleinen Partikelmenge aus einer vorher unbelasteten Rattenlunge; [Tage]; (60 Tage)
inj	Anzahl Instillationen in einem Intratrachealversuch
k(x)	Eliminationsrate von Partikeln aus der Rattenlunge; [Tage ⁻¹]
koeff	Koeffizient für die Abhängigkeit der Halbwertszeit (der Elimination von Partikeln aus der Rattenlunge) von der bereits retinierten Staubmasse; [Tage/mg]; (56 Tage/mg)
koeff _v	Koeffizient für die Abhängigkeit der Halbwertszeit (der Elimination von Partikeln aus der Rattenlunge) vom bereits retinierten Staubvolumen; [Tage/nL]; (0,1 Tage/nL)
ρ	Materialdichte; [g/cm ³]
t	Zeit; [Tage]
t _E	Zeitraum, in dem Expositionen in einem Inhalationsversuch durchgeführt werden; [Tage]
t _i	Zeitintervall zwischen den Instillationen eines Intratrachealversuchs; [Tage]
\dot{V}	Atemzeitvolumen von Ratten; [m ³ /Tage]; (0,23 m ³ /Tage)
x	Staubmenge (Dosis) in der Lunge; [mg]
X	Depositionsrate; [mg/Tage]

Dosis-Zeit-Risikomodell

Die Übergänge der Zustandswahrscheinlichkeiten der Zielzellen als stochastischer Prozeß:

$$\frac{dP_N(t)}{dt} = -\mu_0(x) P_N(t)$$

$$\frac{dP_I(t)}{dt} = \mu_0(x) P_N(t) - \mu_1(x) P_I(t) + \gamma_1(t, x) P_I(t)$$

$$\frac{dP_T(t)}{dt} = \mu_1(x) P_I(t)$$

mit den Anfangsbedingungen $P_N(0) = 1$, $P_I(0) = 0$ und $P_T(0) = 0$.

$$\mu_0(x) = \mu_0(0) + a \cdot x$$

$$\mu_1(x) = \mu_1(0) + b \cdot x$$

$$\gamma_1(t, x) = (1 + c \cdot \ln(1 + x/mg)) \cdot \gamma_1(0, 0) \cdot e^{-f_0 t}$$

Es sind:

- a Parameter für die Abhängigkeit der Übergangswahrscheinlichkeit in den initiierten Zustand von der retinierten Staubmenge; [$\text{Tage}^{-1} \text{mg}^{-1}$]
- b Parameter für die Abhängigkeit der Übergangswahrscheinlichkeit in den transformierten Zustand von der retinierten Staubmenge; [$\text{Tage}^{-1} \text{mg}^{-1}$]
- c Parameter für die Abhängigkeit der Nettowachstumsrate von der Dosis; dimensionslos
- f_0 Koeffizient für die Altersabhängigkeit der Nettowachstumsrate (initiiertes Zellen); hier: $0,005 \text{ Tage}^{-1}$
- $\gamma_1(t, x)$ Nettowachstumsrate (initiiertes Zellen; in Abhängigkeit von Alter und Staubbelastung der Lunge); [Tage^{-1}]
- $\gamma_1(0, 0)$ Nettowachstumsrate (initiiertes Zellen) zu Beginn des Beobachtungszeitraums; [Tage^{-1}]; ($2,86 \cdot 10^{-3} \text{ Tage}^{-1}$)
- $\mu_0(x)$ Übergangswahrscheinlichkeit vom normalen Zustand einer "Zielzelle" der Lunge in einen "initiierten" Zustand (in Abhängigkeit von der Staubmenge in der Lunge); [Tage^{-1}]
- $\mu_0(0)$ Übergangswahrscheinlichkeit vom normalen Zustand einer "Zielzelle" einer unbelasteten Lunge in einen "initiierten" Zustand; [Tage^{-1}]; ($1 \cdot 10^{-8} \text{ Tage}^{-1}$)
- $\mu_1(x)$ Übergangswahrscheinlichkeit vom "initiierten" Zustand einer "Zielzelle" der Lunge in einen "transformierten" Zustand (in Abhängigkeit von der Staubmenge in der Lunge); [Tage^{-1}]
- $\mu_1(0)$ Übergangswahrscheinlichkeit vom "initiierten" Zustand einer "Zielzelle" einer unbelasteten Lunge in einen "transformierten" Zustand; [Tage^{-1}]; ($1 \cdot 10^{-8} \text{ Tage}^{-1}$)

N_0	Anzahl Zielzellen in der Lunge zu Beginn des Beobachtungszeitraums; (10^8)
$P^*(t)$	Lungentumorrisiko bei Ratten
$P_N(t)$	Wahrscheinlichkeit, dass sich eine Zielzelle im Normalzustand befindet
$P_I(t)$	Wahrscheinlichkeit, dass sich eine Zielzelle im "initiierten" Zustand befindet
$P_T(t)$	Wahrscheinlichkeit, dass sich eine Zielzelle im "transformierten" Zustand befindet

Von der Hazardrate zum Tumorrisiko:

$$\lambda(t) = (1 - e^{-N_0 \mu_1(x) \text{ Tage}} P_I(t - 28 \text{ Tage})) \text{ Tage}^{-1}$$

$$G(t) = \int_0^t \lambda(u) Q(u) du \quad \text{mit } Q(t) = 1 - G(t)$$

bzw.

$$G(t) = 1 - \exp\left(-\int_0^t \lambda(u) du\right)$$

$$q(t) = - \frac{dS_0(t)}{dt}$$

mit

$$S_0(t) = e^{-v (t/d)^w}$$

$$P^*(t) = \int_0^t G(u) q(u) du$$

Es sind:

$G(t)$	Kumulatives Risiko (primärer Lungentumor)
$\lambda(t)$	Hazardrate (primärer Lungentumor); [Tage^{-1}]
$P^*(t)$	Lungentumorrisiko bei Ratten in Abhängigkeit von der Versuchszeit bzw. dem Alter der Tiere

$q(t)$	Dichtefunktion zur Mortalitätsfunktion $1 - S_0(t)$; [Tage ⁻¹]
$S_0(t)$	Überlebensfunktion
v	Parameter der Überlebensfunktion $S_0(t)$ (in Form einer Weibullverteilung)
w	Parameter der Überlebensfunktion $S_0(t)$ (in Form einer Weibullverteilung)

Tabelle Zusammenstellung der benutzten Parameterwerte. Für die Überlebensfunktion sind außerdem die sich mit den jeweiligen Parameterwerten ergebenden Überlebenswahrscheinlichkeiten für die Zeitpunkte 1 Jahr ($S_0(365 \text{ d})$) und 2 Jahre ($S_0(730 \text{ d})$) angegeben.

Modellbereich, Parameter	Zahlenwert			
	Dieselruß		Gemahlene Kohle (untere Fettkohle)	Grubenstaub (Fettkohle)
	Inhalation (Heinrich et al. 1995)	i.tr. (Pott et al., 1994)	i.tr. (Roller et al., 1998; Pott et al., 1999)	i.tr.
<u>Kinetik</u>				
HWZ ₀ / d	60	60	60	60
koeff / d/mg	56	56	56	56
<u>Zellproliferation</u>				
$\gamma_1(0, 0) / \text{d}^{-1}$	$2,86 \cdot 10^{-3}$	$2,86 \cdot 10^{-3}$	$2,86 \cdot 10^{-3}$	$2,86 \cdot 10^{-3}$
f_0 / d^{-1}	$5 \cdot 10^{-3}$	$5 \cdot 10^{-3}$	$5 \cdot 10^{-3}$	$5 \cdot 10^{-3}$
c (für a=b=0)	5,1	5,4	4,55	4,55
<u>Mutation</u>				
$\mu_0(0) / \text{d}^{-1}$	$1 \cdot 10^{-8}$	$1 \cdot 10^{-8}$	$1 \cdot 10^{-8}$	$1 \cdot 10^{-8}$
$\mu_1(0) / \text{d}^{-1}$	$1 \cdot 10^{-8}$	$1 \cdot 10^{-8}$	$1 \cdot 10^{-8}$	$1 \cdot 10^{-8}$
$a/\mu_0(0) / \text{mg}^{-1}$	0,24	7,0	5,0	5,0
$b/\mu_1(0) / \text{mg}^{-1}$ (a, b für c=0)	0,24	0,04	0,01	0,01
<u>Überlebensfunktion</u>				
w	5,0	4,5	4,5	4,5
v	$2,65 \cdot 10^{-15}$	$7,0 \cdot 10^{-14}$	$9,1 \cdot 10^{-14}$	$9,4 \cdot 10^{-14}$
$S_0(365 \text{ d}) / \%$	98,3	97,7	97,0	96,8
$S_0(730 \text{ d}) / \%$	57,7	58,5	49,8	48,4

9 **Bestimmung von Dichte, spezifischer Oberfläche und
Partikelgröße durch o.f.u. GmbH Hamburg**

Probenkennzeichnung und Messauftrag

Die folgende Tabelle enthält die Probenkennzeichnung und die geforderten Untersuchungen.

Die Probe 12A - Dieseleruß nativ - wird vor Beginn der Untersuchungen geteilt. Eine Hälfte dieser Probe wird mit Petrolether extrahiert. Der extrahierte Teil wird unter der Bezeichnung 12B - Dieseleruß extrahiert - geführt.

Lfd. Nr.	Stoff-bezeichnung	He-Dichte	Partikelgrößen-Verteilung	1-Punkt-BET	FEREM-Untersuchung
1	Magerkohle		x	x	
2	Untere Fettkohle		x	x	
3	Fettkohle		x	x	
4	Gasflammkohle		x	x	
5	Gestein		x	x	
6	Quarz DQ12		x	x	
7	Flammruß 101		x	x	x
8	Furnaceruß P90		x	x	x
9	Aluminiumoxid C		x	x	x
10	Aluminiumsilikat P820		x	x	x
11	Kaolin	x	x	x	x
12a	Dieseleruß nativ	x	x	x	x
12b	Dieseleruß extrahiert	x	x	x	x
13	TiO ₂ P25, hydrophil		x	x	x
14	TiO ₂ P805, hydrophob			x	
15	Toner (org.)	x	x	x	x
16	TiO ₂ Aldrich		x	x	x
17	ZrO ₂		x	x	x
18	Lungenstaub	x	x	x	x
19	Amorphe Kieselsäure			x	
20	Quarz F600		x	x	x
21	Quarz Min-U-Sil 15			x	

Ergebnisse

- (BET Bestimmung der spezifischen Oberfläche nach Brunauer, Emmett und Teller)
 (REM Rasterelektronenmikroskopie)
 (FEREM Feldemission-Rasterelektronenmikroskopie - hochauflösende REM)
 (EDX Energiedispersive Röntgenfluoreszenzanalyse - Elementanalyse)

Teil 1

Extraktion der Probe 12A:

1,0277 g der Probe 12A werden 6 Stunden im Soxhlet mit Petrolether 40/60 unter Rückfluss ($\cong 50$ °C) extrahiert. Nach dem Abziehen des Lösemittels am Rotationsverdampfer wird der extrahierbare Anteil gravimetrisch bestimmt. Die extrahierte Staubprobe - Probe 12B - wird getrocknet.

Extrahierbarer Anteil: 0,15 Gew.-%.

Bestimmung der Partikelgrößenverteilung durch Laserbeugung:

Die Proben werden mit Ultraschall in Wasser dispergiert.

Gemessen wird zum einen die Intensität des in dieser Dispersion gebeugten Lichtanteils und zum anderen die Schwächung der Intensität des eingestrahlten Lichts. Aus den Messwerten kann die Größenverteilung der Partikel nach Fraunhofer beziehungsweise nach Mie (für Partikel, deren Durchmesser deutlich kleiner als die Wellenlänge des eingestrahlten Lichts ist) berechnet werden.

Die Kalibrierung des Gerätes geschieht mit Hilfe von Kalibriersubstanzen, deren Größenverteilung bekannt ist.

Mit diesem Verfahren werden Partikel, deren Durchmesser größer als 40 nm sind, erfasst und in Größenklassen sortiert.

Es werden standardmäßig 100 Größenklassen von 0,04 µm bis 500 µm festgelegt. Diesen Größenklassen werden die kumulativen Partikelmengen in Volumen-% zugeordnet.

Die Klassifizierung in 10-%-Schritten erfolgt in der Tabelle 2 (Anlage Tabellen).

Bestimmung der wahren Dichte (He-Dichte):

Die Bestimmung wird in einem Helium-Pyknometer durchgeführt. Sie basiert auf der Verdrängung des Heliums durch das Probenvolumen.

Helium liegt als Edelgas einatomig vor. Es besitzt den kleinsten Atomradius von allen Elementen und dringt daher auch in molekulare Zwischenräume ein.

die Ergebnisse sind in der Tabelle 1 (Anlage Tabellen) wiedergegeben.

Bestimmung der spezifischen Oberfläche durch Stickstoffabsorption (BET):

Die Proben werden bei 100 °C ausgeheizt.

Die spezifische Oberfläche kann nach der Theorie von Brunauer, Emmett und Teller aus der adsorbierten Menge Stickstoff berechnet werden, da der Raumbedarf des N₂-Moleküls bekannt ist.

Gemessen wird bei einer Küvettemperatur von 77,4 K.

Es werden 1-Punkt-BET-Messungen durchgeführt. Diese besitzen gegenüber Mehrpunkt-Messungen eine etwas höhere Fehlerwahrscheinlichkeit, da die Affinität des Stickstoffs zur Probe unberücksichtigt bleibt.

Die Ergebnisse der BET-Messungen sind in der Tabelle 1 (Anlage Tabellen) zusammengefasst.

Anmerkungen zu den Ergebnissen von Teil 1

Die Proben mit hohen BET-Werten - speziell Furnaceruß, Al₂O₃, Aluminiumsilikat, amorphe Kieselsäure - besitzen wahrscheinlich eine stark poröse Struktur. Hinweise auf die Porenstruktur können Adsorptions-Desorptions-Diagramme aus BET-Zyklus-Messungen ergeben.

Darüber hinaus können sich aus singulären Partikeln Agglomerate gebildet haben, die durch Ultraschallbehandlung nicht zu trennen sind.

Hinweise auf eine Porenstruktur oder auf Agglomeratbildung werden die hochaufgelösten elektronenmikroskopischen Aufnahmen geben können.

Teil 2

Partikeluntersuchung mit hochauflösender Rasterelektronenmikroskopie:

Vorbemerkungen:

Die Untersuchungen werden mit einem Feldemission-Rasterelektronenmikroskop (FEREM) von Hitachi (SEM 5500) durchgeführt.

Die Proben werden auf Platin-beschichtete Glasträger präpariert und anschließend mit Kohlenstoff bedampft, um elektrische Aufladungen der Partikel zu verhindern.

Zusätzlich werden einige Proben mit einem Rasterelektronenmikroskop mit EDX-Detektor untersucht. Diese Proben werden auf speziellen Kohlenstoffklebern präpariert und mit Gold bedampft.

Die Proben 7, 8, 9 und 10 werden in Ethanol mit Ultraschall dispergiert und auf den mit 80 °C vorgeheizten Probenträger gebracht. Das Ethanol verdampft; die Partikel verbleiben auf dem Träger.

Da die Verdampfung eines Tropfens von außen nach innen (zum Zentrum) erfolgt, treten im äußeren Bereich des Tropfens (kurz vor der Austrocknung) Partikelbewegungen auf, die teilweise zu Entmischungen hinsichtlich der Partikelgrößen führen. Daher ist die resultierende Partikelverteilung auf der ausgetrockneten Tropfenfläche inhomogen.

Die Probe 8 in Wiederholung sowie die übrigen Proben 11, 12A, 12B, 13, 15, 16, 17, 18 und 20 werden trocken auf die Träger gebracht. Nach einer kurzen Ultraschallbehandlung, durch die locker zusammen haftende Partikel getrennt werden sollen, wird überschüssiges Probenmaterial abgeblasen.

Die Beurteilung der Partikelgrößen wird anhand von FEREM-Aufnahmen mit 100-, 1.000-, 6.000- und 60.000-facher Vergrößerung vorgenommen. Die Beurteilung erfolgt insbesondere unter Berücksichtigung der Ergebnisse der Untersuchung mit der Laserbeugung.

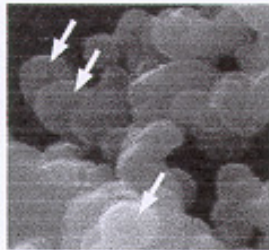
Eine von den übrigen Untersuchungsergebnissen unabhängige Quantifizierung der Partikelgrößen und ihre Einteilung in Größenklassen ist auf diesem Wege nicht möglich. Der Grund hierfür liegt in der oben bereits erwähnten durch die Präparation hervorgerufenen Inhomogenität der Partikelverteilung.

Die FEREM-Untersuchung zeigt jedoch definitiv, mit welchen minimalen Partikelgrößen bei den einzelnen Proben zu rechnen ist. Durch die Sichtbarmachung der Partikel kann die Qualität der Ergebnisse der Laserbeugung sicher beurteilt werden.

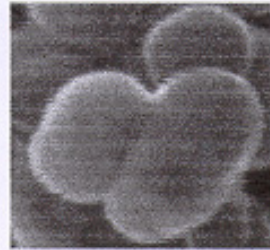
An der Probe 18 - Lungenstaub - wird zusätzlich eine gesonderte REM/EDX-Untersuchung durchgeführt, um Aufschluss über die Zusammensetzung der Partikel zu erhalten.

Die Untersuchung hat ergeben, dass es sinnvoll ist, 3 Partikel-Arten zu definieren:

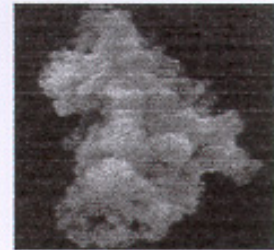
- Die Basiseinheiten - sie stellen die kleinsten kristallinen Einheiten dar, die sich unter den jeweiligen Entstehungsbedingungen gebildet haben. Ihre Größe variiert in der Regel nicht sehr stark.
- Die Primärpartikel - sie bestehen aus mehreren zusammengewachsenen Basiseinheiten und sind äußerst stabil, da die Basiseinheiten innerhalb der Primärpartikel durch Kristallbindungen zusammengehalten werden. Primärpartikel sind durch Ultraschallbehandlung nicht teilbar.
- Die Agglomerate - sie setzen sich aus einer Vielzahl von Basiseinheiten oder/und Primärpartikeln zusammen. Zwischen den einzelnen Einheiten wirken Adhäsions- und gegebenenfalls van-der-Waals-Kräfte, die deutlich schwächer als die oben genannten Bindungskräfte sind. Agglomerate können zum Beispiel durch eine Ultraschallbehandlung zum Teil wieder aufgelöst werden.



Basiseinheiten



Primärpartikel



Agglomerat

Im Folgenden werden die 13 Proben einzeln beurteilt.

Probe 7 - Flammruß 101:

(Die Verweise auf Abbildungen beziehen sich auf die Anlage *REM-Aufnahmen - 07*)

Die Abbildungen 1, 2 und 3 geben in geringer Vergrößerung eine Übersicht über die Art der Agglomeration der Flammruß-Partikel. Kettenförmige Partikel deuten auf Reagglomeration während der Verdampfung des Dispersionsmediums hin. Sie wären bei erneuter Ultraschallbehandlung wahrscheinlich nicht stabil und würden in kleinere Einheiten zerfallen.

Es werden einige Agglomerate gefunden, deren Ausdehnung größer als 10 µm ist. Der Hauptanteil der kompakt vorliegenden Agglomerate, also derjenigen Partikel, die unter wiederholter Ultraschallbehandlung vermutlich in ihrer Größe erhalten bleiben würden, weist Größen zwischen 0,5 µm und 4 µm auf (Abb. 4, 5, 6).

Die Basiseinheiten besitzen kugelförmiges Aussehen haben Durchmesser von 50 nm bis 150 nm (Abb. 7, 8, 9).

Primärpartikel weisen Größen von 200 nm bis 600 nm auf (Abb. 7, 8, 9).

Partikel im Mikrometerbereich liegen als Agglomerate vor.

Beurteilung der Gesamtergebnisse für Probe 7:

Die Partikelgrößenverteilung gemessen durch die Laserbeugung -

10 % < 0,7 µm

50 % < 4,3 µm

90 % < 12,5 µm

wird durch die Ergebnisse der FEREM-Untersuchung bestätigt. Die Partikel liegen als kompakte Agglomerate vor.

Der Anteil derjenigen Partikel mit Korngrößen unter 100 nm liegt gemäß der Ergebnisse der Laserbeugung deutlich unter 1 %. Die FEREM-Untersuchung liefert die gleiche Aussage. Der Hauptanteil der Basiseinheiten, die nur vereinzelt singulär auftreten, weist eine Größe um 100 nm auf.

Die gemessene BET-Oberfläche von 18,4 m²/g kann durch die FEREM-Untersuchung ebenfalls nachvollzogen werden. Bei einer mittleren Größe der Basiseinheiten von 100 nm und unter der Annahme einer Kugelform wäre eine spezifische Oberfläche von ca. 30 m²/g zu erwarten gewesen. Durch Verwachsungen (Bildung der Primärpartikel) sind Bereiche der ursprünglichen Kugelform für die Gasadsorption nicht mehr zugänglich. Der gemessene BET-Wert muss daher kleiner als der aus den Basiseinheiten berechnete Wert sein.

Beginnt man andererseits die Argumentation mit der durch die Laserbeugung ermittelten Korngröße, deren 50-%-Wert bei 4,3 µm liegt, so müsste eine erheblich kleinere BET-Ober-

fläche (ca. $0,6 \text{ m}^2/\text{g}$) gefunden werden. Da jene Partikel mit Korngrößen im Mikrometerbereich jedoch Agglomerate darstellen und die Oberflächen der Basiseinheiten und Primärpartikel im Inneren der Agglomerate für die Gasadsorption zugänglich sind, wird tatsächlich ein etwa 20-fach höherer BET-Wert gemessen als der aufgrund der mittleren Partikelgröße zu erwartende Wert.

Probe 8 - Furnaceruß:

(Die Verweise auf Abbildungen beziehen sich auf die Anlage *REM-Aufnahmen - 08*)

Die Abbildungen 1, 2 und 3 geben in niedriger Vergrößerung eine Übersicht über die Art der Agglomeration der Furnaceruß-Partikel. Im Gegensatz zur Probe 7 sind deutlich mehr große, kompakte Partikel zu erkennen, deren Durchmesser größer als $20 \mu\text{m}$ sind.

Es werden einige Agglomerate gefunden, die eine Ausdehnung von mehr als $50 \mu\text{m}$ besitzen.

Die Abbildungen 4 und 6 zeigen, dass eine Unterteilung in Agglomerate 1. Ordnung und Agglomerate 2. Ordnung sinnvoll ist.

Die Agglomerate 1. Ordnung sind aus Basiseinheiten und Primärpartikeln mit hoher Packungsdichte kompakt aufgebaut. Ihre Durchmesser liegen zwischen $2 \mu\text{m}$ und $10 \mu\text{m}$.

Die Agglomerate 2. Ordnung entstehen durch Zusammenballung mehrerer Agglomerate 1. Ordnung (Abb. 6). Ihre Stabilität ist dementsprechend vermutlich geringer als bei den Agglomeraten 1. Ordnung. Sie werden möglicherweise durch eine Ultraschallbehandlung zum Teil wieder zerfallen.

Die in den Abbildungen 8 und 9 erkennbaren Basiseinheiten haben Kugelform und einen Durchmesser von 60 nm bis 100 nm .

Primärpartikel weisen Größen von ca. 200 nm auf (Abb. 8, 9).

Partikel im Mikrometerbereich liegen als Agglomerate 1. Ordnung vor. Partikel mit Korngrößen über $10 \mu\text{m}$ sind vorwiegend als Agglomerate 2. Ordnung anzusehen.

Beurteilung der Gesamtergebnisse für Probe 8:

Die Partikelgrößenverteilung gemessen durch die Laserbeugung -

10 %	<	2,9 μm
50 %	<	11,9 μm
90 %	<	54,7 μm

wird durch die Ergebnisse der FEREM-Untersuchung bestätigt. Die Partikel mit Durchmessern über $10 \mu\text{m}$ liegen hauptsächlich als Agglomerate 2. Ordnung vor.

Freie Basiseinheiten mit Durchmessern unter 100 nm werden nicht gefunden. Dies ist kongruent mit den Ergebnissen der Laserbeugung (Partikelanteil mit Korngröße $< 100 \text{ nm}$: $< 0,02 \%$).

Die spezifische Oberfläche gemäß der BET-Messung beträgt $337 \text{ m}^2/\text{g}$. Unter der Annahme, die vollständige Fläche der Basiseinheiten trüge zur spezifischen Oberfläche bei, so wäre ein BET-Wert von $30 \text{ m}^2/\text{g}$ bis $40 \text{ m}^2/\text{g}$ zu erwarten. Der tatsächlich gemessene 10-fach höhere Wert kann nur durch eine mikroporöse Struktur der Basiseinheiten erklärt werden.

Probe 9 - Al_2O_3 - C:

(Die Verweise auf Abbildungen beziehen sich auf die Anlage *REM-Aufnahmen - 09*)

Die Abbildungen 1, 2 und 3 geben in niedriger Vergrößerung eine Übersicht über die Art der Agglomeration der Aluminiumoxid-Partikel.

Es werden einige Agglomerate gefunden, deren Ausdehnung größer als 10 µm ist. Der Hauptanteil der kompakt vorliegenden Agglomerate weist Größen zwischen 0,5 µm und 5 µm auf (Abb. 3, 6).

Eine Unterscheidung zwischen Agglomeraten 1. und 2. Ordnung wie bei der Probe 8 ist nicht erforderlich.

Die Basiseinheiten zeigen annähernd Kugelform und haben Durchmesser von 40 nm bis 60 nm (Abb. 6, 7).

Primärpartikel weisen Größen von 100 nm bis 200 nm auf (Abb. 6, 7).

Partikel im unteren Mikrometerbereich liegen als Agglomerate vor.

Beurteilung der Gesamtergebnisse für Probe 9:

Die Partikelgrößenverteilung gemessen durch die Laserbeugung -

10 % < 0,7 µm

50 % < 3,5 µm

90 % < 13,7 µm

wird durch die Ergebnisse der FEREM-Untersuchung bestätigt. Die Partikel liegen hauptsächlich als Agglomerate vor.

Basiseinheiten und Primärpartikel treten vereinzelt singular auf. Sie stellen denjenigen Partikelanteil mit Korngrößen unter 100 nm dar (gemäß Laserbeugung 1,3 %).

Die spezifische Oberfläche gemäß der BET-Messung beträgt 124 m²/g. Aufgrund der Größe der Basiseinheiten und unter der Annahme einer Kugelform wäre eine spezifische Oberfläche von ca. 40 m²/g zu erwarten gewesen. Auch in diesem Fall ist eine Porosität der Basiseinheiten als Ursache für den 3-fach höheren gemessenen Wert anzunehmen.

Probe 10 - AlSiO₂ - P820:

(Die Verweise auf Abbildungen beziehen sich auf die Anlage *REM-Aufnahmen - 10*)

Die Abbildungen 1, 2 und 3 geben in niedriger Vergrößerung eine Übersicht über die Art der Agglomeration der Aluminiumsilikat-Partikel.

Die Größe der Agglomerate variiert von 0,1 µm bis 20 µm (Abb. 1, 2, 3, 4).

Die Basiseinheiten mit kugelförmigem Aussehen haben Durchmesser von 40 nm bis 60 nm (Abb. 7, 8).

Primärpartikel weisen Größen von 100 nm bis 500 nm auf (Abb. 7, 8).

Partikel im unteren Mikrometerbereich liegen als Agglomerate vor. Die Probe neigt zur Ausbildung kompakter Agglomerate. Es kann aufgrund von Aufladungseffekten nicht entschieden werden, ob sich innerhalb der Agglomerate die einzelnen Basiseinheiten beziehungsweise Primärpartikel aneinander angelagert haben (normale Agglomeratbildung) oder ob aufgrund einer geringen Löslichkeit der Probe im Dispersionsmittel (im Wasseranteil) eine Art Zementierung zwischen den Teilchen stattgefunden hat.

Beurteilung der Gesamtergebnisse für Probe 10:

Die Partikelgrößenverteilung gemessen durch die Laserbeugung -

10 % < 2,3 µm

50 % < 7,2 µm

90 % < 14,4 µm

wird durch die Ergebnisse der FEREM-Untersuchung bestätigt. Die Partikel liegen hauptsächlich als Agglomerate und gegebenenfalls als größere Primärpartikel vor.

Primärpartikel treten vereinzelt singulär auf. Partikel mit Durchmessern unter 100 nm werden nicht gefunden. Dies entspricht dem Ergebnis der Laserbeugungsuntersuchung, demzufolge der Korngrößenanteil unter 100 nm kleiner als 0,02 % ist.

Die spezifische Oberfläche gemäß der BET-Messung beträgt 63 m²/g. Aufgrund der Größe der Basiseinheiten und unter der Annahme einer Kugelform wäre eine spezifische Oberfläche kleiner gleich 40 m²/g zu erwarten gewesen. Auch in diesem Fall ist eine Porosität der Basiseinheiten als Ursache für den höheren gemessenen Wert anzunehmen.

Probe 11 - Kaolin:

(Die Verweise auf Abbildungen beziehen sich auf die Anlage *REM-Aufnahmen - 11*)

Kaolinit gehört zu den Schichtsilikaten mit vollkommener Spaltbarkeit in der 001-Ebene. Einzelne Kristallite erscheinen in Tafelform (Abb. 9).

Die Abbildungen 1 und 3 geben in niedriger Vergrößerung eine Übersicht über die Art der Agglomeration der Kaolin-Partikel.

Die Partikelgröße variiert von weniger als 0,1 µm bis 10 µm (Abb. 3, 4, 5, 6, 7).

Der Begriff „Basiseinheit“ ist bei dieser Probe nur bedingt sinnvoll. In analoger Übertragung wären die einzelnen Tafeln als Basiseinheiten zu bezeichnen. Aufgrund ihrer leichten Spaltbarkeit und ihrer geringen Dicke können sie im Gegensatz zu den anderen Proben jedoch leicht in wesentlich kleinere Einheiten zerfallen.

Die Tafeln können innerhalb der Primärpartikel Längen und Breiten im Mikrometerbereich und Dicken im 100-nm-Bereich und darunter haben (Abb. 5, 6, 9).

Primärpartikel weisen Größen bis zu 10 µm auf (Abb. 3, 4, 5).

Agglomerate werden ebenfalls ausgebildet.

Beurteilung der Gesamtergebnisse für Probe 11:

Die Partikelgrößenverteilung gemessen durch die Laserbeugung -

10 %	<	0,5 µm
50 %	<	2,4 µm
90 %	<	6,3 µm

wird durch die Ergebnisse der FEREM-Untersuchung bestätigt. Die Partikel liegen als Primärpartikel und Agglomerate vor.

Die spezifische Oberfläche gemäß der BET-Messung beträgt 19 m²/g. Im Fall des Kaolins liegen keine annähernd runden Basiseinheiten vor wie bei den meisten anderen Proben sondern Tafeln, die vorwiegend miteinander verwachsen sind und Primärpartikel ausbilden. Daher sollte eine spezifische Oberfläche, die sich an einer mittleren Korngröße (2,4 µm) orientiert, einen Wert im Bereich von 1 m²/g aufweisen. Kaoline erfahren in Gegenwart von Wasser und anderen Medien eine Schichtaufweitung. Nach dem Ausheizen zur BET-Messung dürften diese Schichtzwischenräume partiell für Gase zugänglich sein und somit den Hauptbeitrag zur Größe des BET-Wertes liefern.

Probe 12 - Dieselruß nativ (12A) und extrahiert (12B):

(Die Verweise auf Abbildungen beziehen sich auf die Anlagen *REM-Aufnahmen - 12A / 12B*)

Die Abbildungen 1, 2, 3 und 4 für 12A und 1, 2, 3, 4 und 5 für 12B geben in geringer Vergrößerung eine Übersicht über die Art der Agglomeration der Dieselruß-Partikel. Beide

Proben lassen wie zum Beispiel die Probe 7 Basiseinheiten, Primärpartikel und Agglomerate erkennen.

Die Größe der Agglomerate variiert von 0,5 μm bis nahezu 50 μm für Probe 12A (Abb. 1, 2, 3, 4). Probe 12B weist etwas kleinere Agglomerate von 0,2 bis maximal 30 μm auf (Abb. 1, 2, 3, 4, 5).

Die Basiseinheiten haben bei beiden Proben Durchmesser von 50 nm bis 100 nm (12A: Abb. 8, 9, 10; 12B: Abb. 8, 9, 10). Sie besitzen annähernd Kugelform.

Primärpartikel haben bei beiden Proben Größen von 100 nm bis 300 nm (12A: Abb. 8, 9, 10; 12B: Abb. 8, 9, 10).

Partikel im Mikrometerbereich liegen als Agglomerate vor.

Beurteilung der Gesamtergebnisse für Proben 12A und 12B:

Die Partikelgrößenverteilung gemessen durch die Laserbeugung -

	12A - nativ	12B - extrahiert
10 %	< 0,8 μm	< 0,7 μm
50 %	< 3,6 μm	< 3,1 μm
90 %	< 18,0 μm	< 12,1 μm

wird durch die Ergebnisse der FEREM-Untersuchung bestätigt. Die Partikel beider Proben liegen als kompakte Agglomerate vor.

Der Anteil derjenigen Partikel mit Korngrößen unter 100 nm liegt gemäß der Ergebnisse der Laserbeugung bei ca. 1 %. Die FEREM-Untersuchung liefert die gleiche Aussage. In beiden Fällen treten vereinzelt singuläre Basiseinheiten und kleine Primärpartikel auf.

Da der extrahierbare Anteil vom Dieseluß mit 0,15 Gew.-% sehr niedrig ist, ist das Erscheinungsbild der Partikel - Aufbau der Agglomerate - bei beiden Proben annähernd gleich.

Ein hoher Anteil extrahierbarer Stoffe würde auf unverbrannte Ölbestandteile und deren Oxidationsprodukte schließen lassen. Diese wären als amorphe „Füllmasse“ zwischen den Basiseinheiten beziehungsweise Primärpartikeln aufgetreten und durch die FEREM-Untersuchung vermutlich erkennbar gewesen. Sie hätten außerdem dazu geführt, dass der Unterschied in den Korngrößen zwischen beiden Proben größer ausgefallen wäre.

Die Diskrepanz in den gemessenen BET-Oberflächen der Proben 12A - 13 m^2/g - und 12B - 34,5 m^2/g - lässt sich durch die gemessenen Korngrößenverteilungen nicht erklären. Wahrscheinlich wurden durch den Extraktionsprozess zusätzliche Porenöffnungen geschaffen und damit innere Oberflächen für die Gasadsorption zugänglich gemacht.

Hinsichtlich der Kalkulation der spezifischen Oberfläche aus der mittleren Größe der Basiseinheiten gilt für die Probe 12A das gleiche wie für die Probe 7 (Flammruß).

Die mittlere Größe der Basiseinheiten von 75 nm ergeben unter der Annahme einer Kugelform eine spezifische Oberfläche von ca. 40 m^2/g . Durch Verwachsungen (Bildung der Primärpartikel) sind Bereiche der ursprünglichen Kugelform für die Gasadsorption nicht mehr zugänglich. Der gemessene BET-Wert muss daher deutlich kleiner als der aus den Basiseinheiten berechnete Wert sein. Er muss andererseits jedoch erheblich größer als der aus der mittleren Agglomeratgröße berechnete BET-Wert sein, da die Zwischenräume zwischen den Basiseinheiten für die Gasadsorption zugänglich sind.

Probe 13 - TiO_2 P25:

(Die Verweise auf Abbildungen beziehen sich auf die Anlage *REM-Aufnahmen - 13*)

Die Abbildungen 1, 2 und 3 geben in niedriger Vergrößerung eine Übersicht über die Art der Agglomeration der Titandioxid-Partikel.

Die Größe der kompakt vorliegenden Agglomerate variiert von 0,1 µm bis 4 µm (Abb. 2, 3, 4, 5). Kettenförmig aufgebaute Agglomerate sind zum Teil deutlich größer (Abb. 1). Sie würden bei erneuter Ultraschallbehandlung wahrscheinlich wieder in kleinere Einheiten zerfallen.

Die kugelförmigen Basiseinheiten haben Durchmesser von 40 nm bis 80 nm (Abb. 6, 7, 8, 9).

Primärpartikel weisen Größen von 80 nm bis 300 nm auf (Abb. 7, 9).

Partikel im unteren Mikrometerbereich liegen als Agglomerate vor.

Beurteilung der Gesamtergebnisse für Probe 13:

Die Partikelgrößenverteilung gemessen durch die Laserbeugung -

10 % < 0,3 µm

50 % < 2,1 µm

90 % < 5,1 µm

wird durch die Ergebnisse der FEREM-Untersuchung bestätigt.

Basiseinheiten und Primärpartikel treten auch singular auf und sind damit für den Korngrößenanteil unter 100 nm (gemäß Laserbeugung: 1,8 %) verantwortlich.

Die spezifische Oberfläche gemäß der BET-Messung beträgt 52 m²/g. Aufgrund der mittleren Größe der Basiseinheiten (60 nm) und unter der Annahme einer Kugelform und einer Dichte von 3,8 g/cm³ wäre eine spezifische Oberfläche von ca. 26 m²/g zu erwarten gewesen. Neben den für Gase offensichtlich gut zugänglichen Zwischenräumen innerhalb der Agglomerate ist für diese Probe zur Erklärung des gemessenen BET-Wertes ebenfalls eine Porosität der Basiseinheiten anzunehmen.

Probe 15 - Toner:

(Die Verweise auf Abbildungen beziehen sich auf die Anlage *REM-Aufnahmen - 15*)

Es sind nur wenige kompakt aufgebaute Agglomerate vorhanden (Abb. 2, 3, 4, 5). Diese weisen Größen zwischen 5 und 20 nm auf.

Die Basiseinheiten haben Durchmesser von 1 µm bis 10 µm (Abb. 2, 3, 4, 5, 6).

Eine Unterscheidung zwischen Basiseinheiten und Primärpartikeln ist bei dieser Probe nicht möglich.

Beurteilung der Gesamtergebnisse für Probe 15:

Die Partikelgrößenverteilung gemessen durch die Laserbeugung -

10 % < 1,9 µm

50 % < 5,6 µm

90 % < 8,9 µm

wird durch die Ergebnisse der FEREM-Untersuchung bestätigt.

Der Hauptanteil der Partikel besteht aus singular vorliegende Basiseinheiten. Partikel kleiner als 1 µm treten nur vereinzelt auf. Korngrößen kleiner als 100 nm werden nicht gefunden (Anteil gemäß Laserbeugung: < 0,02 %).

Die spezifische Oberfläche gemäß der BET-Messung beträgt 3,6 m²/g. Die Berechnung der spezifischen Oberfläche sollte bei dieser Probe gemäß der Abbildungen der FEREM-Untersuchung nicht unter der Annahme einer Kugelform sondern einer Tafelform durchgeführt werden. Bei Kantenlängen von 5 * 5 * 1 [µm³] und einer Dichte von 1,18 g/cm³ ergä-

be sich zum Beispiel eine spezifische Oberfläche von $2,4 \text{ m}^2/\text{g}$. Abweichungen bei unregelmäßig geformten Körpern sind zu erwarten.

Eine Porosität der Basiseinheiten liegt nicht vor.

Probe 16 - TiO_2 Aldrich:

(Die Verweise auf Abbildungen beziehen sich auf die Anlage *REM-Aufnahmen - 16*)

Die Abbildungen 1, 2 und 3 geben in niedriger Vergrößerung eine Übersicht über die Art der Agglomeration der Titandioxid-Partikel.

Die Abbildungen 7 und 8 zeigen zwei größere Agglomerate, die wiederholt in Luft ultraschallbehandelt wurden. Es kann somit davon ausgegangen werden, dass die in Luft dispergierten bis zu $50 \text{ }\mu\text{m}$ durchmessenden Agglomerate bei einer erneuten Ultraschallbehandlung in einem flüssigen Medium zum größten Teil zerfallen würden.

Die kugelförmigen Basiseinheiten haben Durchmesser von 80 nm bis 180 nm (Abb. 9, 10, 11).

Primärpartikel weisen Größen von 200 nm bis 400 nm auf (Abb. 10, 11).

Darüber hinaus liegen direkt nach der Ultraschallbehandlung kleine Agglomerate bis $1 \text{ }\mu\text{m}$ vor.

Beurteilung der Gesamtergebnisse für Probe 16:

Die Partikelgrößenverteilung gemessen durch die Laserbeugung -

10 % < $0,12 \text{ }\mu\text{m}$

50 % < $0,31 \text{ }\mu\text{m}$

90 % < $0,65 \text{ }\mu\text{m}$

wird durch die Ergebnisse der FEREM-Untersuchung bestätigt. Im flüssigen Medium dispergiert treten die Basiseinheiten und Primärpartikel zum großen Teil singulär auf und sind damit für den Korngrößenanteil unter 100 nm (gemäß Laserbeugung: $5,4 \%$) verantwortlich.

Die spezifische Oberfläche gemäß der BET-Messung beträgt $10 \text{ m}^2/\text{g}$. Die aus einer mittleren Größe der Basiseinheiten (150 nm) und unter der Annahme einer Kugelform und einer Dichte von $3,9 \text{ g/cm}^3$ berechnete spezifische Oberfläche beträgt ebenfalls ca. $10 \text{ m}^2/\text{g}$.

Dies würde auf eine gute Zugänglichkeit der Zwischenräume kleiner Agglomerate beziehungsweise auf einen hohen Anteil singulärer Basiseinheiten schließen lassen.

Porosität kann nicht festgestellt werden.

Probe 17 - ZrO_2 :

(Die Verweise auf Abbildungen beziehen sich auf die Anlage *REM-Aufnahmen - 17*)

Die Abbildungen 1, 2, 3, 4 und 5 geben in niedriger Vergrößerung eine Übersicht über die Art der Agglomeration der Zirkoniumdioxid-Partikel.

Die Abbildungen 7, 8, 9 und 10 lassen erkennen, dass es bei den Basiseinheiten Korngrößenhäufungen im Mikrometerbereich und im Bereich von 100 nm bis 300 nm gibt. Agglomerate bestehen meist aus einigen großen und einer Vielzahl kleiner Basiseinheiten (Abb. 7, 9). Sie erreichen Durchmesser bis zu $20 \text{ }\mu\text{m}$.

Die annähernd kugelförmigen großen Basiseinheiten haben Durchmesser von $1 \text{ }\mu\text{m}$ bis $8 \text{ }\mu\text{m}$ (Abb. 6, 7) während die kleinen Basiseinheiten Durchmesser von 80 nm bis 400 nm aufweisen (Abb. 7, 8, 9).

Primärpartikel werden nahezu ausschließlich aus kleinen Basiseinheiten aufgebaut und decken dann den Größenbereich von 200 nm bis 600 nm auf.

Beurteilung der Gesamtergebnisse für Probe 17:

Die Partikelgrößenverteilung gemessen durch die Laserbeugung -

10 % < 0,2 μm

50 % < 1,0 μm

90 % < 7,9 μm

ergibt eine Korngrößenverteilung mit 2 Maxima. Dies wird durch die Ergebnisse der FEREM-Untersuchung bestätigt. Die Agglomerate bestehen in der Regel aus wenigen großen und vielen kleinen Basiseinheiten.

Kleine Basiseinheiten und Primärpartikel treten auch singular auf und besetzen damit den Korngrößenanteil unter 100 nm (Korngrößenanteil unter 100 nm gemäß Laserbeugung: 3,9 %).

Die spezifische Oberfläche gemäß der BET-Messung beträgt 4,4 m^2/g . Unter Berücksichtigung der Größenverteilung der Basiseinheiten und unter der Annahme einer Kugelform und einer Dichte von 5,9 g/cm^3 wäre eine spezifische Oberfläche von 3 m^2/g zu erwarten gewesen. Eine Porosität der Basiseinheiten kann nicht festgestellt werden.

Probe 18 - Lungenstaub:

(Die Verweise auf Abbildungen beziehen sich auf die Anlage *REM-Aufnahmen - 18*)

Die Abbildungen 1 und 5 geben eine Übersicht über die Art der Agglomeration des Lungenstaubs.

Kompakte Agglomerate sind nur vereinzelt sichtbar. Die Unterscheidung zwischen Basiseinheiten und Primärpartikel ist bei dieser Probe nicht sinnvoll. Über 90 % der Partikel liegen als Basiseinheiten vor (Abb. 2, 8, 9). Die Basiseinheiten werden im Folgenden daher auch als Partikel bezeichnet.

Die Basiseinheiten sind kristalliner Art und meist von flacher, scharfkantiger Ausprägung. Sie weisen Durchmesser von 0,05 μm bis ca. 20 μm auf. Gemäß der Abbildungen 6 und 7 haben über 70 % der Partikel Durchmesser von 1 μm bis 5 μm während ca. 25 % der Partikel kleiner als 1 μm sind. Der Anteil größerer Partikel (Durchmesser: > 5 μm) liegt unter 5 %.

Elementaranalysen auf einzelnen Partikeln mit kristalliner Ausprägung zeigen die Elemente C, O, Al, Si und in geringer Konzentration Na, K, S und manchmal Cl (EDX 1, 2, 5, 6). Die kristallinen Partikel bestehen somit vorwiegend aus Alumosilikaten.

Einige größere Agglomerate weisen hauptsächlich C und als Nebenbestandteile O, Al und Si auf (Abb. 3; EDX 3, 4). Die Agglomerate besitzen möglicherweise Kohlenstoffkerne mit angelagerten kleinen Silikatpartikeln.

Beurteilung der Gesamtergebnisse für Probe 18:

Die Partikelgrößenverteilung gemessen durch die Laserbeugung -

10 % < 0,3 μm

50 % < 2,0 μm

90 % < 4,4 μm

wird durch die Ergebnisse der FEREM-Untersuchung bestätigt. Die Probe besteht hauptsächlich aus singular auftretenden Basiseinheiten stark unterschiedlicher Größe.

Kleinste Partikel haben Durchmesser von 40 nm bis 100 nm (Korngrößenanteil unter 100 nm gemäß Laserbeugung: 2,2 %).

Die spezifische Oberfläche gemäß der BET-Messung beträgt $12 \text{ m}^2/\text{g}$. Die Berechnung einer spezifischen Oberfläche unter Berücksichtigung der Größenverteilung der Partikel kann unter der Annahme einer Tafelform und einer Dichte von $1,5 \text{ g/cm}^3$ durchgeführt werden. Da speziell die kleinen Partikel einen erheblichen Anteil an der BET-Oberfläche haben, soll für die Berechnung von einer Korngrößenverteilung ausgegangen werden, die für jeweils 2 % der Partikel die Kantenlängenstufung von $0,05 \text{ }\mu\text{m}$, $0,10 \text{ }\mu\text{m}$, $0,15 \text{ }\mu\text{m}$, $0,20 \text{ }\mu\text{m}$ und $0,25 \text{ }\mu\text{m}$ voraussetzt. Dies kann aus den Laserbeugungsergebnissen geschlossen werden und ergäbe eine spezifische Oberfläche von ca. $6 \text{ m}^2/\text{g}$. Etwa $3 \text{ m}^2/\text{g}$ kommen durch die restlichen 90 % der Partikel hinzu.

In grober Näherung ist der gemessene BET-Wert auf diese Weise nachvollziehbar.

Eine Porosität der Partikel kann nicht festgestellt werden.

Probe 20 - Quarz F600:

(Die Verweise auf Abbildungen beziehen sich auf die Anlage *REM-Aufnahmen - 20*)

Die Abbildungen 1, 2, 3 und 4 geben in niedriger Vergrößerung eine Übersicht über die Art der Agglomeration der Quarz-Partikel.

Es werden nur vereinzelt größere Agglomerate mit Durchmessern über $10 \text{ }\mu\text{m}$ beobachtet. Kleinere Agglomerate bestehen meist aus wenigen Partikeln mit Durchmessern im Mikrometerbereich und vielen kleinen Partikeln unter $0,5 \text{ }\mu\text{m}$ (Abb. 5, 7). Diese kleinen Agglomerate haben Durchmesser von $5 \text{ }\mu\text{m}$ bis $10 \text{ }\mu\text{m}$.

Wie bei der Probe 18 wird auch in diesem Fall auf eine Unterscheidung zwischen Basiseinheiten und Primärpartikel verzichtet. Die Basiseinheiten werden im Folgenden daher auch als Partikel bezeichnet.

Die Partikel sind kristallin, unregelmäßig geformt und von scharfer Kantenausprägung (Abb. 5, 6, 7). Sie haben Durchmesser von $0,08 \text{ }\mu\text{m}$ bis $4 \text{ }\mu\text{m}$ (Abb. 5, 6, 7).

Beurteilung der Gesamtergebnisse für Probe 20:

Die Partikelgrößenverteilung gemessen durch die Laserbeugung -

10 %	<	0,8	μm
50 %	<	2,7	μm
90 %	<	7,8	μm

wird durch die Ergebnisse der FEREM-Untersuchung bestätigt. Die Probe besteht wie die Probe 18 vorwiegend aus singularär auftretenden Basiseinheiten. Ihre Größen variieren von $0,08 \text{ }\mu\text{m}$ bis $4 \text{ }\mu\text{m}$.

Die spezifische Oberfläche gemäß der BET-Messung beträgt $7 \text{ m}^2/\text{g}$. Unter der Annahme einer Tafelform mit rechteckiger Basisfläche und einer Höhe von 25 % der Flächenlänge kann eine spezifische Oberfläche von $3 \text{ m}^2/\text{g}$ berechnet werden. Die Diskrepanz zwischen dem gemessenen und dem berechneten BET-Wert ist vor allem auf die Unregelmäßigkeit der Partikelform und die damit verbundene starke Vereinfachung der Berechnungsgrundlage zurückzuführen.

Eine Porosität der Partikel kann nicht festgestellt werden.

Zusammenfassung von Teil 2

Die Kohlenstoffproben (Nr. 7, 8, 12A, 12B), die Aluminiumoxid beziehungsweise Aluminiumsilikatproben (Nr. 9, 10) und die Titandioxid- und Zirkondioxidproben (Nr. 13, 16, 17) sind aus Basiseinheiten mit einer angenäherten Kugelform aufgebaut. Die Basiseinheiten dieser Proben haben Durchmesser von 50 nm bis ca. 100 nm . Die Gesamtheit der Partikel dieser

Proben besteht aus Basiseinheiten, aus Primärpartikeln, die aus einigen Basiseinheiten aufgebaut sind, und aus größeren Agglomeraten.

Kaolin (Nr. 11) ist ein Schichtsilikat. Entsprechend besitzen diese Partikel eine tafelförmige Gestalt.

Der Toner (Nr. 15) besteht aus relativ großen Partikeln im Mikrometerbereich. Es wird keine Unterscheidung zwischen Basiseinheiten und Primärpartikel vorgenommen. Agglomeratbildung wird kaum beobachtet. Die Partikel haben unregelmäßiges, annähernd tafelförmiges Aussehen.

Der Lungenstaub (Nr. 18) und die Quarzprobe (Nr. 20) sind von ihrer Erscheinungsform sehr ähnlich. Beide Proben bilden kristalline scharfkantige Körper aus. Auch bei diesen Proben wird nicht zwischen Basiseinheiten und Primärpartikel unterschieden. Es werden wenige vorwiegend kleine Agglomerate ausgebildet.

Die Proben 8, 9, 10, 12 und 13 besitzen wahrscheinlich eine ausgeprägte Porosität. Dies kann aus der Korrelation der Gesamtergebnisse geschlossen werden.

Anlagen

Tabellen, Bild- und Spektrendokumentationen.

Tabelle 1

Dichtebestimmung: Der Ist-Wert gibt den Mittelwert aus der entsprechenden Anzahl von Einzelmessungen an; Ist die Standardabweichung größer als 0,002, werden 10 statt 4 Einzelmessungen durchgeführt.

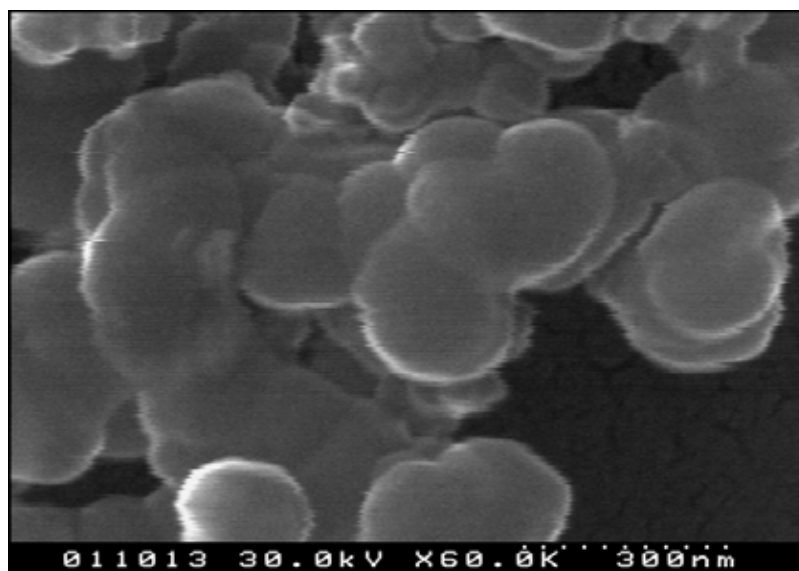
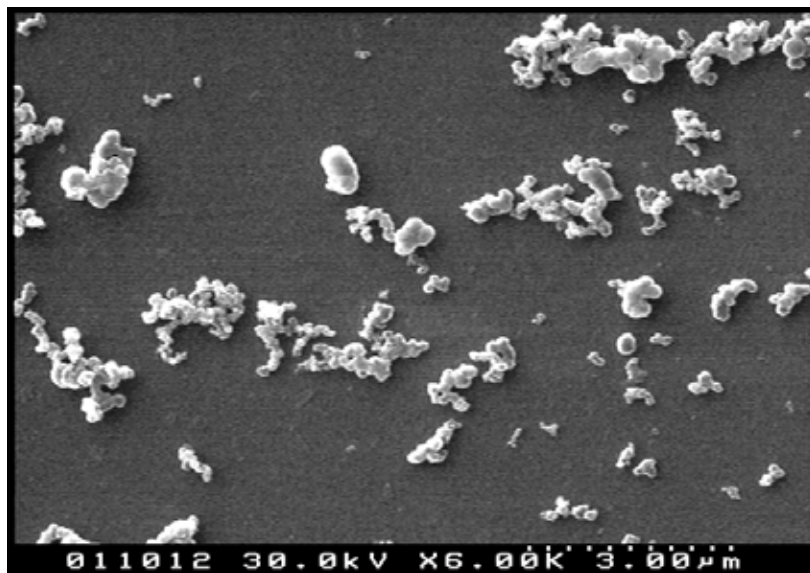
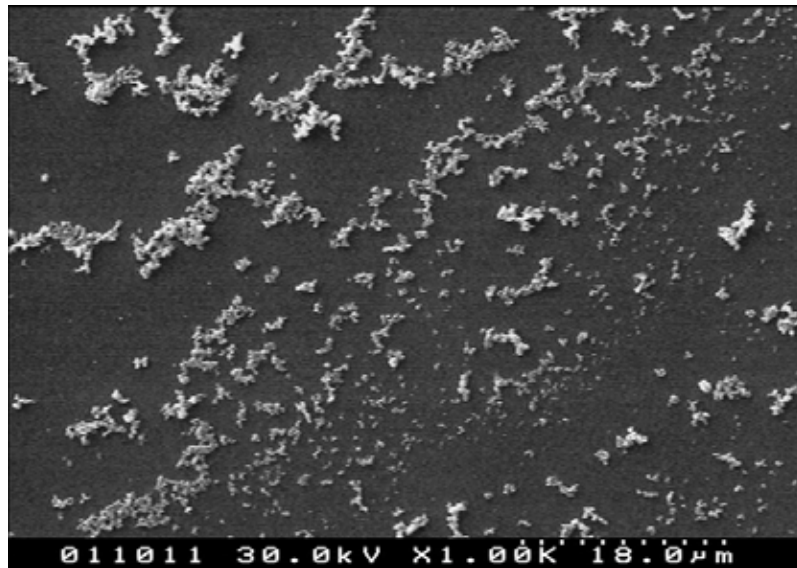
BET-Messung: Bei der 1-Punkt-BET-Messung wird die Affinität des Stickstoffs zur Probe nicht berücksichtigt. Dies kann zu Fehlern in der Größenordnung von 20 % führen.

Partikelgrößen-Verteilung: Die Angaben in der Spalte „Durchmesser 10 %“ bedeuten, dass 10 % der Partikel der jeweiligen Proben einen Durchmesser aufweisen, der kleiner als der angegebene Wert ist. Entsprechendes gilt für die übrigen Spalten dieser Art. Die Spalte „Korngröße < 100 nm“ gibt den Anteil der Partikel in [%] an, deren Durchmesser kleiner als 100 nm ist.

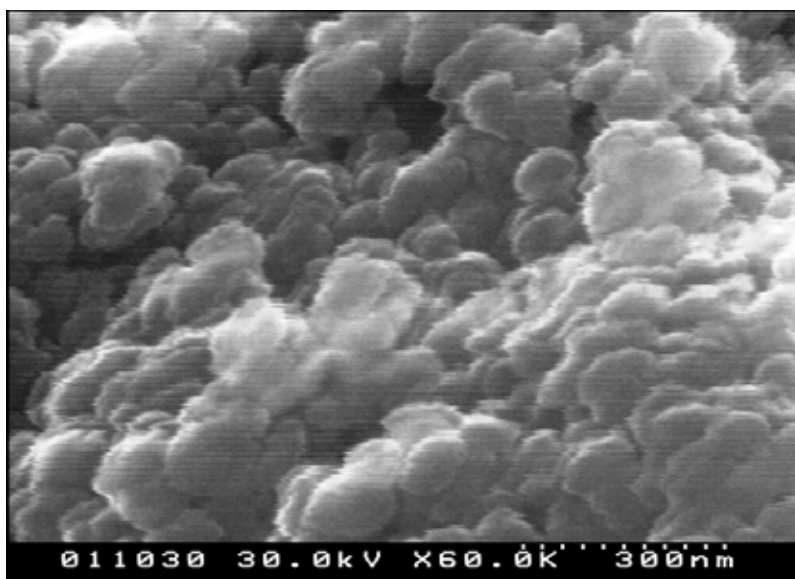
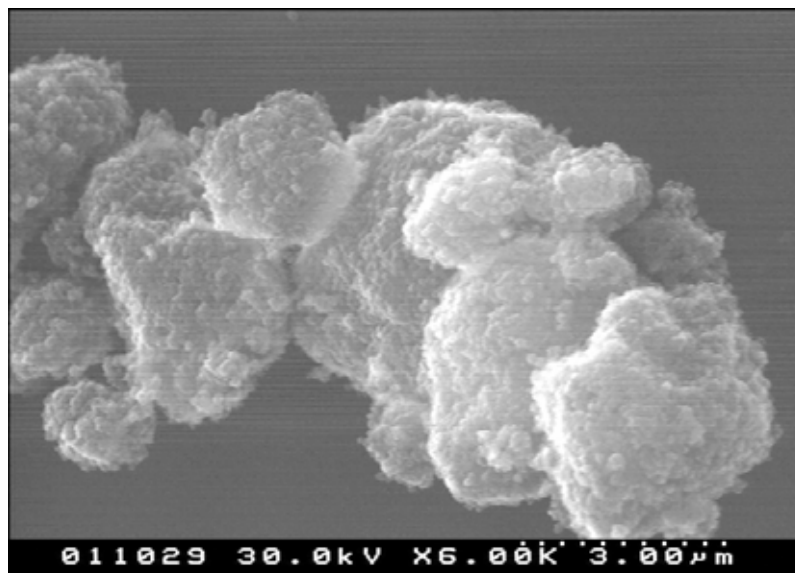
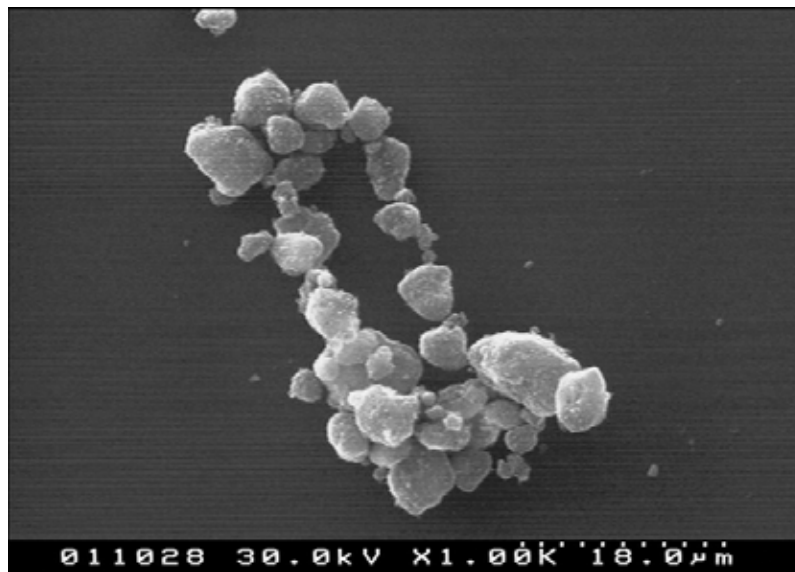
Lfd. Nr.	Stoffbezeichnung	Dichte			1-Punkt-BET	Partikelgrößen-Verteilung					
		Ist-Wert [g/cm ³]	Anz. Mess	Standardabw. [g/cm ³]		Ist-Wert [m ² /g]	Durchmesser	Durchmesser	Durchmesser	Durchmesser	Korngröße < 100 nm [%]
							10 % [µm]	50 % [µm]	90 % [µm]	100 % [µm]	
1	Magerkohle				4,1	0,82	3,70	8,43	15,00	0,63	
2	Untere Fettkohle				9,9	0,59	1,72	3,46	10,00	1,49	
3	Fettkohle				6,4	0,69	3,09	7,53	18,00	0,87	
4	Gasflammkohle				10,9	0,61	2,40	5,54	12,00	0,84	
5	Gestein				17,6	0,84	2,66	5,75	12,00	1,01	
6	Quarz DQ12				8,8	0,57	1,28	2,86	8,00	0,30	
7	Flammruß 101				18,4	0,73	4,31	12,53	23,00	0,61	
8	Fumaceruß P90				336,6	2,86	11,91	54,70	180,00	<0,02	
9	Aluminiumoxid C				123,5	0,67	3,50	13,67	36,00	1,28	
10	Aluminiumsilikat P820				62,9	2,28	7,24	14,40	23,00	<0,02	
11	Kaolin	2,8441	4	0,0003	19,0	0,47	2,36	6,31	15,00	1,65	
12a	Dieseluß nativ	1,8727	10	0,0045	12,9	0,77	3,60	18,00	56,00	0,85	
12b	Dieseluß extrahiert	1,8976	10	0,0093	34,5	0,68	3,12	12,05	35,00	1,04	
13	TiO ₂ P25, hydrophil				52,0	0,32	2,07	5,14	12,00	1,84	
14	TiO ₂ P805, hydrophob				32,5						
15	Toner (org.)	1,1835	10	0,0012	3,6	1,93	5,63	8,94	15,00	<0,02	
16	TiO ₂ Aldrich				9,9	0,12	0,31	0,65	1,60	5,44	
17	ZrO ₂				4,4	0,18	1,04	7,90	15,00	3,88	
18	Lungenstaub	1,5263	10	0,0017	12,2	0,29	1,99	4,36	10,00	2,20	
19	Amorphe Kieselsäure				209,9						
20	Quarz F600				7,3	0,84	2,66	7,83	18,00	0,31	
21	Quarz Min-U-Sil 15				1,9						

Ausgewählte rasterelektronenmikroskopische Abbildungen von Staubproben

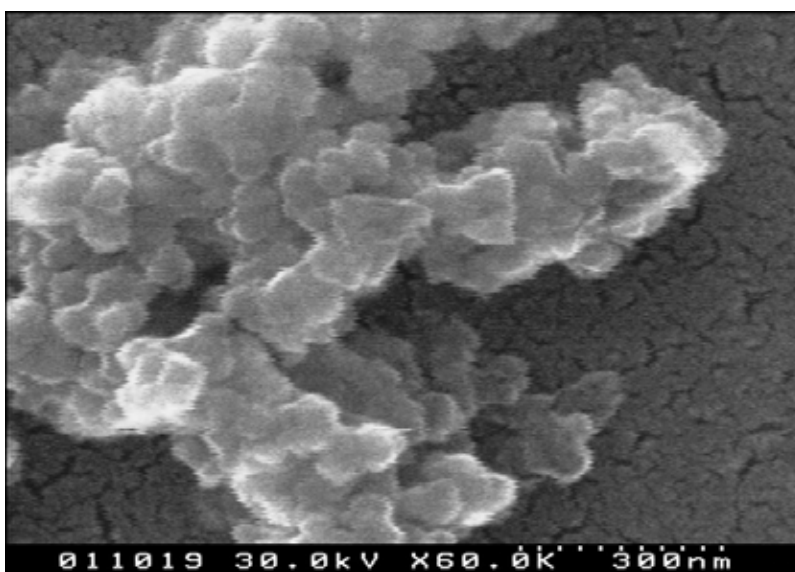
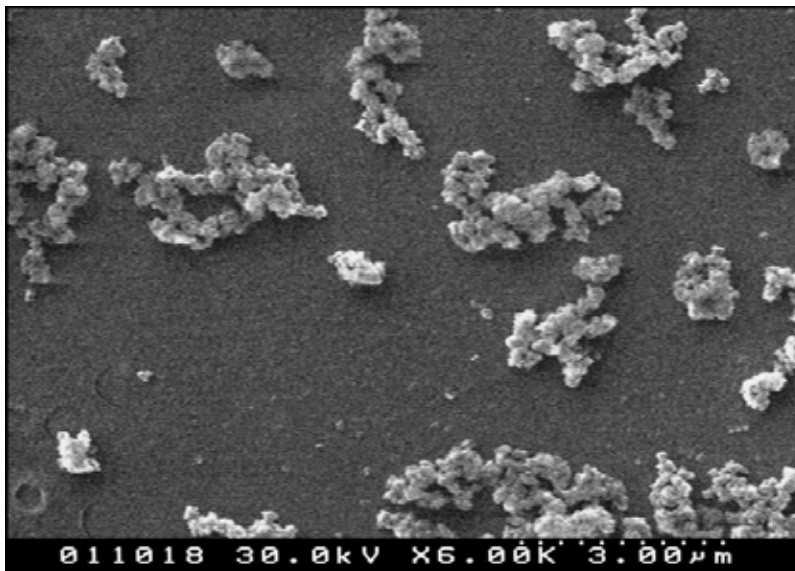
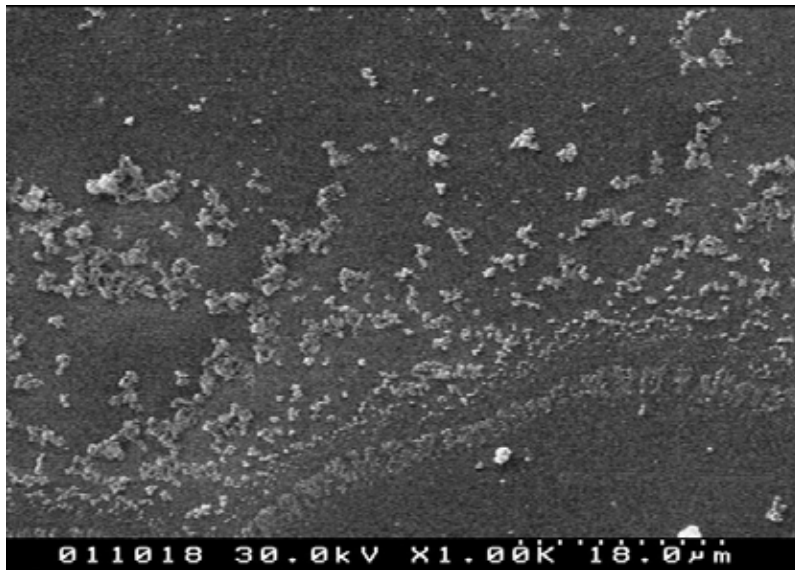
Flammruß 101



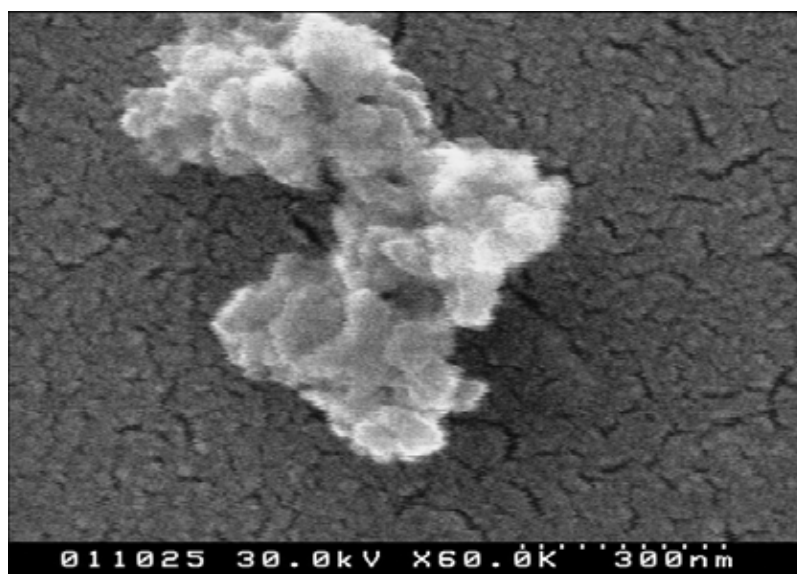
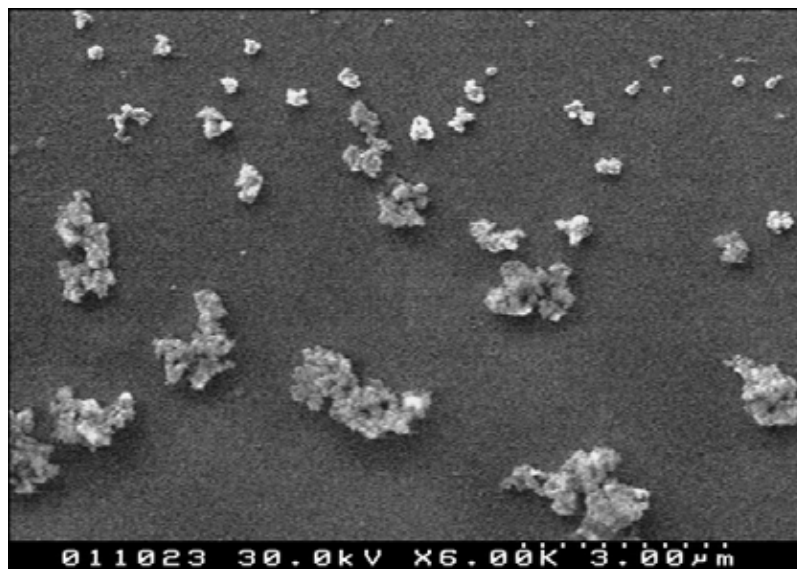
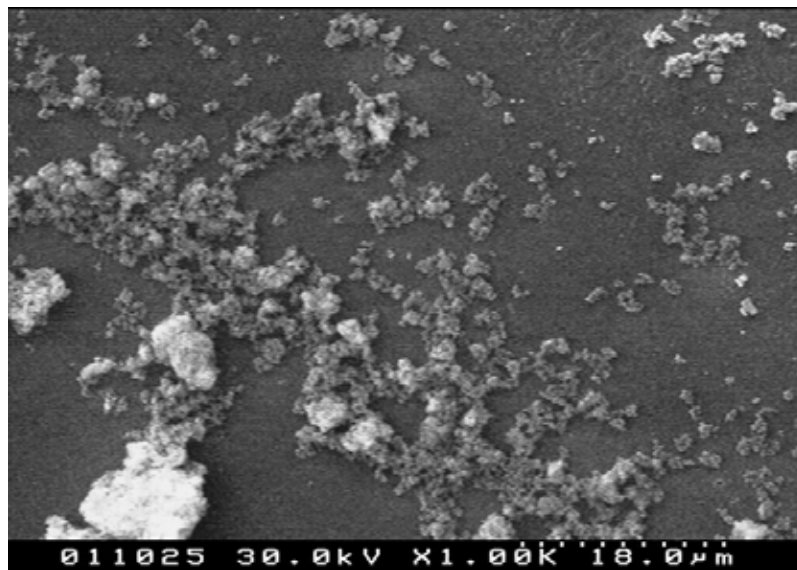
Furnaceruß P90



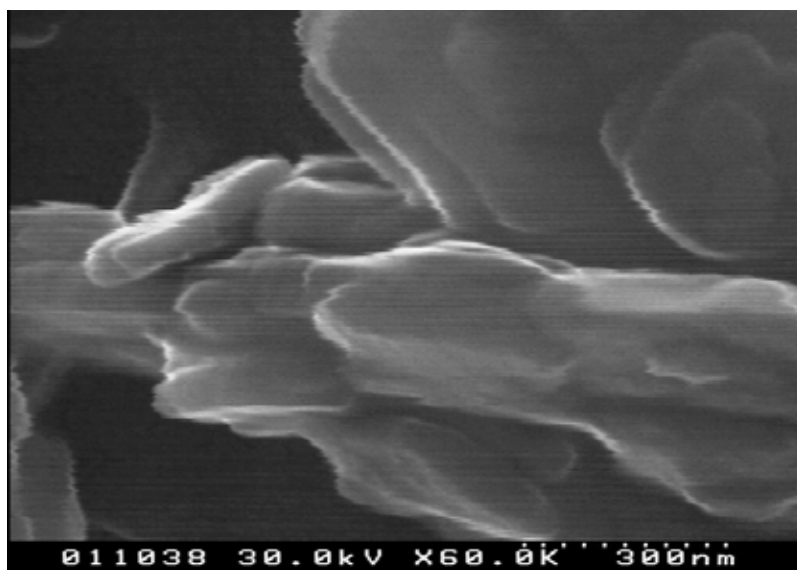
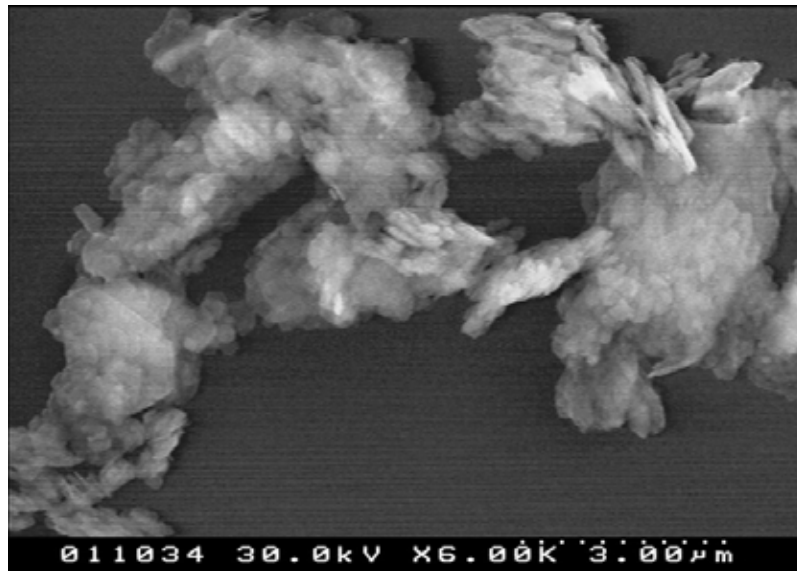
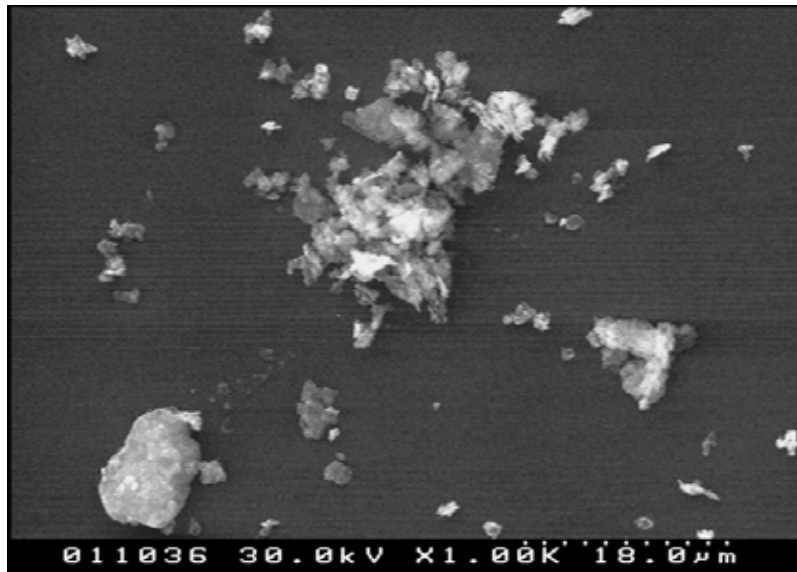
Aluminiumoxid-C



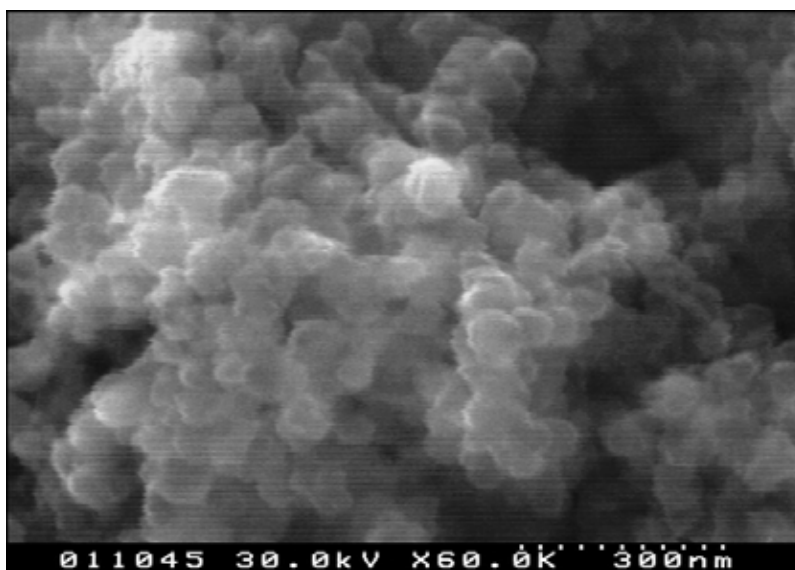
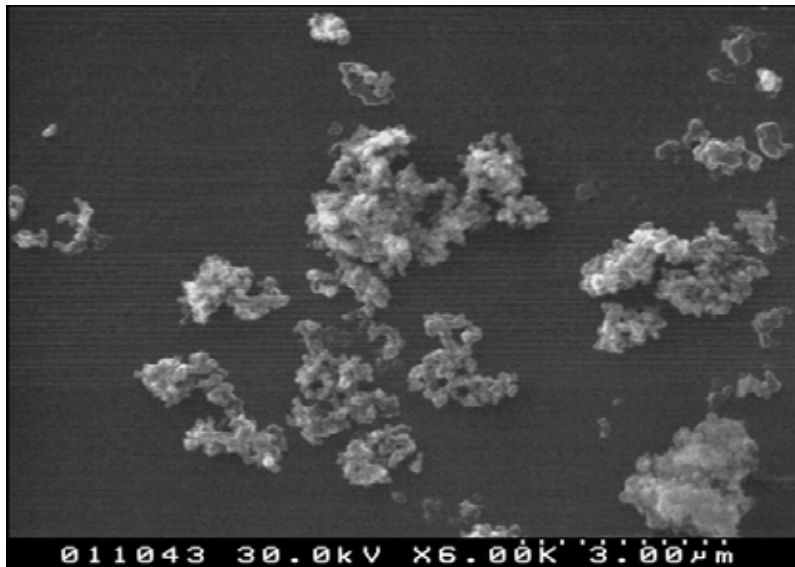
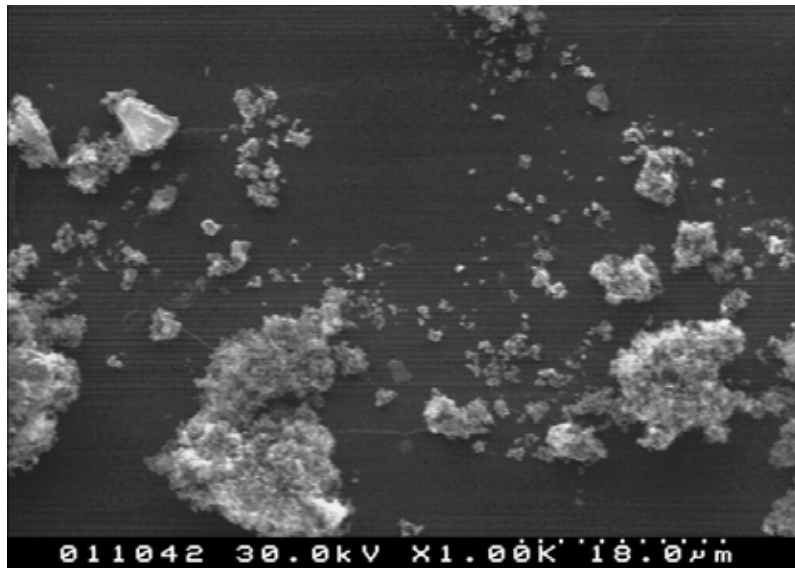
Aluminiumsilikat - P820



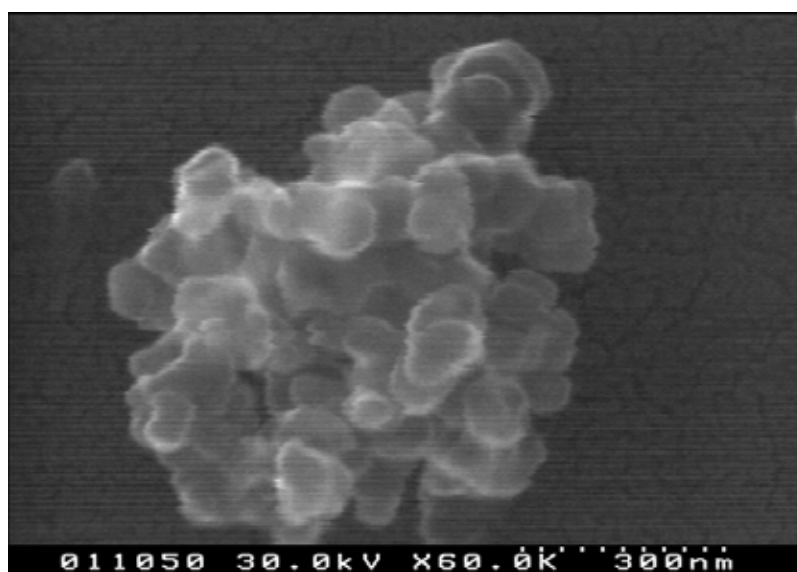
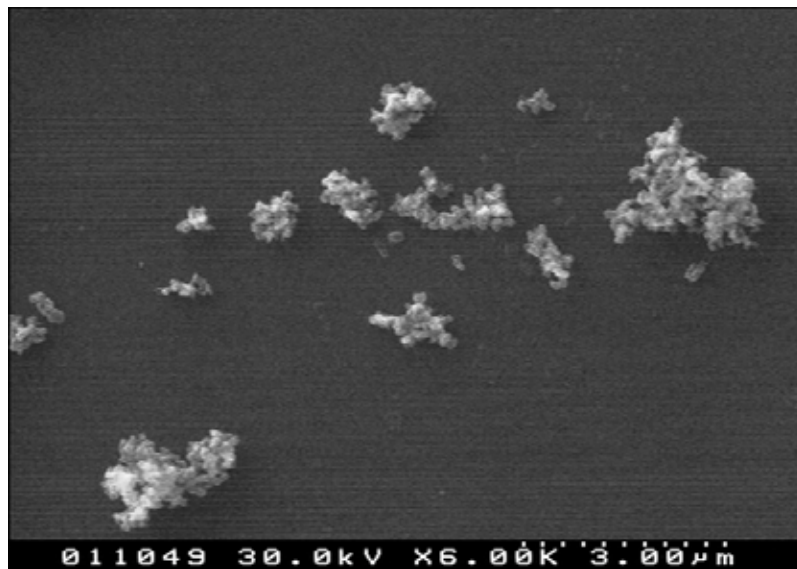
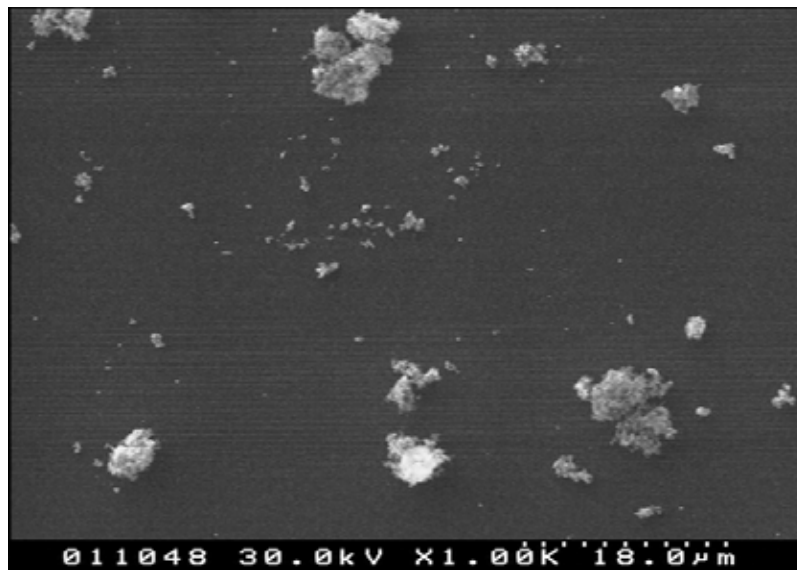
Kaolin



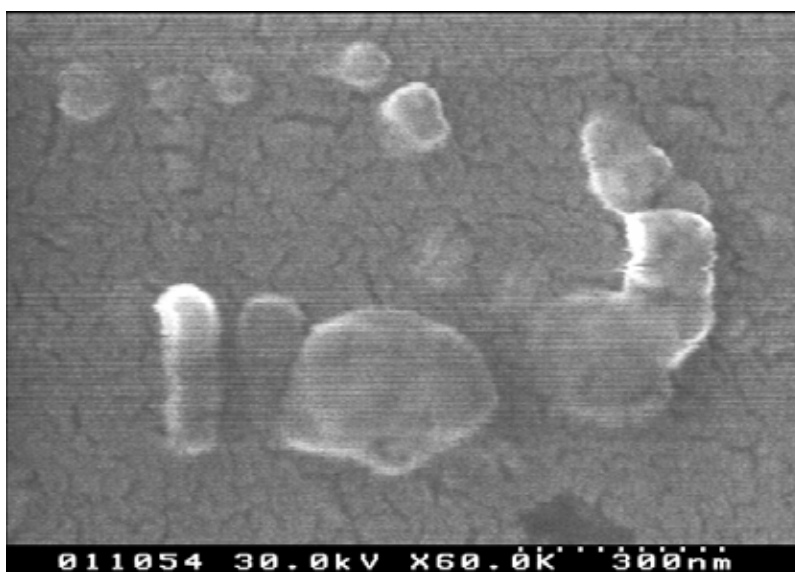
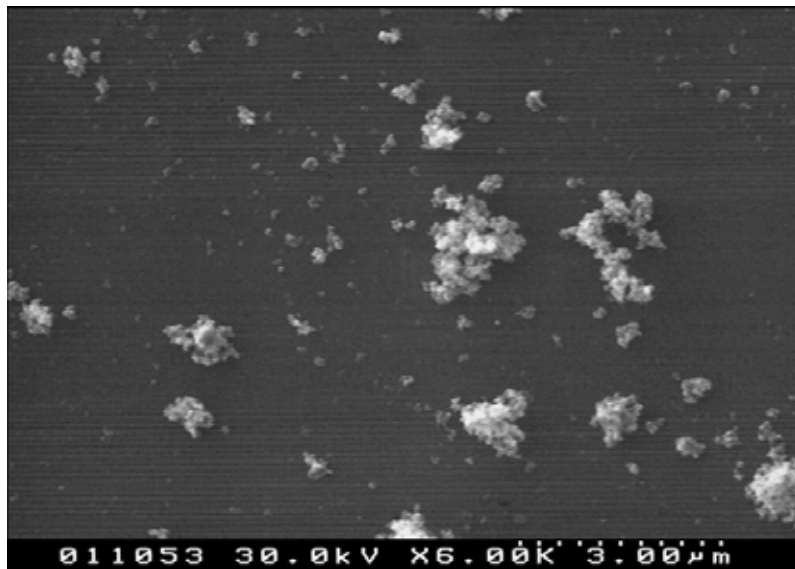
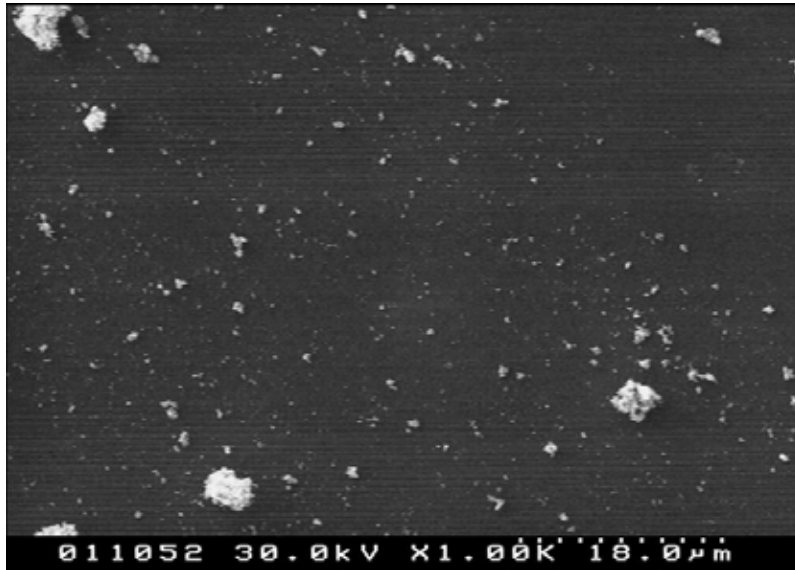
Dieselruß - nativ



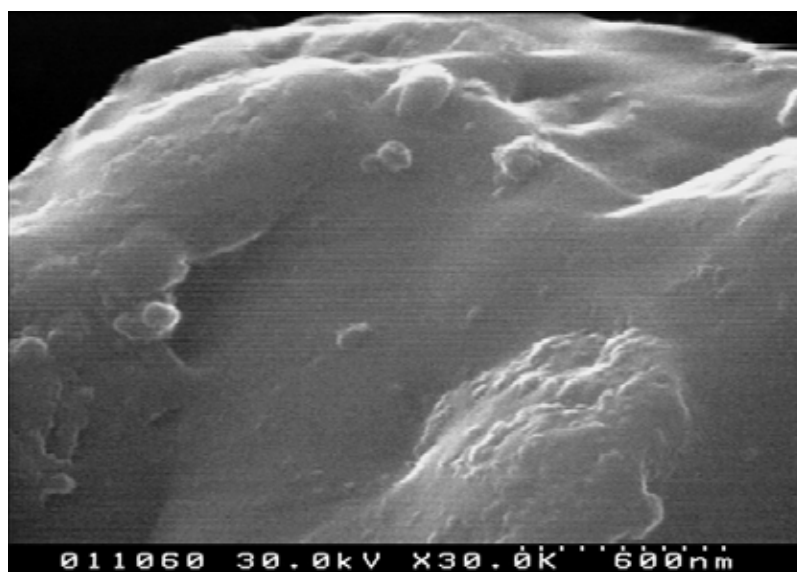
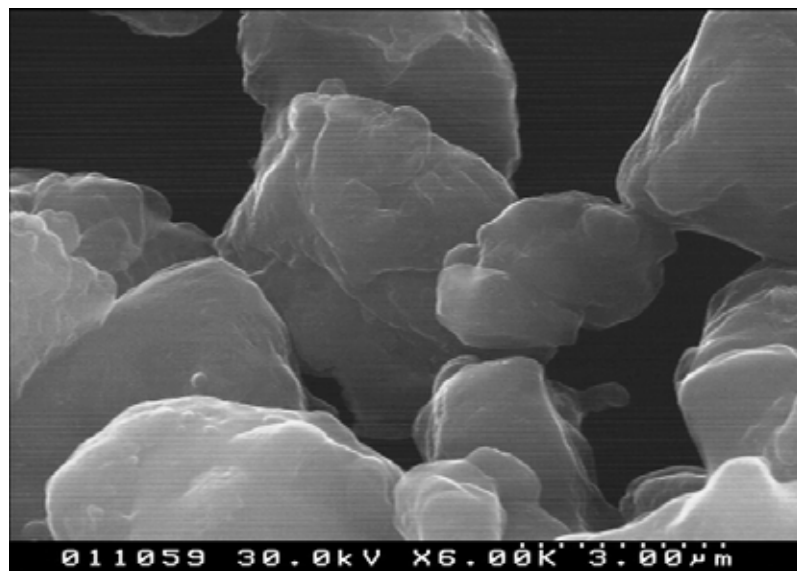
Dieselruß - extrahiert



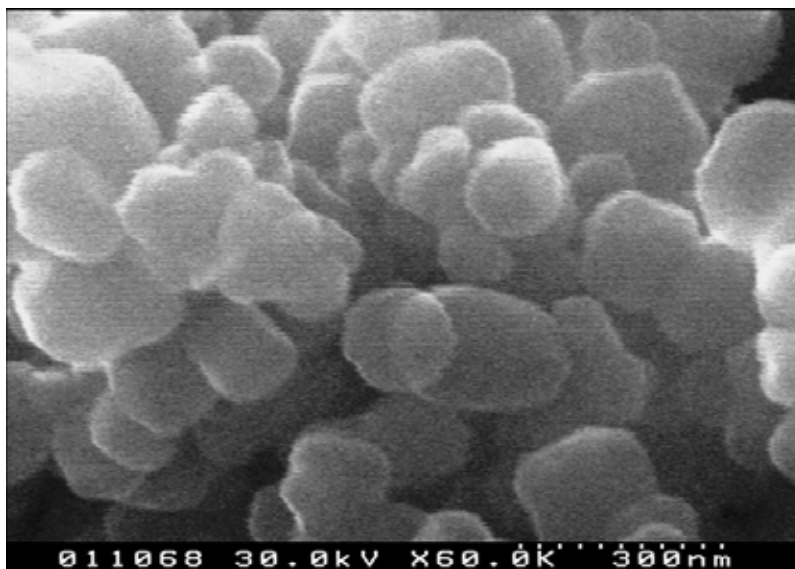
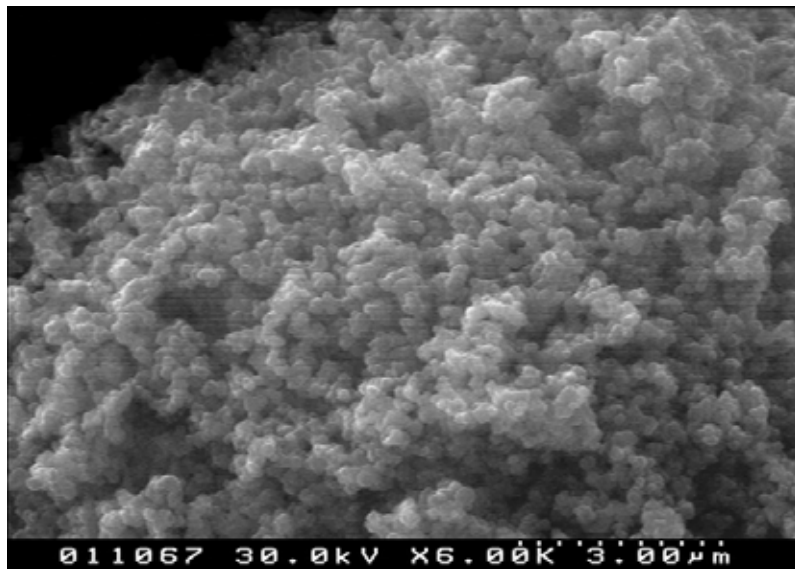
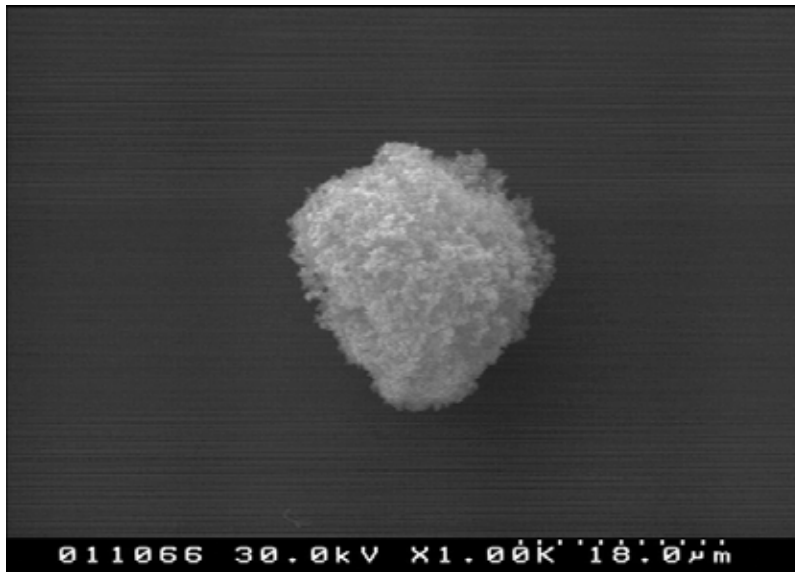
Titandioxid - P25



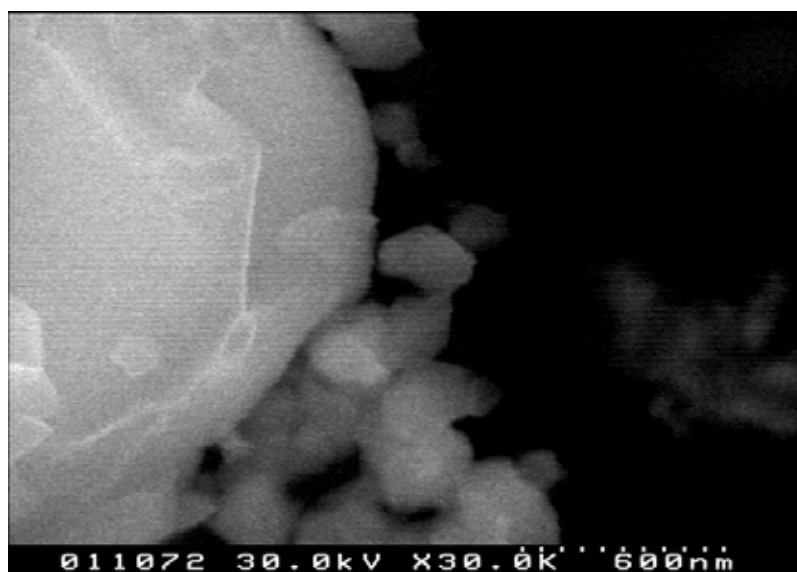
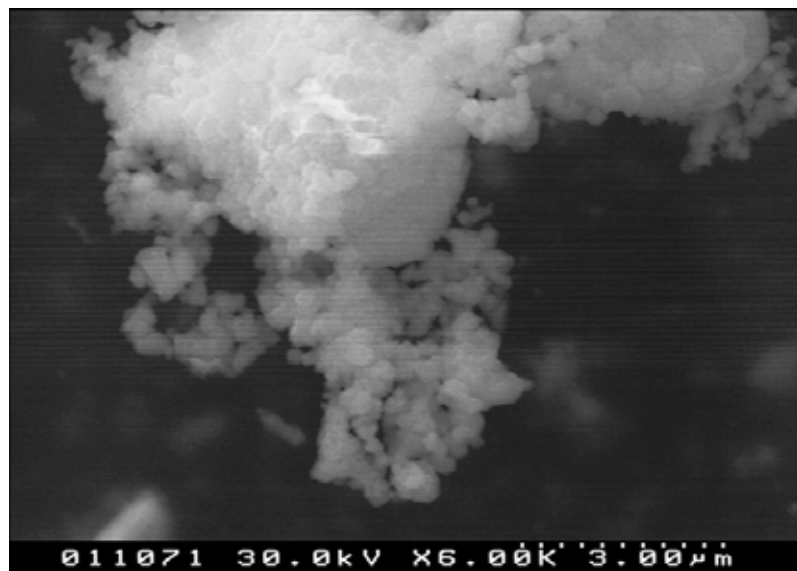
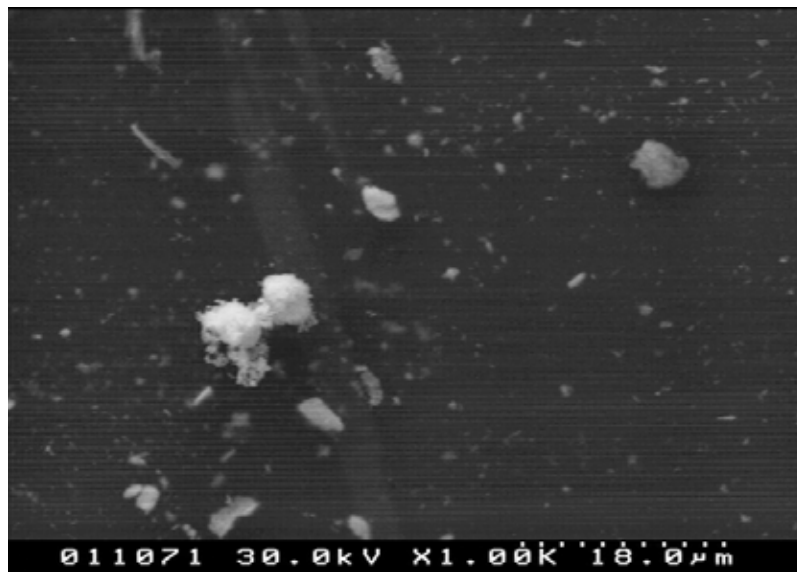
Toner



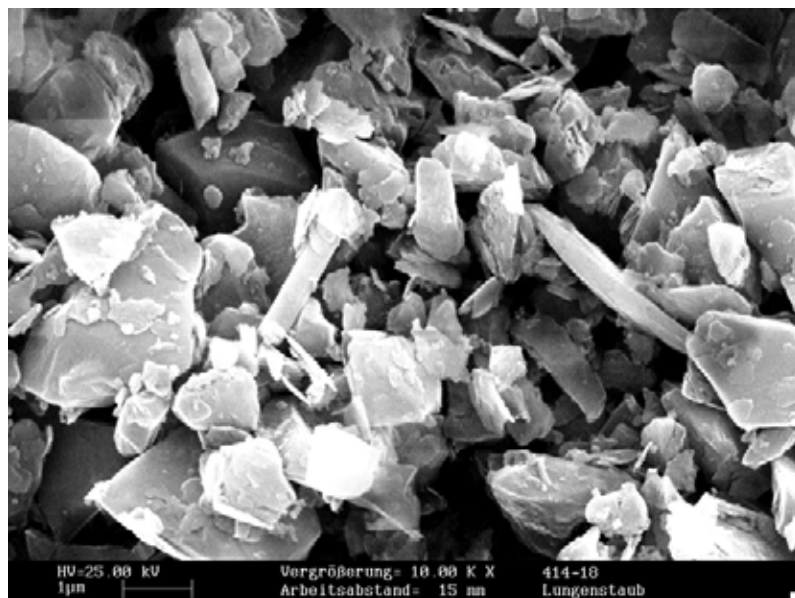
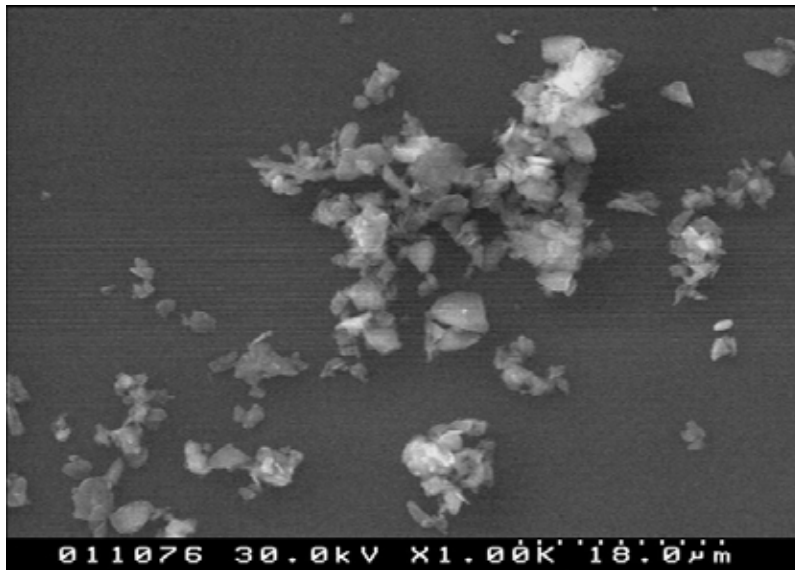
Titandioxid - Aldrich



Zirkonoxid

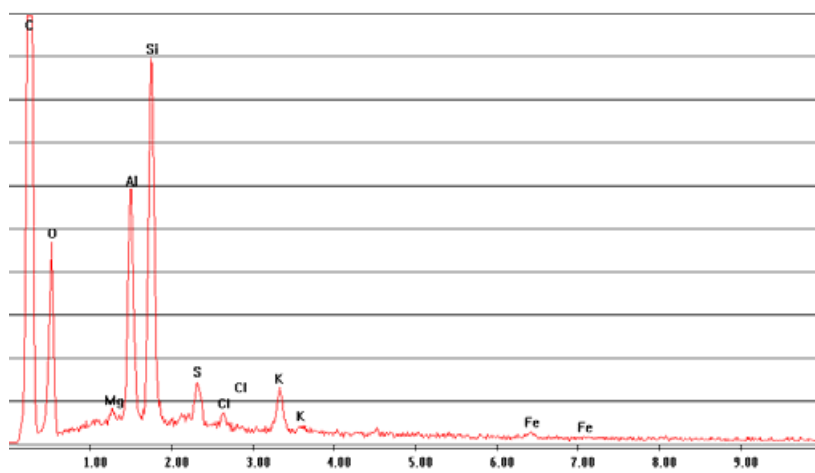


Lungenstaub



H:_Rem\Original\Vorübergehend\414_10E1.spc

Label A: 414-10



Quarz F600

