

**Ausgabe: November 2012**

Stand: Mai 2012

## **Benzol**

**(CAS-Nr.: 71-43-2)**

---

### 1. ERB (Exposition-Risiko-Beziehung)

**Toleranzrisiko (4:1000): 1,9 mg/m<sup>3</sup> (0,6 ppm)**

**Akzeptanzrisiko (4:10000 bis 2013): 0,2 mg/m<sup>3</sup> (0,06 ppm)**

**Akzeptanzrisiko (4:100000 nach 2013, spätestens 2018): 0,02 mg/m<sup>3</sup> (0,006 ppm)**

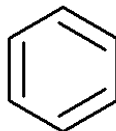
Ein Risiko für das Auftreten nichtbösartiger adverser Effekte (insbesondere immunologischer und hämatologischer Veränderungen) ist auch bei Konzentrationen von  $\leq 1,9 \text{ mg/m}^3$  nicht sicher ausschließbar, jedoch auch nicht mit hinreichender Wahrscheinlichkeit anzunehmen. Damit richtet sich die Expositionsbegrenzung quantitativ an der Risikoabschätzung für bösartige Erkrankungen aus.

### 2. Stoffcharakterisierung

Summenformel:

C<sub>6</sub>H<sub>6</sub>

Strukturformel:



Molekulargewicht:

78,11 g/ Mol

CAS-Nr.:

71-43-2

Schmelzpunkt:

5,5°C

Siedepunkt:

80,1°C

Wasserlöslichkeit:

1,8 g/l bei 25°C

Verteilungskoeffizient (log P<sub>OW</sub>):

2,13

Umrechnungsfaktoren:

1 ppm = 3,25 mg/m<sup>3</sup>1 mg/m<sup>3</sup> = 0,31 ppm

Einstufung nach Verordnung (EG) Nr. 1272/2008 (EC, 2008) Anhang I, Tabelle 3-1:

Flam. Liq. 2	H225
Carc. 1A	H350
Muta. 1B	H340
STOT RE 1	H372 **
Asp. Tox. 1	H304
Eye Irrit. 2	H319
Skin Irrit. 2	H315

Einstufung nach Verordnung (EG) Nr. 1272/2008 (CLP), Anhang I, Tabelle 3-2:

Carc. Cat. 1	R45
Muta. Cat. 2	R46
T	R48/23/24/25
Xn	R65
Xi	R36/38

Nach IARC wird deren Einstufung von Benzol in Gruppe 1 („The agent is carcinogenic to humans“) bestätigt mit „sufficient evidence“ für ANLL (akute nonlymphatische Leukämie) und „limited evidence“ für ALL (akute lymphatische Leukämie), CLL (chronische lymphatische Leukämie), MM („multiple Myeloma“) und NHL (Non Hodgkin Lymphom“) (Baan et al., 2009).

### 3. Einleitung

Benzol ist bei Raumtemperatur eine farblose, flüchtige Flüssigkeit von aromatischem Geruch. Die Substanz ist ein Bestandteil von Erdöl und wird hauptsächlich durch Raffinerieprozesse aus Erdölfraktionen (steam cracking, Dealkylierung, katalytische Reaktionen) sowie aus Kokereiprodukten gewonnen. Hauptverwendungszweck ist die Herstellung anderer Aromaten (Ethylbenzol, Cumol, Cyclohexan, Nitrobenzol u.a.) sowie als Treibstoffkomponente. In geringerem Umfang findet es auch Verwendung als Laborreagens und Lösungsmittel.

Benzol wirkt akut dämpfend auf das Zentralnervensystem und reizend, bei Verschlucken können durch Aspiration Lungenödeme und –hämorrhagien verursacht werden. Bei wiederholter Exposition kann Benzol vor allem das blutbildende System und das Immunsystem (z.B. Knochenmarksveränderungen, Leukozytopenie, Thrombozytopenie, aplastische Anämie mit Panzytopenie) schädigen und wirkt krebserzeugend. Beim Menschen verursacht Benzolexposition hauptsächlich Leukämien. Es liegen Hinweise auf mögliche andere Krebslokalisationen vor. In Tieren ist es ein pluripotentes Kanzerogen mit relativ schwacher leukämogener Wirkung.

Hinsichtlich des Wirkungsmechanismus bzw. der Wirkungsmechanismen der Kanzerogenese bestehen noch große Unsicherheiten. Es werden eine schwache

primäre sowie eine ausgeprägte sekundäre gentoxische Wirkung, vermutlich in Verbindung mit weiteren, nichtgentoxischen Effekten diskutiert.

Eine ausführlichere Beschreibung relevanter toxikologischer Studien befindet sich z.B. in ATSDR (2007), ECB (2008), EPA (1998; 2002); Greim (2002), Roller et al. (2006) oder WHO (2000). Die folgende Darstellung konzentriert sich auf die für die Ableitung einer ERB maßgeblichen Studien. Der Sachstand berücksichtigt die Ergebnisse des Benzol-Symposiums in München im Oktober 2009 (Bird et al., 2010; Bolt et al., 2010).

#### 4. Toxikokinetik/Metabolismus

Die im folgenden Abschnitt berichteten Daten wurden, wenn nicht anders vermerkt, aus folgenden Übersichtsarbeiten zusammengestellt: ATSDR (2007); BMAS (2007); ECB (2008); EPA (2002); Modjtahedi et al. (2008); Pyatt (2004); Snyder (2007).

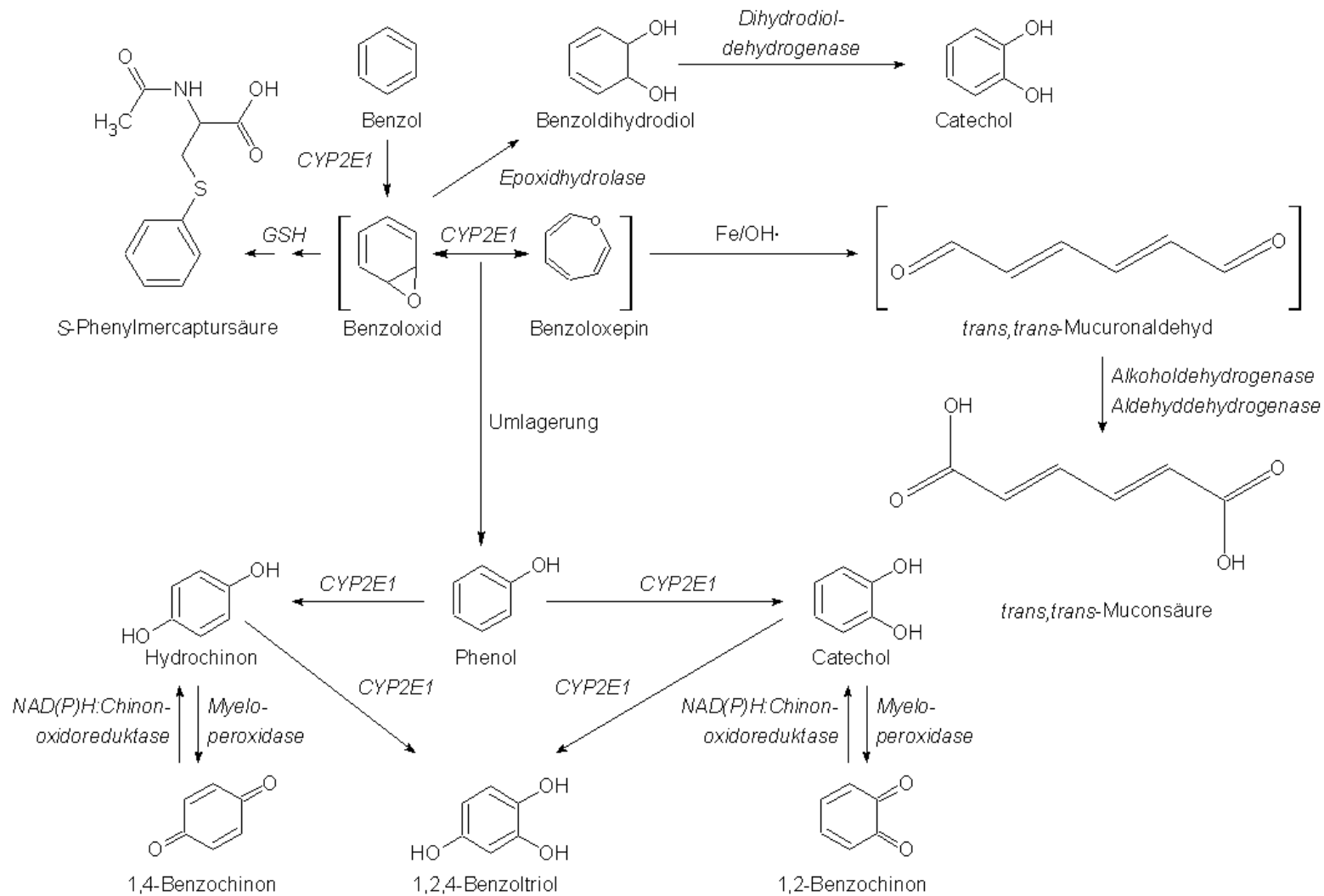
Benzol wird inhalativ, oral und über die Haut gut resorbiert. Die inhalative Resorptionsquote bei Mensch und Tier liegt bei längerer Exposition bei ca. 50% (initial bis zu 80%), bei oraler Exposition ist die Aufnahme nahezu vollständig. Es wurde abgeschätzt, dass bei luftbürtiger Belastung des Menschen die Aufnahme durch die Haut bis zu 4% der inhalativ aufgenommenen Menge beträgt. Bei nicht okklusivem Hautkontakt mit benzolhaltigen Flüssigkeiten werden aufgrund der hohen Flüchtigkeit nur  $\leq 1\%$  perkutan resorbiert.

Benzol wird im Organismus durch Cytochrom P450 2E1 (vornehmlich in der Leber, aber auch in anderen Organen) zunächst zum Benzolepoxid oxidiert. Dieses kann weiter zu Phenol reagieren, aus welchem Sulfat- und Glukuronidkonjugate gebildet werden. Aus Phenol können durch weitere Oxidation die Metaboliten Catechol (1,2-Hydroxybenzol), Hydrochinon oder auch Triole (1,2,4-Trihydroxybenzol) und deren Folgeprodukte (Konjugate sowie Chinone und deren Konjugate) entstehen, wobei der Myeloperoxidase wegen seiner hohen Aktivität in Leukozyten bei der Bildung der Chinonderivate eine wichtige Rolle zukommt. Allerdings können Flavoenzyme auch Reduktionen der Chinone zu den Diolen bewirken. Benzolepoxid kann auch durch Glutathionkonjugation zur S-Phenylmercaptursäure metabolisiert werden. Als weiterer Reaktionsschritt kann unter Ringöffnung aus dem Epoxid (vermutlich über den entsprechenden Aldehyd) trans-, trans-Muconsäure gebildet werden (Golding et al., 2010). Verschiedene dieser Metaboliten beeinflussen gegenseitig ihren Stoffwechsel. Speziell bei niedriger Exposition ist die Bildung von trans-, trans-Muconsäure und Hydrochinon sowie deren Folgeprodukte prozentual höher als bei stärkerer Exposition. Bei niedriger Exposition erfolgt die Ausscheidung unabhängig vom Aufnahmepfad überwiegend mit dem Urin (Phenolkonjugate, trans-, trans-Muconsäure, Phenylmercaptursäure), mit zunehmender Belastung steigt die Abatmung von nicht metabolisierter Muttersubstanz. Rappaport et al. (2005) postulieren aufgrund der Befunde zur Häufigkeit von Serumalbuminaddukten bei unterschiedlichen Konzentrationen nach Humanexposition eine Sättigung des Metabolismus oberhalb von 50 ppm, welche den toxischen Effekt von Metaboliten bei Expositionsspitzen abschwächen sollten.

In Untersuchungen von Rappaport et al. (2009) und Rappaport et al. (2010) wurde bei einer Untersuchung von 263 Frauen gezeigt, dass die Kinetik der Ausscheidung von Benzol-metaboliten nach inhalativer Exposition am ehesten mit dem Vorliegen von 2 Stoffwechsel-pfaden unterschiedlicher Affinität in Einklang zu bringen ist. Der

niedrig-affine Pfad entspricht dem Stoffwechsel durch CYP2E1 und ist vor allem bei höheren Konzentrationen relevant, während ein zusätzlicher, bislang nicht identifizierter, hoch-affiner Pfad speziell bei niedrigen Konzentrationen relevant für den Metabolismus scheint, der jedoch nur eine sehr beschränkte Kapazität besitzt. Das abgeleitete Modell weist speziell im niedrigen Expositionsbereich unter 1 ppm eine höhere Metabolisierungsrate (ca. 3-fach höher) im Vergleich zu einem Modell mit nur einem Stoffwechselfad aus. Die Autoren vermuten aus diesem Grund bei niedrigen Expositionen ein ca. 3-fach höheres Risiko für Leukämie als auf Basis der bisherigen Abschätzungen. Auch hier war bei hohen Konzentrationen der bereits berichtete Sättigungseffekt erkennbar. Es wird vermutet, dass im niedrigen Dosisbereich die Ringöffnung besondere Relevanz besitze. CYP2F1 und CYP2A13 werden als mögliche Kandidaten für die relevanten metabolisierenden Enzyme im Bereich unter 1 ppm genannt (Smith, 2010).

Der Metabolismus von Benzol (ohne Einbezug der Erkenntnisse von Rappaport el al.) ist schematisch in der folgenden Abbildung wiedergegeben:



**Abbildung 1:** Metabolismus von Benzol (nach ATSDR, 2007)

Greim und Lehnert (1996) leiteten anhand der Daten an Berufstätigen die in der folgenden Tabelle 1 zusammengefassten Korrelationen zwischen innerer und äußerer Belastung ab (Probennahme jeweils am Ende der Schicht).

**Tabelle 1: Korrelation zwischen äußerer und innerer Belastung von Benzol (nach Greim und Lehnert, 1996)**

Luftbelastung		Blut (mg Benzol/ l Vollblut)	Urin (mg S-Phenyl- mercaptursäure/ g Kreatinin)	Urin (mg trans-, trans- Muconsäure/ l)
ppm	mg/m <sup>3</sup>			
0,3	1,0	0,0009	0,010	-
0,6	2,0	0,0024	0,025	1,6
0,9	3,0	0,0044	0,040	-
1,0	3,3	0,0050	0,045	2
1,2	4,0	-	0,055	-
2	6,5	0,014	0,090	3
4	13,0	0,038	0,180	5
6	19,5	-	0,270	7

-: keine Angaben

Bird et al. (2005) erachten die Ausscheidung der S-Phenylmercaptursäure bei niedrigen Expositionen am Arbeitsplatz als einen verlässlichen Parameter für die externe Belastung. Zu gleichem Ergebnis kommen im Rahmen des Europäischen Biomarker-Projekts Farmer et al. (2005). Allerdings werten die Autoren bei erhöhten (Umwelt-) Belastungen Urinkonzentrationen von Benzol (bei interner Kontrolle vor und nach Exposition) als einen empfindlicheren Indikator für externe Belastung.

Als weitere Biomarker einer Benzolexposition werden die Cystein-Albuminaddukte von Benzolepoxid und 1,4-Benzochinon vorgeschlagen, welche speziell für mittelfristige Expositionsdauer im Bereich von 3-4 Wochen geeignet seien (Rappaport et al., 2005).

Forrest et al. (2005) identifizierten in einer Genomics-Analyse 4 Genmarker, deren Expression in peripheren mononukleären Blutzellen infolge von Benzolexposition verändert war, und schlugen diese als weitere potenzielle Biomarker für Benzolbelastung vor. Weitere potenzielle Biomarker identifizierten Vermeulen et al. (2005) im Rahmen einer vergleichenden Proteomics-Analyse des Serums benzol-exponierter Personen und Kontrollen.

#### *Relevante genetische Polymorphismen*

In Studien an Berufstätigen wurden zum Teil deutliche Sensitivitätsunterschiede hinsichtlich der toxischen Wirkungen beobachtet. Dies war Anlass für Untersuchungen, inwieweit genetische Polymorphismen in Enzymen, welche an der Metabolisierung von Benzol beteiligt sind, einen Einfluss auf Metabolisierung und Sensitivität gegenüber Benzolintoxikation haben können.

Personen mit hoher CYP2E1-Aktivität und resultierender hoher Aktivität des oxidativen Stoffwechsels können empfindlicher gegenüber der Toxizität von Benzol reagieren. Flavoenzyme (NAD(P)H-chinonreductase (NQO1, DT Diaphorase),

welche auch im Knochenmark nachgewiesen wurden, katalysieren die Reduktion der 1,2- und 1,4-Benzochinone zu Catechol und Hydrochinon und schützen somit die Zellen vor zyklischen Redoxreaktionen und oxidativem Stress. NQO1 weist bei 5% der weißen und afroamerikanischen Bevölkerung, bei 15% der Hispanoamerikaner und 20% der Asiaten eine Mutation auf, welche zu drastisch verringerter Aktivität führt. Personen mit dieser Mutation wiesen eine erhöhte Sensitivität für Benzolintoxikation auf (Anmerkung: als Parameter für Intoxikation dienten hier und bei den im Folgenden genannten Untersuchungen eine beobachtete Reduktion der Leukozytenzahlen im Blut). Personen mit zweifachen Polymorphismen (NQO1-Genprodukt mit geringer Aktivität und CYP2E1 mit hoher Aktivität) reagierten in Bezug auf toxische Symptome bis zu 7,6-mal empfindlicher als Personen mit normaler Genaktivität.

Der Effekt der erhöhten Sensitivität gegenüber Benzolintoxikation wurde auch bei Tieren mit entsprechenden Gendefekten im Vergleich zum Wildtyp gezeigt (Albertini et al., 2003; ATSDR, 2007; Bird et al., 2005; Khan, 2007; Pyatt, 2004; Snyder, 2007).

Ein Polymorphismus der Glutathion-S-transferase  $\mu 1$  (GSTM1), welche die (entgiftende) Glutathionkonjugation von Benzolmetaboliten katalysiert, beeinflusst ebenfalls die individuelle Sensitivität (Buthumrung et al., 2008). Eine Kombination von Polymorphismen der NQO1, GSTM1 sowie einer weiteren Glutathiontransferase (GSTT1) führte zu einer > 20-fach erhöhten Empfindlichkeit bei beruflich exponierten Arbeitern, während einzelne Polymorphismen mit einem 2,8-fach (NQO1) bzw. 1,9-fach (GSTT1) erhöhten Risiko für Hämatotoxizität assoziiert waren (Chen et al., 2007). Einen noch etwas stärkeren Einfluss des GSTT1-Genotyps (4,5-fach erhöhtes Risiko) auf eine Reduktion der Leukozytenzahlen fanden Wan et al. (2006). Bei beiden Studien war dagegen kein signifikanter Einfluss des CYP2E1-Genotyps sowie des Polymorphismus eines weiteren relevanten Enzyms, der Myeloperoxidase (MPO), ersichtlich. Dieses Enzym wirkt durch die Bildung von Radikalen und Chinonen aktivierend auf Benzolmetaboliten im Knochenmark.

Eine stärkere Reduktion der Leukozyten zeigte sich bei Arbeitern, welche gegenüber Benzol exponiert waren und Variationen in den Genen NQO1 und MPO aufwiesen. Bei gleichzeitig veränderter Genexpression in beiden Genen war eine Verstärkung des Effekts ersichtlich (Lan et al., 2004; Li und Yin, 2006).

Garte et al. (2008) fanden auch erhöhte Gentoxizität in peripheren Lymphozyten bei benzol-exponierten Arbeitern mit mutierten NQO1-, GSTT1- oder Epoxidhydrolase-Genen (vgl. Abschnitt 6).

Gu et al. (2007) untersuchten weitere Polymorphismen an stoffwechselrelevanten Enzymen (CYP1A1, CYP2D6, den UDP-Glucuronyltransferasen UGT1A6 und UGT1A7 sowie der Sulfotransferase SULT1A1) und deren Einfluss auf individuelle Empfindlichkeitsunterschiede bei Benzolexposition. Personen mit Abweichungen vom Normaltyp in den Enzymen CYP1A1 sowie CYP2D6 wiesen eine etwa 2-fach erhöhte Sensitivität auf (bezogen auf eine Reduktion von Leukozyten- und/oder Thrombozytenzahlen), bei den anderen Enzymen war kein Einfluss des Genotyps ersichtlich.

Sun et al. (2008) beobachteten einen Einfluss des Genotyps der Epoxidhydrolase EPHX1 auf die Empfindlichkeit gegenüber der blutschädigenden Wirkung von Benzol (16,5-fach höher nach Berücksichtigung von Störfaktoren). Dieses Enzym katalysiert die Hydrolyse von Benzolepoxid zu Katechol oder trans-, trans-Muconsäure. Dagegen fanden die Autoren keine Unterschiede bei Variationen von CYP-Isoenzymen, NQO1, MPO, GSTP1 und UGT1A6.

Weitere Polymorphismen wurden auch bei Genen für verschiedene DNA-Reparaturenzyme beobachtet (vgl. Abschnitt 6). Auch diese hatten einen Einfluss auf die individuelle Empfindlichkeit gegenüber der blutschädigenden Wirkung und auf die (sekundäre) Gentoxizität von Benzol (Hosgood et al., 2009; Lan et al., 2009; Lan et al., 2005; Shen et al., 2006; Zhang et al., 2005b).

Auch in Studien mit transgenen Tieren zeigten sich je nach Phänotyp unterschiedliche Empfindlichkeiten: Epoxidhydrolase-defiziente Tiere reagierten weniger empfindlich, NQO1-defiziente Tiere empfindlicher auf Benzoleinwirkung (Recio et al., 2005). Dies unterstützt die Hypothese der oben geschilderten Funktionen dieser Enzyme bei der Giftung bzw. Entgiftung der Benzolmetaboliten.

## 5. Toxizität nach wiederholter Belastung

*(ERB-relevante, nicht krebserzeugende Wirkung)*

### 5.1 Humanbeobachtungen

Der sensitivste nicht kanzerogene Endpunkt bei Benzolexposition ist die Schädigung der blutbildenden Organe, was sich in Knochenmarks- und Blutbildveränderungen sowie immuntoxischen Effekten äußert (Leukozytopenie, Thrombozytopenie, Granulozytose, Retikulozytose, aplastische Anämie).

#### *Hämatotoxizität*

In einer aktuellen Studie an 250 benzol-exponierten Arbeitern in der Schuhindustrie in China (durchschnittliche Exposition von 6,1 Jahren) sowie 140 angepassten Kontrollen wurden erste adverse Effekte bereits bei Exposition  $\leq 1$  ppm ( $3,25 \text{ mg/m}^3$ ) beobachtet: die Autoren berichten (nach Korrektur von Störfaktoren) eine signifikante Reduktion von Leukozyten, Thrombozyten und Untergruppen von Lymphozyten bereits in der niedrigsten Expositions-kategorie von  $0,57 \pm 0,24$  ppm (vgl. Tabelle 2 für die wichtigsten veränderten Parameter). Die Effekte zeigten eine Dosis-Wirkungsbeziehung (Lan et al., 2004; Stokstad, 2004).

Im „Online Supporting Material“ zu dieser Veröffentlichung wurden die Leukozytenwerte der exponierten Personen nach  $>$  und  $< 4000/\mu\text{l}$  dichotomisiert. Es ergaben sich für die Expositions-kategorien  $< 1$  ppm (0,57 ppm), 1- $<10$  ppm und  $\geq 10$  ppm signifikante Zusatzrisiken von 3,16 (95% CI: 1,05-9,52), 3,18 (95% CI: 1,06-9,51) und 6,23 (95% CI: 1,76-22,09) für Leukozytenwerte  $< 4000/\mu\text{l}$  (Normalbereich für Erwachsene etwa 4000 – 10000/ $\mu\text{l}$ ).



**Tabelle 2: Hämatologische Veränderungen in Lymphozyten nach Benzolexposition (Auswahl) nach den Befunden von Lan et al. (2004)**

Kategorie	Kontrollen	<1ppm	1- <10ppm	≥10 ppm	P<1 ppm vs. Kontrolle	pTrend
N	140	109	110	31		
Benzol (Luft) ppm	<0,04	0,57 (0,24)	2,85 (2,11)	28,73 (20,74)		
White Blood Cell count (WBC)	6480 (1710)	5540 (1220)	5660 (1500)	4770 (892)	<0,0001	<0,0001
Granulozyten	4110 (1410)	3360 (948)	3480 (1170)	2790 (750)	<0,0001	<0,0001
Lymphozyten	2130 (577)	1960 (541)	1960 (533)	1800 (392)	0,018	0,0014
CD4+-T Zellen	742 (262)	635 (187)	623 (177)	576 (188)	0,003	0,019
CD4+/CD8+	1,46 (0,58)	1,26 (0,41)	1,22 (0,45)	1,09 (0,35)	0,015	0,024
B-Zellen	218 (94)	186 (95)	170 (75)	140 (101)	0,003	0,0002
Thrombozyten	230 (59,7) x 10 <sup>3</sup>	214 (48,8) x 10 <sup>3</sup>	200 (53,4) x 10 <sup>3</sup>	172 (44,8) x 10 <sup>3</sup>		
Hämoglobin (g/dl)	14,5 (1,6)	14,7 (1,5)	14,5 (1,7)	13,6 (1,6)	0,12	0,29

Ferner fanden Lan et al. in dieser Studie, dass Vorläuferzellen empfindlicher reagierten als reife Zellen, z.B. waren CFU-GEMM+, CFU-GM+ hochsignifikant negativ mit der Benzolexposition korreliert (Lan et al., 2004). Die Ergebnisse wurden deutlich durch Polymorphismen beeinflusst, wobei insbesondere die Unterschiede in der Aktivität der Myeloperoxidase (MPO) und der NAD(P)H-chinonreductase (NQO1) nach den Befunden der Autoren relevant waren. Ferner waren die benzolinduzierten hämatotoxischen Effekte mit Polymorphismen in den Genen WRN, TP53 (Shen et al., 2006), ERCC3 (Hogswood et al., 2009) und BLM, RAD51 (Lan et al., 2009) korreliert. Die polymorphismusbedingten hämatologischen Effekte in der Kontrolle waren nicht signifikant ausgeprägt.

Allerdings ist die Expositionserfassung und –kategorisierung, insbesondere der niedrigsten Expositionskategorie, in der Studie von Lan et al. (2004) kritisch zu sehen. Die Zuordnung zu den Expositionskategorien erfolgte aufgrund von Expositionsmessungen, die einen Monat vor der Phlebotomie durchgeführt wurden; frühere, möglicherweise höhere Expositionen wurden nicht berücksichtigt, obwohl Messungen aus den letzten 16 Monaten vorlagen (siehe unten). Nicht berücksichtigt wurde auch die dermale Exposition der Beschäftigten durch benzolhaltigen Schuhkleber, die zur Gesamtbelastung mit Benzol beigetragen haben kann. Die detaillierte Expositionsbewertung der Beschäftigten der Lan et al. Studie wurde von Vermeulen et al. (2004) separat publiziert. Danach war nur in den Sommermonaten die mittlere monatliche Benzolkonzentration in Fabrik B < 1 ppm; im Jahresmittel dürfte die Benzolkonzentration in dieser Fabrik entsprechend der publizierten Daten bei etwas über ca. 1 ppm gelegen haben. In der Lan et al. Arbeit wird für die niedrigste Expositionskategorie eine Beschäftigtenzahl von 109 angegeben. In der Expositionsbewertung von Vermeulen et al. gibt es für der einzigen Tätigkeit

("Cutting") mit Expositionen  $< 1$  ppm jedoch nur 30 Beschäftigte. Im zweiten untersuchten Betrieb, Fabrik A, lagen die gemessenen Benzolkonzentrationen an 5 verschiedenen Zeitpunkten 2000 und 2001 bei  $\geq 7$  ppm. Benzolkonzentrationen in diesem Bereich und darüber werden auch von Dosemici et al. (1996) für die Schuhproduktion in China berichtet. Vor diesem Hintergrund ist die Expositionskategorie  $< 1$  ppm Benzol und die in dieser Kategorie gefundenen Veränderungen hämatologischer Parameter als unsicher zu bezeichnen.

Auch Qu et al. (2002; 2003) zeigten Unterschiede in den Blutwerten von chinesischen Arbeitnehmerinnen, die gegenüber Benzol (Bereich bis 0,5 ppm) exponiert waren. Es handelte sich ebenfalls um ein (Teil-)Kollektiv von Beschäftigten in Schuhfabriken aus der Gegend Tianjin (China), wobei aufgrund der unterschiedlichen Fallzahlen und der unterschiedlichen Autorengruppe im Vergleich zu Lan et al. (2004) anzunehmen ist, dass nicht das gleiche Kollektiv in beiden Studien untersucht wurde. In der Untersuchung wurden 16 weibliche beruflich exponierte Personen mit 51 nichtexponierten Personen (darunter 24 Männer) verglichen. Die mittlere Expositionshöhe bei den Exponierten betrug 0,14 ( $\pm 0,04$ ) ppm. Die Anzahl der Leukozyten als WBC lag bei den Kontrollen bei  $6671 \pm 1502$  Zellen ( $\times 10^6/L$ ) und bei den Exponierten bei  $5700 \pm 1226$  ( $p=0,02$ ). Weitere Ergebnisse sind der folgenden Tabelle 3 zu entnehmen:

**Tabelle 3: Hämatologische Veränderungen nach Benzolexposition (Auswahl) nach den Befunden von Qu et al. (2003)**

Variable	Nichtexponierte	Exponierte (>0,5 ppm)	Signifikanz
N	51	16	
Frauenanteil (%)	53	100	
Raucher (%)	31	0	
Alter (Jahre)	33,3 (±7,4)	36,2 (±3,2)	
4-Wochen-Mittelwert Benzolexposition (ppm)	0,004±0,003	0,14 ± 0,04	
Red >Blood Cell count (RBC) (x10 <sup>10</sup> /L)	463±52	393±49	0,0006
WBC (x10 <sup>10</sup> /L)	6671±1502	5700±1226	0,02
Neutrophile(x10 <sup>10</sup> /L)	4006±1108	3254±901	0,02
Alle anderen Parameter: Hämatokrit, Thrombozyten, Lymphozyten, Monozyten, Eosinophile, Basophile, Bandzellen, Atypische Lymphozyten			Nicht Signifikant

In einer Auswertung zu längeren Zeiträumen zeigte sich, dass nur RBC und Neutrophile mit der Expositionsdauer korreliert waren, während RBC, WBC und Neutrophile mit der Expositionshöhe korrelierten. In Bezug auf die kumulierte Lebenszeitexposition gegenüber Benzol war in den drei obersten Expositionsgruppen keine Dosis-Wirkungsbeziehung bzgl. der Zellzahlen im Blut erkennbar. Die Interpretation der Befunde ist jedoch insofern problematisch, dass in der Kontrollgruppe nur etwas mehr als die Hälfte Frauen und in der exponierten Gruppe nur Frauen waren. Im übrigen schließen die Expositionsabschätzungen Spitzenkonzentrationen in der Vergangenheit nicht aus.

Irons et al. untersuchten in China 80 Fälle mit einem myelodysplastischen Syndrom (MDS), bei denen Hinweise auf eine erhöhte Benzolexposition vorlag (Fragebogen und Erfahrung der Autoren), und verglichen diese mit anderen MDS-Fällen. 29 Fälle mit hoher Benzolexposition („signal cases“, Benzolexposition > 67 mg/m<sup>3</sup>, i.e. >20 ppm) wurden näher analysiert. Abnormale Eosinophilie war stark mit der Benzolexposition assoziiert (Irons et al., 2010).

Swaen und Mitarbeiter (2010b) fanden bei einem Vergleich von 701 benzol-exponierten Arbeitern (8532 Blutproben) mit 1059 Kontrollen (12173 Blutproben) keine signifikanten Unterschiede hämatologischer Parameter. Die durchschnittliche Expositionshöhe lag – basierend auf einer Schätzung, die von „Job-Exposure-Matrix“ ausging – bei 0,22 ppm mit einem Schwankungsbereich zwischen 0,01 ppm und 1,85 ppm. Auch nach Stratifizierung (Subgruppen mit Expositionen unter 0,5 ppm (7216 Proben), von 0,5 bis 1 ppm (1000 Proben) und über 1 ppm (316 Proben)) ergab sich kein Dosis-Wirkungszusammenhang mit hämatologischen Parametern nach Korrektur um die Parameter Alter, Rauchen und

Sammlungszeitpunkt. Tabelle 4 zeigt den Zusammenhang aus der Studie von Swaen et al. (Ausschnitt). Auch alle weiteren geprüften Parameter (Hämoglobin, Hämatokrit, Eosinophile, Basophile und Monozyten) ergaben keine signifikanten Unterschiede zwischen den jeweiligen Expositionsintervallen oder zur Kontrolle.

**Tabelle 4: Hämatologische Veränderungen nach Benzolexposition (Auswahl) nach den Befunden von Swaen et al. (2010b)**

Variable	Nichtexponierte	<0,5 ppm	0,5-1 ppm	>1 ppm
Probenzahl	12173	7216	1000	316
WBC	6651,7 (6575-6728,4)	6706,2 (6616,8-6795,5)	6722,2 (6593,1-6851,4)	6611,0 (6444,8-6777,2)
Lymphozyten	2090,56 (2064,08- 2117,03)	2095,75 (2065,73-2125,77)	2102,35 (2061,08- 2143,63)	2092,55 (2040,43- 2144,67)
Neutrophile	3865,42 (3806,22- 3924,61)	3882,82 (3812,45-3952,18)	3883,95 (3777,28- 3990,63)	3805,97 (3666,83- 3945,12)

Ähnlich fanden Kang et al. (2005) keine Unterschiede in hämatologischen Parametern bei niedrigexponierten Personen in Südkorea, wobei die Exposition niedrig (geometrischer Mittelwert: 0,094 ppm (Spanne 0,005-5,311 ppm) und die getestete Personenzahl gering waren (nur 7 Personen mit mehr als 1 ppm exponiert). Schnatter et al. (2010) untersuchten ebenfalls Veränderungen im peripheren Blut von Benzol-exponierten Arbeitnehmern (n=928) aus fünf verschiedenen Fabriken in der Umgegend von Shanghai (China). Die empfindlichsten Parameter, die expositionsbedingt signifikant und dosisabhängig verändert waren, sind Neutrophile und mittleres Thrombozytenvolumen (MPV), jedoch erst ab Benzolkonzentrationen von ca. 8 ppm in der Luft. Insgesamt waren die Indikatoren für Veränderungen bei roten Blutzellen (RBC) stärker ausgeprägt als diejenigen für die weißen Blutzellen (WBC).

Tabelle 5 zeigt die Odds Ratios unter Zuordnung zu Expositionsgruppen. Der Abstand der unteren Expositionsgruppe (< 1ppm) zur Kontrollgruppe (siehe Anmerkung in Tabelle) insbesondere beim Erythrozytenvolumen (MCV) war jedoch so gering, dass die Beobachtung signifikanter Änderungen als unwahrscheinlich angesehen werden müssen. Absolute Werte (zum Beispiel zu WBC) werden in der Veröffentlichung nicht genannt.

**Tabelle 5: Hämatologische Veränderungen nach Benzolexposition nach den Befunden von Schnatter (2010) als Odds Ratio<sup>a</sup>**

Variable	< 1 ppm, 95% CI	1-<10 ppm, 95% CI	10+ ppm, 95% CI
WBC	2,49 (0,31;20,0)	1,92 (0,23;15,7)	4,07 (0,51; 32,4)
RBC	10,8 (1,41;82,5)	5,13 (0,66;39,9)	16,0 (2,11; 121)
MCV	5,65 (0,63;51,1)	5,91 (0,75;46,5)	17,7 (2,35;134,1)
Thrombozyten (PLT)	2,18 (0,24;19,8)	1,76 (0,20;15,2)	4,54 (0,56;36,7)

<sup>a</sup> Ausgangspunkt (definiert als „ohne Exposition“ (< 0,071 mg/m<sup>3</sup> Benzol), wenn diese Kategorie nicht ohne Beschäftigte war. Bei RBC und PLT Ausgangspunkt: <0,32 mg/m<sup>3</sup> and für MCV Ausgangspunkt <0,54 mg/m<sup>3</sup>

In einer Studie von Tsai et al. (2004) konnten bei Vergleich eines niedrig exponierten Kollektivs (n = 1200) mit 3227 nichtexponierten Kontrollen keine signifikanten Unterschiede in hämatologischen Parametern beobachtet werden. Im Zeitraum 1988-2002 lag die durchschnittliche Benzolbelastung bei 0,14 ppm (vor 1988: 0,6 ppm).

Bei Arbeitern (n=61) aus Südkorea mit niedriger Benzolexposition konnten keine signifikanten Veränderungen bei RBC- und WBC-Werten gefunden werden. Bei Benzolkonzentrationen zwischen < 0,1 und 3 ppm in der Atemluft waren nur Thrombozyten (Anzahl/ mittleres Thrombozytenvolumen MPV) signifikant mit der Expositionshöhe korreliert (Sul et al., 2005).

Eine ältere Arbeit von Collins et al. (1997) berichtet ebenfalls keine Lymphopenie bei Arbeitern mit mehrjähriger Exposition gegenüber durchschnittlich 0,55 ppm. Die durchschnittlichen Expositionskonzentrationen unter Ausklammerung des ersten Jahres (1981: 1,85 ppm) lagen unterhalb von 0,5 ppm (im Durchschnitt bei 0,26 ppm) und die der letzten 3 Jahre bei 0,07-0,12 ppm.

Weitere Untersuchungen zeigten widersprüchliche Ergebnisse zur Hämatotoxizität (vgl. z.B. ATSDR, 2007; ECB, 2008).

### *Immuntoxizität*

Die oben referierte Studie von Lan et al. (2004) ergibt Hinweise auf immuntoxische Effekte in sehr niedrigen Konzentrationen.

Uzma et al. (2010) erfassten bei 428 Tankstellenwärtern das Auftreten von immunologischen Veränderungen (neben ROS-Induktion und p53-Expression; vgl. hierzu Abschnitt 6). Die Expositionshöhe lag zum Zeitpunkt der Messung im Mittel bei 0,345 ppm Benzol (0,118 bis 0,527 ppm). Es wurden auch Urin- und Blutkonzentrationen von Benzol individuell erfasst und mit den Effektmarkern korreliert. Bei den Exponierten fand sich eine signifikante Reduktion von IgG1, IgG2, CD4+ und des CD4/CD8-Verhältnisses. Es bestand eine signifikante Korrelation zwischen der Absenkung des Immunglobulinstatus und der Benzolexposition ( $r=0,81$ ;  $p=0,02$ ). CD8+ war nicht signifikant verändert. Bei den Exponierten handelte es sich um Nichtraucher. Angaben zur Exposition gegenüber anderen Schadstoffen (etwa Diesel, PAK) werden nicht berichtet.

### *Genexpression*

In der Exponiertengruppe in chinesischen Schuhfabriken, die auch von Lan et al. (2004) untersucht wurde, wurde für ein Teilkollektiv mit differenzierter Expositionsgruppierung auch das Genexpressionsprofil erfasst (McHale et al., 2011). Als Kontrolle dienten nichtexponierte alters- und geschlechtsangepasste Personen, die in der Textilverarbeitung beschäftigt waren. Die Exposition wurde über die letzten drei Monate mit personenbezogener Messung abgesichert. Urinmessungen und Luftmessungen für Benzol zeigten eine sehr gute Korrelation. Die peripheren mononukleären Blutzellen von 83 Arbeitern mit Expositionen gegenüber Benzol im Bereich von weniger als 1 ppm bis über 10 ppm wurden entsprechend erfasst (Kontrolle: 42 Personen (Expositionshöhe < 0,04 ppm); <<1 ppm: n=29 (Geom. Mittel:  $0,3 \pm 0,9$  ppm); <1 ppm: n=30 ( $0,8 \pm 0,8$ ); 5-10 ppm, n=11 ( $7,2 \pm 1,3$ ); >10 ppm n=13 ( $24,7 \pm 15,7$ )). Der prozentuale Anteil der Raucher war in der Kontrolle höher als in den Exponiertengruppen. Es wurden deutliche Abweichungen gegenüber der Kontrolle gefunden. Insbesondere Genexpressionen, die mit dem AML-Pfad und solche, die mit der Immunantwort in Verbindung gebracht werden, zeigten

hochsignifikante Veränderungen im gesamten Dosisbereich auf. Die Assoziation der veränderten Genexpression zu Endpunkten über Signaltransduktionspfade (wie AML oder Immuntoxizität) wurde über eine „KEGG-pathway“ Analyse hergestellt. Die folgende Tabelle 6 dokumentiert eine Auswahl von signifikant veränderten Pfaden. Eine eindeutige Dosis-/ Wirkungsbeziehung ist für diese Biomarker nicht abzulesen. Insgesamt sind die veränderten Pfade jedoch hochsignifikant mit der Benzolexposition korreliert. Für einzelne Genexpressionen (n etwa 100 Gene) zeigte sich aber eine dosisabhängige Suppression, für eine zweite Gruppe (ebenfalls ca. 100 Gene) wurde eine erhöhte Expression gefunden, allerdings besonders in der Niedrigdosisgruppe.

**Tabelle 6: Veränderte Signaltransduktionspfade in verschiedenen Benzol-Expositionsgruppen nach KEGG-Pfadbezeichnungen (Auswahl) in der Studie von McHale et al., 2011**

Pfadname <sup>a</sup>	p-Wert			
	Sehr niedrig (n=29)	Niedrig (n=30)	Hoch (n=11)	Sehr hoch (n=13)
Akute myeloische Leukämie	0,037	0,002		0,045
Apoptose	0,007	0,002	0,007	0,013
Toll-like Rezeptor-Signaltransduktion (Immunantwort)	<0,001	0,002	0,001	0,004
B-Zellen-Rezeptor-Signaltransduktion (Immunantwort)	0,008	0,003	0,004	
T Zell Rezeptor – Signaltransduktion (Immunantwort)	0,005	0,002	0,005	0,018
Oxidative Phosphorylierung (Oxidativer Stress?)	<0,001	0,003	0,001	

<sup>a</sup> KEGG = Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes; in dieser Auswahl wurden nur Pfade aufgeführt, die insgesamt mit einer Wahrscheinlichkeit von  $p < 0,005$  mit der Benzolexposition in Verbindung stehen

Eine weitere umfassende Genexpressionsanalyse in menschlichen Leukämiezellen, die gegenüber Benzol belastet wurden, befindet sich derzeit in der Auswertung und könnte auf Übereinstimmung mit den in vivo-Befunden analysiert werden (Choi et al., 2011).

#### *Entwicklungstoxizität*

Eine neue Veröffentlichung von Lupo et al. (2010) führt zu einem Verdachtsmoment auf entwicklungstoxische Effekte durch Benzolexposition unter Umweltbedingungen. Das Geburtsfehlerregister von Texas wurde hinsichtlich Neuralrohrschlüssen (NTD) ausgewertet (n=533 für *spina bifida*). Die Befunde wurden mit Benzol-expositionsdaten korreliert. Bei hohen Benzolkonzentrationen (Benzolkonzentrationen über  $5 \mu\text{g}/\text{m}^3$ ) wurde eine erhöhte Anzahl von *Spina bifida*-Fällen beobachtet im Vergleich zu niedriger Benzolexposition. Es wurden auch

mögliche Zusammenhänge mit anderen BTEX geprüft, eine signifikante Korrelation zeigte sich jedoch nur für Benzol. Die Autoren verweisen auf eine Studie mit beruflicher Benzolexposition und „Neural Crest“-Anomalien einschließlich NTD. Es gibt jedoch sowohl in der Expositionserhebung wie in möglichen Störfaktoren (z.B. Multivitaminpräparate, Folsäureexposition während der frühen Schwangerschaft) erhebliche Unsicherheiten bei der Bewertung der Studie.

## 5.2 Tierexperimentelle Befunde

Mäuse erwiesen sich als empfindlichste Spezies. Erste Effekte auf das Blutbild traten bei wiederholter inhalativer Exposition gegenüber 10 ppm (32,5 mg/m<sup>3</sup>) auf. Bereits bei dieser niedrigsten getesteten Konzentration wurden in Mäusen Lymphozytopenie, Erythrozytopenie und eine Abnahme erythroider Stammzellen in Knochenmark und Milz beobachtet (Exposition bis zu 25 Wochen an 6 h/d, 5 d/w). Diese Studie liefert keinen NOAEL (Baarson et al., 1984). Weiterhin wurde in einer Studie von Green et al. (1981) ein erhöhtes Milzgewicht sowie eine erhöhte Anzahl multipotenter hämatopoetischer Stammzellen und kernhaltiger Zellen in der Milz von Mäusen beobachtet, welche 10 Wochen, 6 h/d, 5 d/w gegenüber 10 ppm (32,5 mg/m<sup>3</sup>) Benzol exponiert waren (LOAEL, kein NOAEL). Bei höheren Dosen wurden auch reproduktionstoxische Effekte (Fruchtschädigung) beobachtet (Übersichten in ATSDR, 2007; ECB, 2008; EPA, 2002).

Aus Untersuchungen mit Mäusen, bei denen der Ah-Rezeptor inaktiviert war (Ah-knockout-Mäuse) im Vergleich zu Wildtypmäusen wurde gefolgert, dass Benzol zu zwei Arten von hämatotoxischen Effekten führen kann (Hirabayashi und Inoue, 2010),

- a) zellzyklusvermittelte Hämatotoxizität, die bereits in extrem niedriger Konzentration auftritt und die sich auf hämatopoetische Vorläuferzellen beschränkt. Dieser Mechanismus wird auch mit der Kanzerogenese von Benzol in Verbindung gebracht,
- b) Metabolitenvermittelte Zytotoxizität bei vermutlich höheren Effektkonzentrationen, wo Benzolmetaboliten, wie sie in Organen (z.B. Leber) gebildet werden (z.B. Hydrochinon) auf die reife Blutzelle einwirken und im peripheren Blut hämatotoxisch wirken.

## 6. Gentoxizität

### 6.1 in vitro

Benzol kann unter geeigneten Versuchsbedingungen primär gentoxisch<sup>1</sup> wirken. Es induzierte bei gasförmiger Exposition und unter metabolischer Aktivierung Mutationen in *Salmonella typh.* (aber nicht in standardisierten Ames-Tests mit

---

<sup>1</sup> Differenzierung primäre/ sekundäre Gentoxizität nach Leitfaden, Abschnitt 2.2. Primäre Gentoxizität: unmittelbare DNA-Interaktion durch Muttersubstanz (direkt) bzw. Metaboliten (indirekt), z.B. Addukte, Mutationen. Sekundäre Gentoxizität: initialer Schritt findet nicht an DNA statt (z.B. oxidativer Stress, Interferenz mit mitotischem Prozess etc.) (AGS, 2008)

Platten- oder Präinkubation) und verursachte eine schwache DNA-Adduktbildung in humanen und Kaninchen-Knochenmarkszellen, menschlichen Leukämiezellen sowie Rattenleber-Mitoplasten *in vitro*. Es konnte gezeigt werden, dass verschiedene Metaboliten (u.a. 1,2-Benzoltransdihydrodiol, Diolepoxide, trans-, trans-Muconsäure) für diese indirekt genotoxischen Aktivitäten von Benzol in Bakterien und Säugerzellkulturen verantwortlich sind (vgl. auch Golding et al., (2010).

Zahlreiche Studien belegen eine chromosomenschädigende Wirkung in humanen und Nagerzellen *in vitro*. Hierbei verursachten sowohl Benzol als auch seine Metaboliten Chromosomenaberrationen, Schwesterchromatidaustausch (SCE) und Rekombinationen. Soweit negative Befunde vorlagen, sind diese allem Anschein nach auf ungeeignete Aktivierungssysteme zurückzuführen. Eine Induktion unplanmäßiger DNA-Synthese konnte nicht beobachtet werden (Albertini et al., 2003; ATSDR, 2007; BMAS, 2007; ECB, 2008; EPA, 2002; Ji et al., 2009; Khan, 2007; Roller et al., 2006; Whysner et al., 2004).

### *Oxidative Schäden*

Westphal et al. (2009) exponierten mononukleäre humane Blutzellen gegenüber 1,4-Benzo-chinon (p-BQ) bei gleichzeitiger Aktivierung der Myeloperoxidase (MPO) über Zugabe von Phorbol-12-Acetat-13-Myristat (PMA,) *in vitro* im niedrigen mikromolaren Konzentrationsbereich (0,37 – 1,85 µM p-BQ). Es zeigte sich eine signifikante Erhöhung der Mikronuklei, die ohne MPO-Aktivierung nicht auftrat. MPO ist ein Enzym, das *in vivo* stark im Knochenmark und im peripheren Blut exprimiert, jedoch in üblichen *in vitro*-Systemen unzureichend widerspiegelt wird. MPO spielt bei oxidativen entzündlichen Prozessen eine Rolle. PMA war in der Studie nur in einem engen Konzentrationsbereich (20-28 ng) effektiv.

Nishikawa et al. (2011) exponierten die humane myeloide Zelllinie HL-60 gegenüber Benzol mit und ohne metabolische Aktivierung sowie zusammen mit einem Myeloperoxidaseinhibitor und prüften Apoptose, DNA-Methylierung und ROS-Generierung. Die DNA-Methylierung wurde nicht verändert, aber Benzol selbst (auch mit inhibiertem Metabolismus) führte zu Apoptose und ROS-Induktion. Die Dosierungen waren mit 5 mM relativ hoch. Bei 0,05 mM und 0,5 mM zeigten sich nur leichte Effekte ohne ausgeprägten Dosis-Wirkungs-zusammenhang, jedoch bereits signifikant.

BTEX-Kohlenwasserstoffe können direkt zur ROS-Induktion in menschlichen HL-60-promyelotischen Leukämiezellen führen, mit der Folge von Apoptose und Chromosomenschäden, ohne dass hierfür eine Inhibition der Topoisomerase II erforderlich ist (Sarma et al., 2011). Auffällig ist die hohe Aktivität von Toluol und ortho-Xylol neben Benzol im hier gewählten Testsystem, wobei insgesamt relativ hohe Konzentrationen gewählt wurden.

### *Topoisomerase II*

Mondrala und Eastmond (2010) zeigten, dass verschiedene Benzolmetabolite die Topoisomerase II deutlich inhibieren können, was wiederum zu chromosomalen Translokationen führt. Dabei gibt es Benzolmetabolite, die zunächst eine Bioaktivierung erfordern, bevor sie einen relevanten Einfluss auf die Topoisomerase II haben. Dazu gehört Hydrochinon. Bioaktiviertes Hydrochinon und 1,4-Benzochinon sind in der Lage, bereits im nanomolaren Bereich (bei und über 25 nM) *in vitro* die



Topoisomerase zu inhibieren. Dabei hat der pH-Wert einen erheblichen Einfluss auf die Wirkstärke.

#### *Weitere in vitro Untersuchungen*

Der funktionelle Status des TP53 Gens in humanen A549 Lungenzellen wurde von Billet et al. (2010) untersucht (Funktionale Analyse von getrennten Allelen in Hefe: FASAY-Assay). Die A549-Zellen wurden bei nichttoxischen Konzentrationen (7 µM) gegenüber Benzol exponiert. Es fanden sich spezifische Mutationen in TP53 nach Benzolexposition, die teilweise mit Mutationen übereinstimmen, die mit AML in Verbindung gebracht werden.

Galván et al. (2008) untersuchten Einzelnukleotidpolymorphismen beim WRN Protein im Zusammenhang mit der Wirkung von Hydrochinon als Metaboliten von Benzol in vitro. WRN-Depletion in HeLa-Zellen führte u.a. zu erhöhter Anzahl von Doppelstrangbrüchen bei Konzentrationen von 150 µM Hydrochinon.

Hydrochinon induziert Hog1-abhängige Stressreaktionen und führt zu Aneuploidie in Hefe (Shiga et al., 2010).

Im Transformationsassay mit Bhas 42 Zellen erwies sich Benzol als negativ (sowohl hinsichtlich initiiender wie hinsichtlich promovierender Wirkung) (Sakai et al., 2010).

## 6.2 in vivo

### 6.2.1 Untersuchungen an Versuchstieren

Im Lungen- und Milzgewebe von LacI-transgenen Mäusen wurden Mutationen (als Indiz primärer Gentoxizität) nach inhalativer Exposition gegenüber 300 ppm beobachtet, nicht aber in der Leber (Mullin et al., 1995). Auch in Mausmilzzellen wurden nach inhalativer Exposition Mutationen induziert, wobei in dieser Studie von Ward et al. (1992) Effekte bereits bei der niedrigsten getesteten Konzentration von 40 ppb (130 µg/m<sup>3</sup>) beobachtet wurden, wenn auch bei der obersten der 3 Dosisgruppen (1 ppm) eine Abschwächung des Effektes ersichtlich war. Nach oraler Exposition verursachte Benzol dosisabhängig in Milz und Knochenmark von transgenen Mäusen Mutationen. Eine schwache Bildung von DNA-Addukten in Knochenmark und Leber von Mäusen und Ratten konnte in zahlreichen Studien über verschiedene Expositionspfade gezeigt werden (Übersicht in Whysner et al., 2004).

Eine Vielzahl von Studien beobachtete die Induktion von Chromosomenschäden (Chromosomenaberrationen, Mikronuklei und SCE) sowie die vermehrte Bildung von DNA-Brüchen und oxidative DNA-Schädigung in somatischen Zellen verschiedener Versuchstierspezies nach inhalativer und oraler Exposition sowie parenteraler Applikation (Übersichten in Whysner et al., 2004; ECB, 2008). Klastogene Effekte wurden mehrfach auch in Keimzellen berichtet (in Spermatogonien oder Spermatozyten von Mäusen nach oraler Exposition) und führten zu einer Einstufung von Benzol als Keimzellmutagen (Greim, 2002). Dominant-Letaltests kamen zu negativen oder unklaren Ergebnissen. In einigen Studien wirkte Benzol auch als

transplazentales Mutagen und verursachte z.B. Mikronuklei und Gendelektionen in Geweben von Mäuseembryonen. Auch in in vivo-Versuchen erwiesen sich die Metaboliten von Benzol (Hydrochinon, Catechol, trans-, trans-Muconsäure) als ursächlich für die gentoxischen Wirkungen (Albertini et al., 2003; ATSDR, 2007; BMAS, 2007; ECB, 2008; EPA, 2002; Greim, 2002; Khan, 2007; Roller et al., 2006; Whysner et al., 2004). Der Metabolit Phenol ist als Verdachtsstoff für Keimzellmutagenität eingestuft (DFG, 2009; EC, 2009).

Nach inhalativer Exposition von Ratten (100-400 ppm, 325-1300 mg/m<sup>3</sup>, 6h/d, 5 d/w, 2-4 Wochen) fanden Lee et al. (2005) eine zeit- und dosisabhängige Zunahme von DNA-Brüchen in Leber, Milz, Knochenmark, B- und T-Lymphozyten. Die Effekte waren nach 4 Wochen in allen untersuchten Kompartimenten ab 100 ppm signifikant, mit Ausnahme der Milz (signifikant erst ab 200 ppm). Bei Mäusen, die inhalativ gegenüber Benzol (10-100 ppm, 6h/d, 5 d/w, 2 Wochen) exponiert waren, fanden sich dosis-abhängig erhöhte Mikrokernraten in polychromatischen und normochromatischen Erythrozyten und eine erniedrigte Anzahl weisser Blutzellen (Faiola et al., 2003). In Einklang mit älteren Daten, war die Wirkung bei männlichen Tieren deutlich ausgeprägter als bei weiblichen Tieren. Es fanden sich aber keine signifikanten Unterschiede zwischen Mäusen (C57BL/6 und 129/Sv) mit dem homozygoten Wildtyp-Allel von Prkdc und Mäusen (129/SvJ) mit einem funktionalen Polymorphismus für dieses Gen.

In einer Studie des NTP (2007) zeigten sich nach oraler Exposition genetisch modifizierter Mäuse (haploinsuffizient für p16<sup>Ink4a</sup>/p19<sup>Arf</sup>) gegenüber 25-200 mg/kg • d nach 27 Wochen in beiden Geschlechtern bei allen Dosisgruppen signifikant erhöhte Raten an Mikronuklei in Erythrozyten. Bei männlichen Tieren war bereits die niedrigste Dosis von 25 mg/kg • d nach 6,5 Wochen Expositionsdauer wirksam, weibliche Tiere erwiesen sich als etwas weniger sensitiv.

Wetmore et al. (2008) exponierten Mäuse inhalativ gegenüber 50 ppm (162,5 mg/m<sup>3</sup>, 6 h/d, 8 Expositionen in 15 Tagen) und beobachteten die signifikante Induktion von Mikronuklei in Knochenmarkszellen. Gleichzeitige Toluolexposition verstärkte die Effekte.

Shen et al. (2006) weisen darauf hin, dass Defekte in Reparaturgenen, die im Zusammenhang mit der Reparatur von Doppelstrangbrüchen stehen, bei Mäusen zu massiven Auswirkungen auf hämatopoetische Stammzellen führen und die hämatotoxische Wirkung von Benzol verstärken. Entsprechende Polymorphismen wurden beim Menschen beobachtet (siehe dort).

BALB/C Mäuse wurden gegenüber 20 mg/m<sup>3</sup> (6 ppm) Benzol über 3 Monate exponiert und weitere 90 Tage beobachtet. Während dieser Zeit wurde die Mikronukleushäufigkeit in peripheren Blutretikulozyten erfasst und eine Knochenmarksanalyse durchgeführt. Die Mikrokernhäufigkeit war erhöht, auch nach der Erholungsphase. Die Knochenmarksuntersuchung zeigte das Auftreten von einem Myelodysplastischen Syndrom (MDS) in den exponierten Tieren (Zhang et al., 2010). Die Studie liegt uns derzeit nur als Zusammenfassung vor und ist ungenau berichtet.

Zieht man die längere Expositionsdauer bei Zhang et al. (2010) in Betracht, so sind erhöhte Mikrokernraten bei 6 ppm Benzol aber in Einklang mit den Befunden von Faiola et al. (2003), wo bei 2-wöchiger Exposition ab 10 ppm Gentoxizität beobachtet worden ist.

### 6.2.2 Humanbefunde

Die Untersuchung von humanen Knochenmarkszellen beruflich exponierter Personen zeigte Genduplikationen im Glycophorin A-Gen (Konversion vom heterozygoten zu homozygoten Typ in Erythrozytenvorläuferzellen, vermutlich aufgrund von Chromosomen-Rearrangement) (ATSDR, 2007).

Eine Reihe von Studien an Berufstätigen berichtet die Induktion von Chromosomenaberrationen, Schwesterchromatidaustausch, Mikronuklei und Aneuploidie in peripheren Lymphozyten von Benzol-exponierten Arbeitern bei Expositionskonzentrationen > 1 ppm, jedoch wird deren quantitative Einordnung aus methodischen Gründen kontrovers diskutiert (retrospektive Expositionsschätzung, mögliche Mischexposition, ungeeignete oder fehlende Kontrollgruppen) (ATSDR, 2007).

Benzol verursachte beim Menschen auch oxidative DNA-Schädigung (Bildung von 8-Hydroxydeoxyguanosin (8-OHdG) in peripheren Lymphozyten) und DNA-Brüche (Albertini et al., 2003; ATSDR, 2007; BMAS, 2007; ECB, 2008; EPA, 2002; Greim, 2002; Khan, 2007; Roller et al., 2006; Whysner et al., 2004).

#### *Mikronuklei, Chromosomenaberrationen, Effekte durch reaktive Sauerstoffspezies, Reparaturaktivität*

Fracasso et al. (2010) untersuchten beruflich gegenüber Benzol exponierte Arbeitnehmer (Expositionshöhe im Mittel ca. 30 µg/m<sup>3</sup>, im Maximum bis ca. 600 µg/m<sup>3</sup>) auf DNA-Schäden. Die Teilgruppen mit der höheren Benzolbelastung (gemessen über t,t-Muconsäure und S-Phenylmerkaptursäureausscheidung) zeigten signifikante Befunde im Comet-Assay, nicht jedoch hinsichtlich Chromosomenaberrationen in peripheren Lymphozyten (in einer Teilgruppe untersucht). Personen mit erhöhten Glutathiongehalt in den Lymphozyten wiesen geringere DNA-Schäden auf als solche mit niedrigerem Glutathiongehalt. Die Studie enthält jedoch relevante Schwächen (z.B. unzureichendes Altersmatching, unzureichende Diskussion einer schwächeren Wirkung bei Rauchern, keine konsistenten Zusammenhänge zwischen Expositionshöhe und GHS-Status).

Rekhadevi et al. (2010) untersuchten das Auftreten von Mikronuklei und Chromosomenaberrationen in 200 Tankstellenwärtern in Indien. Die Benzolexposition lag bei 0,34-0,46 ppm und wurde durch Biomonitoring-Daten zu Benzol, Phenylmerkaptursäure, Phenol und t,t-Mukonsäure abgesichert. Mikronuklei und Chromosomenaberrationen in Buccalzellen waren bei den Exponierten signifikant und konzentrationsabhängig erhöht. Die Berichterstattung in dieser Studie ist unbefriedigend, da z.B. die Gruppengrößen der Untergruppen nicht ausgewiesen und die Daten zur Kontrollgruppe nicht referiert werden. Wichtig ist, dass bei Tankstellenarbeitern Mischexpositionen mit anderen aromatischen Kohlenwasserstoffen und z.B. Dieselmotoremissionen auftreten.

Bagryantseva et al. (2010) untersuchten DNA-Läsionen bei tschechischen Busfahrern und Garagenarbeitern und fanden oxidative Schäden an der Lymphozyten DNA in Korrelation zur Benzolexposition (p<0,001), die bei den Busfahrern im Mittel (Median) bei 7,9 µg/m<sup>3</sup> (Spanne: 2,6-110 µg/m<sup>3</sup>; Median 2,4 ppb; Spanne 0,8-33 ppb) und bei Garagenarbeitern bei 6,8 µg/m<sup>3</sup> (4,6-76 µg/m<sup>3</sup>) lag. Bei dieser Expositionshöhe wurden noch keine erhöhten 8-OHdG-Ausscheidungen gefunden.

239 Arbeiter (Verkehrspolizisten, Taxifahrer, Tankstellenwärter) in Parma wurden auf Hinweise hinsichtlich oxidativer DNA-Schäden untersucht (Manini et al., 2010). 8-Oxo-7,8-dihydro-2'-deoxyguanosin (8-oxidGuo) und 8-oxo-7,8-dihydroguanin (8-oxoGua) wurden erfasst und in Korrelation zur Benzolexposition betrachtet. Die Studie zeigte signifikante Korrelationen bei den Biomarkern für oxidative Nukleinsäureschäden zur Benzolexposition ( $p < 0,0001$ ). Ein modulierender Einfluss des NQO1-Polymorphismus wurde gefunden. Die NAD(P)H:Chinonoxidotereduktase-1 (NQO1) ist eine Chinonreduktase des Zytoplasmas. Die äußere Exposition lag zwischen  $6 \mu\text{g Benzol} / \text{m}^3$  (Taxifahrer und Verkehrspolizisten) und  $38,3 \mu\text{g}/\text{m}^3$  (Median) für Tankstellenwärter.

Die Induktion von Mikronuklei in peripheren Lymphozyten wurde bei Verkehrspolizisten nachgewiesen, wobei sich noch keine benzoltypischen Effekte auf das Blutbild zeigten (Maffei et al., 2005). In dieser Studie führten bereits (aktuell gemessene) Konzentrationen von  $> 21 \mu\text{g}/\text{m}^3$  (6,5 ppb) Benzol bei einer Beschäftigungsdauer  $> 9$  Jahren zu signifikanten klastogenen Effekten. Bei der Exposition durch Straßenverkehr sind aber Einflüsse anderer Schadstoffe (z.B. PAK) mit klastogener Wirkung denkbar.

Qu et al. (2003) untersuchten gentoxische Effekte der Benzolexposition bei einem Kollektiv mit sehr niedriger Benzolexposition (vgl. Abschnitt 5). Die folgende Tabelle 7 gibt einen Überblick zu den vorgefundenen Raten an Chromosomenaberrationen.

**Tabelle 7: Chromosomale Veränderungen nach Benzolexposition (Auswahl) nach den Befunden von Qu et al. (2003)**

Variable	Nicht-Exponierte	Exponierte (>0 - 0,5 ppm)	Exponierte (>0 - 5 ppm)	Exponierte (>5 - 15 ppm)	Exponierte (>15 - 30 ppm)	Exponierte (>30 ppm)
n	51	16	73	33	8	16
Raucher (%)	31	0	36	55	0	38
Alter (Jahre)	33,3 ( $\pm 7,4$ )	36,2 ( $\pm 3,2$ )	36,6	36,3	38,5	33,4
4-Wochen-Mittelwert Benzolexposition (ppm)	0,004 $\pm 0,003$	0,140 $\pm 0,040$	2,26 $\pm 1,35$	8,67 $\pm 2,44$	19,9 $\pm 3,1$	51,8 $\pm 43,3$
Rate an Chromosomenaberrationen (Anzahl pro 100 Zellen, ohne Gaps)	1,78 $\pm 2,05$	3,63 $\pm 2,09$	2,99 $\pm 2,1$	2,74 $\pm 2,0$	2,14 $\pm 2,1$	3,69 $\pm 2,5$

In einem weiteren Kollektiv (Bulgarien) fanden Garte et al. (2008) erhöhte Raten an DNA-Einzelstrangbrüchen in peripheren Lymphozyten bei benzol-exponierten Arbeitern mit mutierten NQO1-, GSTT1- oder Epoxidhydrolase-Genen (additiv bei multiplen Varianten), nicht aber bei Personen mit gegenüber dem Normaltyp veränderten GSTM1- oder MPO-Allelen. Die Expositionshöhe lag bei  $1,75 (\pm 3,58)$  ppm Benzol.

Eine Studie von Tompa et al. (2005) bestätigt die vermehrte Bildung von Chromosomenaberrationen in 10 Benzol-exponierten Arbeitern im Vergleich zu 87 Kontrollpersonen aus der Industrie und 26 angepassten Kontrollen bei höherer Exposition. Die Rate der Chromosomenaberrationen korrelierte dabei mit der Höhe der jeweiligen Benzolexposition (maximal  $43,8 \pm 0,9 \text{ mg}/\text{m}^3$  im Jahre 1994;  $13 \pm 0,3$  ppm). Nach der Einführung von emissionsvermindernden Maßnahmen (mittlere Benzolexposition  $< 5 \text{ mg}/\text{m}^3$ ; 1,5 ppm) im Jahre 2000 lagen die Raten an Chromosomenaberration unterhalb der Werte der Kontrollpersonen aus dem

industriellen Bereich. Hämatotoxische Effekte wurden in dieser Studie nicht untersucht.

Die Häufigkeit von DNA-Brüchen in Lymphozyten exponierter Arbeiter (n=61) aus Südkorea korrelierte mit der Ausscheidungsrate der trans-, trans-Muconsäure als Maß für die interne Benzolbelastung. Die Benzolkonzentration in der Atemluft lag zwischen <0,1 und 3 ppm. (Sul et al., 2005).

Bei dem von Lan et al. (2004) untersuchten Kollektiv von Arbeitern in einer Schuhfabrik in China (vgl. Abschnitt 5) wurden auch Polymorphismen in einigen Genen untersucht, bei denen ein Zusammenhang mit veränderter Reparatur von Doppelstrangbrüchen vermutet wurde. Bestimmte Einzelnukleotidpolymorphismen in einzelnen Genen (WRN, TP53) korrelierten mit erhöhter Hämatotoxizität bei niedriger beruflicher Benzolexposition. WRN spielt eine wichtige Rolle bei der Kontrolle der Genstabilität. Eine normale Funktion von TP53 ist essentiell in der Reaktion auf DNA-Schäden (Shen et al., 2006).

Im gleichen Kollektiv zeigten sich weitere Polymorphismen mit ähnlicher Relevanz a) auf die Hämatotoxizität von Benzol (vgl. Abschnitt 5.1) und b) auf die DNA-Reparaturkapazität: Bestimmte Einzelnukleotidpolymorphismen (SNP) in einzelnen Genen (ERCC3 – „Excision repair cross complementing 3“) korrelierten mit erhöhter Hämatotoxizität (hier WBC, Granulozyten, NK Zellen) bei niedriger beruflicher Benzolexposition. ERCC3 spielt eine zentrale Rolle bei der Nukleotidexzisionsreparatur NER (Hogswood et al., 2009).

Im gleichen Kollektiv zeigten sich schließlich auch in einer dritten Folgestudie weitere Polymorphismen mit ähnlicher Relevanz wieder auf die Hämatotoxizität von Benzol und auf die DNA-Reparaturkapazität: Bestimmte SNP in einzelnen Genen (BLM, RAD51) korrelierten mit erhöhter Hämatotoxizität bei niedriger beruflicher Benzolexposition. RAD1 hat eine sehr wichtige Rolle bei der Katalysation des Strangaustauschs zwischen Einzel- und Doppelstrangbrüchen im Rahmen der homologen Rekombination. Genetische Störungen bei BLM werden mit Instabilität des Genoms und mit erhöhter Krebsgefährdung verbunden. Auch WRN (vgl. oben referierte Studie von Shen et al., 2006) bestätigte sich in dieser neuerlichen Studie als ebenso kritisches Gen mit entsprechenden Auswirkungen des Polymorphismus auf die Hämatotoxizität von Benzol und auf die genetische Stabilität (Lan et al., 2009). Galván et al. (2008) zeigten die Auswirkungen einer WRN-Depletion auf die gentoxische Wirkung des Benzolmetaboliten Hydrochinon in vitro.

Uzma et al. (2010) erfassten bei 428 Tankstellenwärtern das Auftreten von reaktiven Sauerstoffspezies (ROS), veränderte p53-Expression (und immunologische Veränderungen; vgl. hierzu Abschnitt 5). Die Expositionshöhe lag zum Zeitpunkt der Messung im Mittel bei 0,345 ppm (0,118 bis 0,527 ppm). Es wurden auch Urin- und Blutkonzentrationen von Benzol individuell erfasst und mit den Effektmarkern korreliert. Die Expression von p53 war bei langjähriger Exposition (3,5,8 Jahre) signifikant erhöht, was nach Meinung der Autoren einen Hinweis auf erhöhte Reparaturaktivität beinhaltet. Bei über 10jähriger Expositionsdauer wird dann eine „Gewöhnung“ bei p53 festgestellt, was als Hinweis auf ein Nachlassen der antitumorigenen Aktivität interpretiert wird. Bei den Arbeitern wurde eine signifikante ROS-Zunahme beobachtet (p<0,001). Malondialdehyd (als Marker für Lipidperoxidation) war erhöht und korrelierte mit der Expositionsdauer. Superoxiddismutase und Glutathion (als Marker für antioxidative Abwehr) waren herabgesetzt. Bei den Exponierten handelte es sich um Nichtraucher. Angaben zur

Exposition gegenüber anderen Schadstoffen (etwa Diesel, PAK) werden nicht berichtet.

Bi et al., (2010) untersuchten 7 benzolexponierte Arbeitnehmerinnen mit relevanten Blutbildveränderungen nach Benzolexposition auf veränderte Genexpressionen. Die Benzolbelastung zur Zeit der Diagnose entsprechender Erkrankungen lag bei 2,87-60,27 ppm. Die Aktivität des „DNA-dependent protein kinase subunits (DNA-PKcs)“ war bei den Patientinnen durchgängig erhöht. DNA-PKcs ist an der Reparatur von Doppelstrangbrüchen beteiligt (NHEJ-Reparaturen). Diese NHEJ-Reparatur ist störanfällig und kann zu Mutagenese und Leukämie beitragen. In vitro-Untersuchungen zeigen, dass Hydrochinon im mikromolaren Bereich DNA-PKcs mRNA induziert.

#### *Translokationen und numerische Chromosomenaberrationen bei beruflicher Exposition*

Zhang et al. (2007) fanden bei benzolexponierten Arbeitern in peripheren Blutzellen klastogene Effekte (t(14;18)-Translokationen), vergleichbar denen in Patienten mit nicht benzol-induzierten Lymphomen. Allerdings berichtete die Arbeitsgruppe in einer weiteren Veröffentlichung (McHale et al., 2008) nach Benzolexposition eine Abnahme dieser Translokationen. Diese Unterschiede werden mit unterschiedlichen Techniken (Fluoreszenz in situ Hybridisierung vs. „real-time PCR“) erklärt, welche unterschiedliche Zellpopulationen erfassen. In einer neuerlichen Arbeit bestätigten Zhang et al. ihre Befunde (Zhang et al., 2011). 47 gegenüber Benzol exponierte Arbeitnehmer wurden 27 angepassten Kontrollen gegenübergestellt. Die Exponiertengruppe wurde in Teilgruppen mit mittleren Expositionen höher oder niedriger als 10 ppm (>10 ppm-Gruppe, n=25: geom. Mittelwert: 28,33 ppm, Standardabweichung:  $\pm 20,09$  ppm; <10 ppm-Gruppe, n=22: 4,95 ppm  $\pm 3,61$  ppm) unterteilt. Nach Berücksichtigung von Störeinflüssen zeigte sich in der >10 ppm-Gruppe eine „Incidence Rate Ratio“ IRR von 1,57 (95%-CI: 1,05-2,36), p=0,028 für Trisomie insgesamt (Trisomieraten für Trisomie 5,6,7,8,10,14,16,21,22 dosisabhängig erhöht) und für Monosomie (IRR nichtsignifikant, jedoch ebenfalls dosisabhängig, erhöht: 1,29 (0,89-1,89), p=0,182; Monosomie: 5,6,7,10,16,19). Der Effekt für Trisomie 21 (Down's Syndrom) war am stärksten ausgeprägt. Hier wird auf Basis anderer Studien ein Zusammenhang mit einer veränderten Expression des RUNX1-Gens diskutiert, das mit dem Down's Syndrom sowie mit der Differenzierung hämatopoetischer Stammzellen in Verbindung gebracht wird. Aneuploidien bei einer Exposition kleiner als 10 ppm Benzol waren nicht signifikant erhöht. Nach Meinung der Autoren wird dies auf eine mangelhafte statistische Power der Studie zurückgeführt.

Xing et al. (2010) untersuchten 33 Benzolexponierte in China (Verwendung von Benzol in Klebern für Schuhe, Papiertüten und Schmirgelpapier) in einer Fall-Kontrollstudie, die im Mittel (Median) gegenüber 2,9 ppm (bis zu 24 ppm) Benzol ausgesetzt waren. Neun Personen hatten Exposition gegenüber bis zu 1 ppm Benzol. Zugleich wurde die Ausscheidung von t,t-Mukonsäure im Biomonitoring erfasst. Es wurden Aneuploidien in den Chromosomen X,Y, und 21 in Spermien geprüft. Disomie X und Hyperhaploidie für alle drei Chromosomen waren signifikant und dosisabhängig erhöht, und unterschied sich bereits bei der niedrig exponierten Gruppe ( $\leq 1$  ppm Exposition) signifikant von der Kontrolle. Beim Monitoring der Expositionshöhe werden relevante Unsicherheiten diskutiert.

Kim et al. (2010) untersuchten 30 gegenüber Benzol und anderen Lösemitteln exponierte Arbeiter aus einer Raffinerie in Korea auf Aneuploidie (10 Kontrollen) und versuchten, die Ursache von Mikronuklei zuzuordnen. Die Exposition lag bei durchschnittlich 0,51 ppm mit nur 0,14-4,77 ppm-Jahren (Die Exponiertengruppe wurde aufgeteilt in Expositionen <1,5 ppm-Jahre oder ≥1,5 ppm-Jahre). Die Gesamtaneuploidiehäufigkeit für die Chromosomen 7 und 9 (nur diese untersucht) war gegenüber der Kontrolle nach Korrektur um Störgrößen erhöht ( $p < 0,05$ ). Die Aneuploidie war im Wesentlichen durch Nondisjunktionen bedingt. Im Mikronukleus-Zentromer-Assay zeigte sich eine MNC- Erhöhung bei den Exponierten ( $p < 0,001$ ). Die Mehrzahl der Mikronuklei resultierte von Chromosomenbrüchen. Die Effekte waren mit der Expositionshöhe korreliert. Die Aussagekraft der Studie ist durch die niedrige Fallzahl, die geringe Anzahl der Kontrollen und den möglichen Einfluss anderer flüchtiger Verbindungen aus der Raffinerie beschränkt.

Qu et al. (2003) untersuchten gentoxische Effekte der Benzolexposition bei einem Kollektiv mit sehr niedriger Benzolexposition (vgl. Abschnitt 5; zur Expositionshöhe und zu Chromosomenaberrationen, siehe oben, Tabelle 7). Bei Hyperdiploidie (45 Chromosomen) und Aneuploidie (45 oder ≥ 47 Chromosomen) zeigte sich ein starker Zusammenhang mit der Expositionshöhe (mittlere Benzolkonzentration/Jahr), nicht jedoch mit der Expositionsdauer.

Benzol induzierte bei beruflicher Exposition Aneuploidien (Monosomie der Chromosomen 5 und 7, Trisomie der Chromosomen 8 und 21) in peripheren Lymphozyten und Knochenmarkszellen, wobei die Benzolmetaboliten Hydrochinon und 1,2,4-Trihydroxybenzol als ursächlich für diese Effekte identifiziert wurden. Diese numerischen Aberrationen wurden auch in Patienten mit nicht benzolinduzierter Akuter Myeloischer Leukämie (AML) und Vorläuferstadien gefunden (Zhang et al., 2005a).

Irons et al. untersuchten in China 80 Fälle mit einem myelodysplastischen Syndrom (MDS), bei denen Hinweise auf eine erhöhte Benzolexposition vorlag (Fragebogen und Erfahrung der Autoren), und verglichen diese mit anderen MDS-Fällen. 29 Fälle mit hoher Benzolexposition („signal cases“) wurden näher analysiert. Es waren keine Hinweise auf zytogenetische Veränderungen (z.B. der sonst häufig gefundenen Trisomie 8) in der hoch gegenüber Benzol exponierten Gruppe erkennbar (Irons et al., 2010).

## 7. Kanzerogenität

### 7.1 Tierexperimentelle Daten

In Tierstudien wirkte Benzol als pluripotentes Kanzerogen, wobei sich Mäuse als empfindlichste Spezies erwiesen. Die vorliegenden Tierstudien zu inhalativer und dermalen Exposition sind durchwegs älteren Datums und genügen nicht heutigen Standards (ATSDR, 2007; ECB, 2008).

#### **inhalativ**

Bereits nach 16 Wochen inhalativer Exposition von Mäusen gegenüber 100 und 300 ppm (325 und 975 mg/m<sup>3</sup>, 5 h/d, 6 d/w) zeigte sich in der Nachbeobachtungsphase das vermehrte Auftreten von Tumoren der Zymbaldrüse, Ovarien, Harder'scher

Drüse und Lunge sowie von Leukämien (u.a. Thymuslymphome, myelogene Leukämie). Vergleichbare Befunde wurden auch in Studien mit lebenslanger Exposition erhalten. Bei Ratten wurde nach 2-jähriger bzw. lebenslanger Exposition gegenüber 100-200 ppm (325-650 mg/m<sup>3</sup>, 4-7 h/d, 5 d/w) erhöhte Inzidenzen für Tumore der Zymbaldrüse sowie myelogene Leukämien berichtet (ATSDR, 2007; ECB, 2008; EPA, 1998; Khan, 2007; Roller et al., 2006).

Eine Studie von Kawasaki et al. (2009) berichtet vom vermehrten Auftreten von Lymphomen und Leukämien nach 26-wöchiger intermittierender Exposition (6 h/d, 5 d/w) von C3H/He-Mäusen gegenüber 33-300 ppm (107-975 mg/m<sup>3</sup>), vermehrt in „knockout“-Tieren mit heterozygoten oder homozygoten Defekten im Trp53-Gen (DNA-Reparatur-defizient). Während bei Wildtypmäusen die Häufigkeit hämatopoetischer Neoplasmen (HPN) bei Exposition gegenüber 100 ppm bei 25% lag, waren bei Trp53-defizienten Tieren bei 100 ppm bei 83,3% (heterozygot Trp53-defizient) bzw. 70% (homozygot Trp53-defizient) HPN zu sehen. Die Autoren vermuten als Ursache der relativ niedrigen Sensitivität von Mäusen hinsichtlich der benzolinduzierten Leukämieentstehung eine hohe Reparatur- und Apoptose-rate in Wildtyp-Tieren, welche die bereits bekannte eingeschränkte Eignung von Mäusen als Modell der Leukämieentstehung beim Menschen bestätigt.

#### **dermal**

Im Rahmen von (älteren) dermalen Kanzerogenitätsstudien an Mäusen wurde Benzol als Lösungsmittel verwendet und deshalb als Vehikel bei einer großen Zahl von Tieren in Kontrollgruppen appliziert. In keiner dieser Gruppen verursachte Benzol Hauttumore, jedoch können über andere Lokalisationen keine Aussagen gemacht werden (ATSDR, 2007).

#### **oral**

In einer Studie des NTP traten bei Ratten (2-jährige Exposition bis zu 200 mg/kg • d) erhöhte Raten an Tumoren der Zymbaldrüse, Mundhöhle und Haut auf. Bei Mäusen (2-jährige Exposition bis zu 100 mg/kg • d) waren neben dem vermehrten Auftreten von malignen Lymphomen weitere Zielorgane die Zymbal-, Harder'schen und Präputialdrüsen, Lunge, Ovarien und Mamma (ATSDR, 2007; ECB, 2008; Khan, 2007; Roller et al., 2006).

In einer weiteren Studien an genetisch modifizierten Mäusen (haploinsuffizient für p16<sup>Ink4a</sup>/p19<sup>Arf</sup>) zeigten sich nach oraler Exposition gegenüber bis zu 200 mg/kg • d nach 27 Wochen bei der höchsten Dosis bei männlichen Tieren eine signifikant erhöhte Rate an malignen Lymphomen („clear evidence of carcinogenicity“). Bei weiblichen Tieren war keine kanzerogene Aktivität erkennbar. Dieser Mäusestamm besitzt aufgrund des Gendefektes in 2 Tumorsuppressorgenen eine erhöhte Sensitivität für die Ausbildung von Lymphomen und Fibrosarkomen (erste Tumoren durchschnittlich im Alter von 29 Wochen) und wird deshalb als Testsystem für Kurzzeitstudien von Kanzerogenen verwendet (NTP, 2007).

#### **intraperitoneal**

Trächtigen CD-1-Mäusen und C57B1/6N-Mäusen wurden über verschiedene Tage der Trächtigkeit 200 mg/kg oder 400 mg/kg Benzol intraperitoneal verabreicht. In den transplazental exponierten Nachkommen von CD-1 Mäusen wurde eine signifikante Tumorerhöhung beobachtet, nicht jedoch in dem anderen Mäusestamm. Es zeigten sich Tumoren der Leber und des haematopoetischen Systems. Die



Knochenmarkszellen weiblicher CD-1 Mäuse (Nachkommen) zeigten relevante Veränderungen in Knochenmarkszellen (Badham et al., 2010).

## 7.2 Humandaten

Zahlreiche Studien untersuchten die kanzerogene Wirkung von Benzol nach beruflicher Exposition. Es wurden vor allem Zusammenhänge zum vermehrten Auftreten von Akuter Nichtlymphatischer Leukämie (ANLL), speziell AML berichtet, aber auch mögliche Assoziationen zu anderen Leukämieformen (z.B. Chronische Myeloische Leukämie CML), chronische lymphatische Leukämie (CLL), multiplen Myelomen (MM), akute lymphatische Leukämie (ALL) und Non-Hodgkin's Lymphomen (NHL)). Weiterhin bestehen Verdachtsmomente auf vermehrte Tumorbildung in anderen Organen, wie z.B. Lunge, Magen und Leber. Während Benzol weitgehend übereinstimmend als Verursacher von Leukämien angesehen wird, ist die Datenlage zu anderen Lokalisationen widersprüchlicher. Übersichten geben z.B. ATSDR (2007), BMAS (2007), ECB (2008), Pyatt (2004), Roller et al. (2006) und Schnatter et al. (2005). Eine Beteiligung von Benzolexposition an der Entstehung anderer Leukämieformen als ANLL wird u.a. durch Lamm et al. (2009), Mehlman (2006a; b) sowie Steinmaus et al. (2008) diskutiert. Eine neuerliche Metaanalyse von Vlaanderen et al. sieht auch ein signifikant erhöhtes Risiko für MM, ALL und CLL (Vlaanderen et al., 2011), siehe unten.

### *Pliofilm-Kohorte*

Als wichtige Datenbasis ist die sogenannte Pliofilm-Kohorte aus den USA mit den Auswertungen von u.a. Rinsky et al. (2002; 1987) sowie Paxton (1996) und Crump (1996) zu nennen. Bei dieser Kohorte handelt es sich um Arbeiter aus 3 Fabriken in Ohio, in denen Naturgummi in Benzol gelöst und durch späteres Verdampfen von Benzol ein Gummifilm (Pliofilm) hergestellt wurde. Es wurde auf Basis vorliegender Expositionsmessungen an verschiedenen Arbeitsplätzen für jeden Beschäftigten eine „Job-Exposure-Matrix“ erstellt und die kumulative Exposition in ppm-Jahren errechnet.

Rinsky et al. (1987) beobachteten 1165 Arbeiter (männlich, weiß) mit mindestens 1 Tag Beschäftigungsdauer zwischen 1940 und 1965. Bis zum Stichtag Ende 1981 traten insgesamt 9 Leukämiefälle (SMR 3,37, 1,54-6,41) sowie 15 Fälle von Tumoren des lymphatischen und hämatopoetischen Systems auf (SMR 2,27, 1,27-3,73). Unter Berücksichtigung von Expositionskategorien ergaben sich SMR für Leukämie von 1,09 (0,12-3,93) für < 40 ppm-Jahre, 3,22 (0,36-11,65) für 40 bis 199 ppm-Jahre, 11,86 (1,33-42,85) für 200-399 ppm-Jahre und 66,37 (13,34-194) für  $\geq$  400 ppm-Jahre. Für multiple Myelome ergab sich auf Basis von 4 Fällen eine SMR von 4,09 (1,10-10,47), wobei keine klare Dosis-Wirkungsbeziehung ableitbar war, jedoch durchwegs lange Latenzzeiten vorlagen.

Wong (1995) wertete die Pliofilm-Daten speziell hinsichtlich des vermehrten Auftretens von AML (6 Fälle) aus und fanden folgende SMR: für < 40 ppm-Jahre: 1.19 (0.03-6.63, Basis 1 Fall), 40-200 ppm: 0 (Basis 0 Fälle), für diese beide Kategorien kombiniert: < 40-200 ppm-Jahre: 0,91 (0,02-5,11, Basis 1 Fall); Kategorie 200-400 ppm-Jahre: 27,21 (3,29-98,24, Basis 2 Fälle), > 400 ppm-Jahre: 98,37 (20,28-287,65, Basis 3 Fälle). Auf alle 6 Fälle bezogen resultierte eine SMR von 5,03 (1,84-10,97). Für multiple Myelome ergab sich bei dieser Auswertung auf Basis von 4

Fällen eine SMR von 2,91 (0,79-7,45) ohne Dosis-Wirkungsbeziehung bei Kategorisierung der Exposition.

In Paxton (1996) wurde ein „follow-up“ dieser Kohorte bis zum 31.12.1987 (14 Leukämiefälle) von verschiedenen Autoren (Rinsky, Crump, Paustenbach) mit unterschiedlichen Ansätzen der Expositionsabschätzung ausgewertet. Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle 8 zusammengestellt. In dieser Arbeit wird eine mögliche Wirkungsschwelle von 50 ppm-Jahren diskutiert. Die Expositionsabschätzung nach Paustenbach (Paxton, 1996) wird aber wegen einer Überschätzung der Exposition kritisiert (vgl. z.B. EPA, 1998); sie wird aber dennoch bei der Abschätzung der Krebsrisiken dieser Kohorte verwendet (WHO, 2000). Eine Korrektur erfolgte mittlerweile auch durch den Autor selbst: Williams und Paustenbach (2003) sehen in dieser Expositionsabschätzung eine Überschätzung der tatsächlichen Exposition (und damit einer Unterschätzung des Risikos) um den Faktor 2-4. Eine Umsetzung in die Risikoabschätzung steht aber noch aus.

**Tabelle 8: SMR für Leukämie auf Basis der Pliofilm-Kohorte, verschiedene Ansätze der Expositionsabschätzung in Paxton (1996)**

	Rinsky	Crump	Paustenbach
	<b>SMR (95% Konfidenzintervalle)</b>		
<b>ppm-Jahre</b>			
<5	1,97 (0,41-5,76)	0,88 (0,02-4,89)	1,33 (0,03-7,43)
5-50	2,29 (0,47-6,69)	3,25 (0,88-8,33)	1,79 (0,22-6,45)
50-500	6,93 (2,78-14,28)	4,87 (1,79-10,63)	2,8 (0,76-7,16)
> 500	20 (0,51-111,4)	10,34 (2,13-30,21)	11,86 (4,76-24,44)

Eine Auswertung dieser Kohorte durch Crump (1996) ergab eine sublineare Dosis-Wirkungsbeziehung mit SMR-Werten von 1,2 (keine Angabe von Konfidenzintervallen) für 0-45 ppm-Jahre, 2,7 für 45-400 ppm-Jahre, 3,1 für 400-1000 ppm-Jahre und 28,1 für >1000 ppm-Jahre.

Ein weiteres „follow-up“ dieser Kohorte wurde von Rinsky et al. (2002) veröffentlicht. Es umfasste die Sterblichkeit eines Kollektivs von 1291 Personen bis zum 1.1.1996. Basierend auf 15 Fällen von Leukämie ergab sich eine SMR von 2,56 (1,43-4,22).

Richardson (2008; 2009) untersuchte die zeitliche Assoziation zwischen Benzolexposition und dem Auftreten der Leukämien in der Pliofilm-Kohorte. Der Autor fand das höchste Risiko in den ersten 10 Jahren nach Expositionsbeginn und bei Personen  $\geq$  45 Jahren. Silver et al. (2002) beobachteten bei der gleichen Kohorte eine Abnahme der Risiken für Leukämie und auch multiplen Myelomen mit zunehmender Latenzzeit, was sich i.w. mit den Aussagen von Richardson (2008) deckt.

#### *Andere Kohorten*

Seniori Constantini et al. (2003) untersuchten eine Kohorte italienischer Arbeiter und Arbeiterinnen (1687, davon 891 männlich) in der Schuhindustrie, welche gegenüber einem benzolhaltigen Kleber exponiert waren. Es ergaben sich SMR-Werte für Leukämie von 1,4 (0,2-5,0) für kumulative Exposition < 40 ppm-Jahre, 3,7 (0,1-20,6) für 40-99 ppm-Jahre, 3,0 (0,4-10,9) für 100-199 ppm-Jahre und 7,0 (1,9-18,0) für > 200 ppm-Jahre (signifikant erst ab >200 ppm-Jahren).

In einer Untersuchung an chinesischen Chemiearbeitern von Hayes et al. (1997) wurden insgesamt 74828 benzol-exponierte Personen in 679 Fabriken erfasst und mit 35805 Nichtexponierten verglichen. Auf Basis von 38 Leukämiefällen ergab sich ein relatives Risiko (RR) von 2,5 (1,2-5,1) und für ANLL auf Basis von 21 Fällen ein RR von 3,0 (1,0-8,9). Bezogen auf verschiedene Expositionskategorien waren die relativen Risiken für Leukämien 1,9 (0,8-4,7) für kumulative Exposition < 40 ppm-Jahre, 3,1 (1,2-8,0) für 40-99 ppm-Jahre und 2,7 (1,2-6,0) für  $\geq 100$  ppm Jahre.

Wong et al. (1987a; b) untersuchten US-amerikanische Chemiearbeiter, welche mindestens 6 Monate gegenüber Benzol exponiert waren (hier wiedergegeben nur die Ergebnisse der kontinuierlich Exponierten, nicht die mit nicht dauerhaften Exposition). Unter 3536 Exponierten wurden 6 Leukämiefälle beobachtet, was einer SMR von 4,43 (0,496-2,959) entspricht. Unterschieden nach Expositionskategorien ergaben sich SMR von 0,968 für < 15 ppm-Jahre (Konfidenzintervalle nicht angegeben), 0,782 für 15-60 ppm-Jahre und 2,758 für > 60 ppm-Jahre. Allerdings wird in der Arbeit auf die quantitativen Unsicherheiten der Expositionsschätzungen verwiesen.

Ein „follow-up“ zu einer dieser Produktionsstätten von Collins et al. (2003) berichtet 6 Leukämiefälle entsprechend einer SMR von 1,7 (0,6-3,8); differenziert nach Expositionskategorien ergaben sich SMR von 0,69 (< 1 ppm-Jahr), 1,38 (1-6 ppm-Jahre) und 1,71 (> 6 ppm-Jahre) (Konfidenzintervalle nicht angegeben). Die kumulative Exposition in dieser Studie war im Vergleich mit anderen Studien sehr niedrig. Wegen Mängeln in der Darstellung der statistischen Auswertung (siehe Vlaanderen et al., 2010) scheinen diese Befunde aber weniger verlässlich und werden nicht in die Gesamtauswertung (Abschnitt 9.2) aufgenommen.

Bloemen et al. (2004) berichten bei einer Kohorte von 2266 Chemiearbeitern (Dow Chemical) 12 Fälle von Leukämie (SMR 1,14, 0,59-1,99); differenziert nach Expositionskategorien ergaben sich SMR von 0,69 (0,23-1,62) für < 28,3 ppm-Jahre, 1,71 (0,35-5,00) für 28,3-79,1 ppm Jahre und 2,55 (0,70-6,54) für > 79,1 ppm-Jahre. Bei den geringen Fallzahlen resultieren in dieser Studie große Konfidenzintervalle in den Subkategorien (bis zu Faktor > 200).

Swaen et al. (2005) beobachteten in einer Kohortenstudie an 311 Arbeitern der Caprolactamproduktion mit relativ hoher geschätzter Benzolexposition (159 ppm-Jahre) keine erhöhte Standardmortalitätsrate für Leukämien (SMR 85,6). Die Studie besaß eine geringe Sensitivität (nur ein beobachteter Leukämiefall).

Kirkeleit et al. (2008) schätzten auf Basis einer norwegischen Kohorte von ca. 28000 Arbeitern in der Petrolindustrie und Vergleichsdaten von ca. 366000 nichtexponierten Arbeitern ein zusätzliches Risiko für hämatologische Neoplasien von 1,90 (1,19-3,02), differenziert nach AML (2,89, 1,25-6,67) und multiplen Myelomen (2,49, 1,21-5,13). Es erfolgte keine Expositionskategorisierung, so dass die Befunde nur als qualitative Unterstützung der bereits vorliegenden Daten dienen können.

Eine Studie von Sorahan et al. (2005) konnte bei einer Kohorte von 5514 Benzol-exponierten Arbeitern in England und Wales (UK) nur geringfügig, aber nicht signifikant erhöhte Risiken für Leukämie nachweisen. Diese Studie wird aber wegen unklarer Klassifikation der leukämiebedingten Todesfälle, Mängeln der Abschätzung der Exposition sowie fehlender Auswertung der Latenzzeit kritisiert (Infante, 2005; 2006).

Merlo et al. (2010) führten eine Kohortenstudie im Raum Genua durch, bei der die Todesursachen von 6510 Busfahrern und 2073 Buswartungsarbeitern erfasst

wurden. Die SMR für Leukämien war herabgesetzt (0,77 (95%-CI: 0,51-1,16)), wobei die mittlere Benzolexposition bei 4-7 ppb lag.

#### *Fall-Kontrollstudien*

Eine eingebettete Fall-Kontrollstudie an ca. 170000 Arbeitern der EDF-GDF (Frankreich) über mögliche Ursachen von Leukämie (u.a. auch Benzol) von Guénel et al. (2002) ergab anhand von 24 Fällen und 48 Kontrollen nach Quantifizierung durch eine Job-Exposure-Matrix ein signifikantes Risiko (Zusatzrisiko, OR) von 3,6 für Leukämie (1,1-11,7, 6 Fälle) in der höchsten Expositions-kategorie von > 16,8 ppm-Jahren, welches allerdings nach Adjustierung auf die anderen Einflussfaktoren (Asbest, Lösemittel, Kohlenteere) nur noch bei 3,1 lag und nicht mehr statistisch signifikant war. Die adjustierten (nicht signifikanten) OR für die niedrigeren Expositions-kategorien betragen 0,7 (< 1,1 ppm-Jahre, 6 Fälle), 1,1 (1,1-5,5 ppm-Jahre, 7 Fälle) und 1,4 (5,5-16,8 ppm-Jahre, 5 Fälle) (Konfidenzintervalle nicht angegeben).

Glass et al. (2003) führten eine eingebettete Fall-Kontrollstudie an Arbeitern der australischen Ölindustrie durch, welche 33 Leukämiefälle und 395 Kontrollen umfasste. Diese Studie kommt bei niedrigen Expositionen zu höheren Risiken als die bereits berichteten Untersuchungen. Folgende Zusatzrisiken (OR) für Leukämie wurden beobachtet: 3,9 (0,9-17,1) bei 1-2 ppm-Jahren (Basis 6 Fälle), 6,1 (1,4-26,0) bei 2-4 ppm-Jahren (Basis 8 Fälle), 2,4 (0,4-13,6) bei 4-8 ppm-Jahren (Basis 9 Fälle), 5,9 (1,3-27,0) bei 8-16 ppm-Jahren (Basis 5 Fälle) und 98,2 (8,8-1090) bei > 16 ppm-Jahren (Basis 3 Fälle). Eine signifikante Zunahme von multiplen Myelomen/Non-Hodgkin Lymphomen konnte in dieser Studie nicht gezeigt werden. Diese Studie beinhaltet individuelle Expositionsangaben seit 1975 und damit eine sehr verlässliche Expositionsschätzung (BMAS, 2007).

Zu dieser Studie veröffentlichten Glass et al. (2005) eine weitere eingebettete Fall-Kontrollstudie, bei der vor allem eine Neubewertung und -kategorisierung der Expositionshöhe erfolgte, was zu niedrigeren Risiken als in der Erstbewertung führte. Es ergaben sich die in der folgenden Tabelle 9 zusammengefassten Expositions-Risikobeziehungen, wobei bei den vorliegenden niedrigen Expositionen eine Relevanz von Expositionsspitzen ohne Sättigung des Metabolismus plausibel erscheint.

In Glass et al. (2006) wurden diese Ergebnisse zusammengefasst, die Arbeit enthält keine zusätzlichen neuen Ergebnisse.

**Tabelle 9: Zusatzrisiken (OR) für Leukämie auf Basis von Arbeitern der australischen Ölindustrie (Glass et al., 2005)**

kumulative Exposition (ppm-Jahre)	OR (95% Konfidenzintervalle)	OR (95% Konfidenzintervalle) unter Berücksichtigung von Expositionsspitzen
≤ 2	1,0	1,0
>2-4	2,89 (0,97-8,52)	3,07 (1,02-9,28)
>4-8	1,17 (0,27-4,98)	1,22 (0,28-5,22)
>8-16	3,11 (0,91-10,56)	2,68 (0,71-10,08)
>16	51,88 (5,64-477)	7,79 (2,34-25,89)

Es liegen eine Reihe von (älteren), zum Teil unveröffentlichten Untersuchungen vor, welche Kohorten aus zwei Shell Raffinerien untersuchten (u.a. Austin et al., 1986; siehe Egilman et al., 2007; McCraw et al., 1985). Diese Studien sind wegen Mängeln in der Auswertung und Expositionsabschätzung sowie der Interpretation der Befunde zu kritisieren.

In einer eingebetteten Fall-Kontrollstudie an Arbeitern der kanadischen Ölindustrie (14 Leukämiefälle, 55 Kontrollen) zeigten Schnatter et al. (1996a; 1996b) nur marginal erhöhte Risiken für Leukämie. Bei den insgesamt niedrigen Expositionen in dieser Studie (generell im Schichtmittel < 1 ppm) und den geringen Fallzahlen lässt sich keine verlässliche Expositions-Risikobeziehung aufzeigen.

In gleicher Weise gilt dies auch für die Fall-Kontrollstudie Studie von Rushton und Romaniuk (1997). Die Autoren verglichen in einer eingebetteten Fall-Kontrollstudie an Arbeitern im englischen Treibstoffvertrieb 91 Fälle von Leukämie mit 364 Kontrollen und beobachteten ein zusätzliches nicht signifikantes Risiko für AML und monozytische Leukämie von 2,8 (0,8-8,5) beim Vergleich der Expositionsgruppen 4,5-45 ppm-Jahre und < 0,45 ppm-Jahre. Bei weiterer Kategorisierung der Exposition war keine klare Dosis-Wirkungsbeziehung ersichtlich (bei nur kleinen Fallzahlen pro Subkategorie). Bei der Bewertung dieser Studie ist die überwiegend niedrige Exposition zu beachten, welche bei über 50% der betrachteten Fälle unterhalb von 1 ppm-Jahr lag. Auch die Autoren verweisen auf die daraus resultierenden Unsicherheiten einer Risikocharakterisierung im Bereich von > 5-10 ppm-Jahren.

Wong et al. (2009) berichten aus der Shanghai Health Studie, bei der 722 AML-Fälle mit 1444 altersangepassten Kontrollen verglichen wurden. In der Veröffentlichung von 2009 wird deutlich, dass zahlreiche Faktoren außer der Benzolexposition relevanten Einfluss auf das AML-Risiko haben können, wobei jeweils deutliche Unterschiede nach Subtypen der AML bestehen. In einer ergänzenden Veröffentlichung von Wong et al. (2010a) wurde eine Odds Ratio von 1,43 (95% C.I.: 1,05-1,93) vorgefunden, nach Berücksichtigung verschiedener Einflussfaktoren jedoch ein nur nichtsignifikant erhöhtes Risiko (Odds Ratio 1,2 (95% CI: 0,84-1,71)). Bei einem speziellen Subtyp (AML mit t(8;21)(q22;q22)) zeigte sich eine deutlich höhere Odds Ratio (OR: 4,26 (1,1-17,96)), jedoch basierend auf nur 10 Fällen. Die Exposition gegenüber Benzol wurde in fünf Gruppen unterteilt: EG0 (keine Exposition), EG1 (< 1 mg/m<sup>3</sup>), EG2 (1-10 mg/m<sup>3</sup>), EG3 (10-100 mg/m<sup>3</sup>), EG4 (> 100 mg/m<sup>3</sup>). Bei Langzeitexposition war das Exzessrisiko eher reduziert, während bei Exposition unter 10 Jahren eine erhöhte Signifikanz vorlag. Die beiden Expositionsgruppen mit der höchsten Exposition (EG3,4) wiesen im Trend die höchsten Odds Ratios bei AML-total auf. Bei AML mit t(8;21)(q22;q22) waren weder die Expositionsdauer noch die Expositionshöhe noch der Zeitpunkt der ersten Exposition gegenüber Benzol mit dem Leukämierisiko korrelierbar.

Irons et al. untersuchten in China 80 Fälle mit einem myelodysplastischen Syndrom (MDS), bei denen Hinweise auf eine erhöhte Benzolexposition vorlagen (Fragebogen und Erfahrung der Autoren), und verglichen diese mit anderen MDS-Fällen. 29 Fälle mit hoher Benzolexposition („signal cases“) wurden näher analysiert. Ein Subtyp von MDS („unklassifizierbare MDS“) trat bei den Benzol-exponierten gehäuft auf, mit einer OR von 11,12 (95% C.I.: 1,34-92,4) auf der Basis von 7 Fällen. Bei anderen Subtypen von MDS war keine signifikante Erhöhung zu finden (Irons et al., 2010).

*Metaanalysen*

Infante (2006) führte auf Basis der Daten von 8 Kohorten eine Metaanalyse zum vermehrten Auftreten von multiplen Myelomen infolge von Benzolexposition durch und leitete ein signifikant erhöhtes relatives Risiko von 2,13 (1,31-3,46) ab.

Vlaanderen et al. (2011) führten eine neuerliche Metaanalyse zu verschiedenen Lymphomasubtypen durch. Die folgende Tabelle 10 gibt eine Übersicht zu den dort gefundenen relativen Risiken.

**Tabelle 10: Metaanalyse der relativen Risiken für AML und fünf Lymphoma-Subtypen in Kohortenstudien nach Benzolexposition nach Vlaanderen et al. (2011)**

Lymphoma Subtyp		Anzahl Studien	Anzahl exponierte Fälle	Meta relatives Risiko (alle Studien); 2. Wert: nur Studien mit Start follow up $\geq$ 1970	Bemerkung
AML	Akute myeloische Leukämie	21	217	1,68 (1,35-2,10); 2,08 (1,59-2,72)	Heterogen zwischen Studien
HL	Hodgkin Lymphom	27	146	0,99 (0,83-1,19)	
NHL	Non-Hodgkin Lymphom oder Lymphosarkome/Retikulosarkome	33	647	1,00 (0,89-1,13); 1,21 (0,94-1,55)	Heterogen zwischen Studien
MM	Multiple Myeloma	26	284	1,12 (0,98-1,27)	
ALL	Akute lymphatische Leukämie	17	47	1,44 (1,03-2,02)	
CLL	Chronische lymphatische Leukämie	18	111	1,14 (0,78-1,67); 1,63 (1,09-2,44)	Heterogen zwischen Studien

*Daten zu weiteren Lokalisationen*

## a) CML

Lamm et al. (2009) finden in einer Metaanalyse zu Fall-Kontrollstudien bei chronischer myeloischer Leukämie (CML) keinen signifikanten Zusammenhang mit einer Benzolexposition.

## b) NHL und HL

Die Beteiligung von Benzol an der Entstehung von Non-Hodgkin-Lymphomen (NHL) wird kontrovers diskutiert. So fanden Smith et al. bei einer umfangreichen Metaanalyse von 43 Studien (überwiegend Untersuchungen an der Allgemeinbevölkerung mit potenzieller Benzolexposition) bei 40 Veröffentlichungen eine erhöhte Inzidenz für NHL und bei 23 Untersuchungen einen statistisch signifikanten Effekt (Smith et al., 2007). Goldstein (2010) bestätigt diese Auswertung auf Basis mechanistischer Überlegungen und sieht bei den negativen Studien insbesondere einen „healthy worker effect“ als gegenläufigen Einflussfaktor.

Eine Metaanalyse von Steinmaus et al. (2008) kam zu ähnlichem Ergebnis. Gemittelt über alle 22 ausgewerteten Studien ergab sich ein relatives Risiko von 1,22 (1,02-1,47), bei Ausschluss von Studien (Fall-Kontroll- und Kohortenstudien) mit zweifelhafter Benzolexposition in den exponierten Gruppen ein relatives Risiko von 1,49 (1,12-1,97).

Auch Mehlmann et al. (2006a) kamen bei einer Auswertung von epidemiologischen Studien anhand eines „weight-of-evidence“- Ansatzes zu dem Schluss, dass eine Exposition gegenüber Benzol oder benzolhaltigen Lösemitteln oder Produkten mit einem erhöhten Risiko für NHL assoziiert sei.

Dagegen fanden Lamm et al. (2005) bei einer Metaanalyse kein erhöhtes NHL-Risiko. Diese Autoren werteten neben 11 Studien auf Basis der Allgemeinbevölkerung 10 Studien an beruflichen Kollektiven aus.

Swaen et al. (2010a) kritisieren die Auswertung von Steinmaus et al. (2008) und finden ebenfalls kein signifikant erhöhtes Risiko für NHL in ihrer Metaanalyse.

Auch Wong und Raabe (2000) sowie Wong und Fu (2005) konnten bei einer Metaanalyse von Kohorten- und Fall-Kontrollstudien keine erhöhten Risiken für NHL erkennen.

Wong et al. (2010b) fand in einer auf Krankenhausfälle bezogenen Fall-Kontrollstudie eine Assoziation zwischen Haus- oder Arbeitsplatzrenovierungsarbeiten und NHL, wobei aber keine Zuordnung zu einer Einzelsubstanz vorgenommen wurde.

Kane und Newton (2010) untersuchten den Zusammenhang zwischen beruflicher Exposition gegenüber Benzin und NHL in einer Metaanalyse und fanden keinen signifikanten Zusammenhang. Keenan und Mitarbeiter fanden ebenfalls keine relevanten Hinweise für ein erhöhtes Krebsrisiko (diverse Lokalisationen) nach Benzinexposition bei beruflicher (und nicht beruflicher) Exposition in einer Sekundärauswertung von 32 epidemiologischen Studien (Keenan et al., 2010).

Barry et al. (2011) finden einen (nicht signifikanten) Zusammenhang zwischen bestimmten Polymorphismen, beruflicher Benzolexposition und NHL-Risiko.

In Rahmen der *Europäischen prospektiven Multicenterstudie (EPIC)* untersuchten Neasham et al. (2011) einen möglichen Zusammenhang zwischen bestimmten Berufen und dem Auftreten von malignen Lymphomen. Die mittlere follow-up-Zeit betrug bisher 9 Jahre (Standardabweichung: 2 Jahre) für 348555 Personen, darunter 866 Fälle von diagnostiziertem non-Hodgkin-Lymphom (NHL) oder Hodgkin-Lymphom (HL) zuzüglich 48 Fällen, wo diese Erkrankung neuerlich diagnostiziert wurde. Nach Berücksichtigung von Alter, Geschlecht, sozioökonomischem Status, Alkoholkonsum und Rauchen ergab sich für Schlachter ein signifikant erhöhtes Risiko als Hazard Ratio (HR) für NHL-Erkrankung, ebenso für Autorreparaturarbeiter (HR=1,50 (95%-CI: 1,101-2,00)). Für das HL wurde eine signifikante Erhöhung bei Tankstellenberufen gefunden (HR=4,59(1,08-19,6)). Die Autoren diskutieren die Unsicherheit, die sich auf Basis der kleinen Anzahl von HL-Fällen ergibt (2 Fälle von HL unter den Tankstellenberufen), wobei demgegenüber die Vorteile der prospektiven Studie zu erwähnen sind. Eine Zuordnung zu Einzelstoffen erfolgte nicht. Angaben zur Expositionsdauer und -höhe wurden nicht dokumentiert.

In der oben genannten Kohortenstudie aus Genua (Merlo et al., 2010) wurde ein signifikant erhöhtes Risiko für HL bei den Busfahrern vorgefunden (SMR 162 (95%.C.I.: 1,37-5,05), was jedoch nach Meinung der Autoren nur schwerlich alleine der Benzolexposition zugeordnet werden könne (keine Erhöhung mit der Expositionsdauer, eher umgekehrter Verlauf).

### c) Gehirntumoren, Lungenkrebs, Brustkrebs

Swaen et al. (2005) beobachteten in einer Kohortenstudie an 311 Arbeitern der Caprolactam-produktion mit relativ hoher geschätzter Benzolexposition (159 ppm-Jahre) keine erhöhte Standardmortalitätsrate für Leukämien (SMR 85,6), jedoch ein signifikant vermehrtes Auftreten von Gehirntumoren (SMR 634,2). Allerdings war keine Dosis-Wirkungsbeziehung für diesen Effekt ersichtlich, so dass diese Befunde einer Bestätigung bedürfen.

Die Studie von Sorahan et al. (2005) konnte bei einer Kohorte von 5514 Benzol-exponierten Arbeitern in England und Wales (UK) nur geringfügig, nicht aber signifikant erhöhte Risiken für Leukämie nachweisen. Weiterhin wurde ein erhöhtes Lungen- und Bronchialkrebsrisiko beobachtet, welches von den Autoren auf Mischexposition gegenüber anderen Kanzerogenen zurückgeführt wurde.

Beach und Burstyn (2006) erachten im Hinblick auf die erhöhten Lungenkrebsraten der Studien von Sorahan et al. (2005) die Mischexposition als nicht relevant (keine Unterschiede bei verschiedenen Industriezweigen) und sehen mit Verweis auf ältere Studien mit ähnlichen Befunden eine zunehmende Evidenz für einen Zusammenhang zwischen Benzolexposition und Lungenkrebs.

Seniori Constantini et al. (2009) berichten ein nicht signifikant erhöhtes Risiko für Brustkrebs bei Arbeiterinnen einer italienischen Schuhfabrik. Die Kohorte wurde von 1985 bis 2000 hinsichtlich der Inzidenz für Brustkrebs beobachtet, seit 1950 im Bezug auf Mortalität. Für 797 Frauen waren quantitative Angaben zur Exposition verfügbar, es wurden 12 Fälle von Brusttumoren beobachtet. Die SMR dieser Kohorte insgesamt lag bei 108,2 (61,5-190,5). Für eine Belastung < 40 ppm-Jahre resultierte eine SMR von 96,2 (45,9-201,9, Basis 7 Fälle), für > 40 ppm-Jahre eine SMR von 131,0 (54,5-314,8, Basis 5 Fälle). Aufgeschlüsselt nach Latenzzeiten war nur für einen Zeitraum > 30 Jahre ein erhöhtes Risiko von 151,9 (78,6-290,3) erkennbar, mit SMR von 140,9 (58,7-338,6) für eine Exposition < 40 ppm-Jahre und 166,0 (62,3-442,2) für > 40 ppm-Jahre. Angesichts der kleinen Fallzahlen und fehlender Signifikanz bedürfen die Befunde der Absicherung.

#### *Untersuchungen zu dermaler beruflicher Exposition*

Eine Kohortenstudie von Hunting et al. (1995) untersuchte die Effekte von mindestens 1-jähriger beruflicher überwiegend dermaler Exposition (auch inhalative und gelegentlich orale Exposition) gegenüber Benzol bei 335 Arbeitern. Auf Basis von 3 Todesfällen durch lymphatische oder hämatopoetische Tumoren wurden SMR von 3,63 (0,75-10,63, Gesamtkohorte) und 4,22 (0,87-12,34) in der Subgruppe mit höchster geschätzter Exposition ermittelt. Das Risiko für Leukämie und Aleukämie (Basis: 2 Fälle) war in der höchsten Expositions-kategorie signifikant erhöht (SMR 9,26, 1,12-33,43; ATSDR, 2007).

#### *Allgemeinbevölkerung*

Bei Kindern in der Umgebung von Benzolemitteln wie Tankstellen und Autowerkstätten wurde im Vergleich zu Kontrollen ein erhöhtes Risiko für Leukämie beobachtet (280 Leukämiefälle, 285 Kontrollen). Es ergab sich ein zusätzliches Risiko (OR) von 4,0 (1,5-10,3), speziell für ANLL (OR 7,7, 1,7-34,3), und eine Zeit-Wirkungsbeziehung des Risikos (Steffen et al., 2004). Die Höhe der Benzolexposition wurde in dieser Studie nicht quantifiziert.



## 8. Vorherrschendes Wirkprinzip der Kanzerogenität

Trotz umfangreicher mechanistischer Untersuchungen ist der Mechanismus für die kanzerogene Wirkung von Benzol noch nicht geklärt. Mehrere Wirkprinzipien werden – einzeln oder in Kombination – als ursächlich für die Krebsentstehung angesehen:

- 1) **Gentoxizität:** Für die gentoxischen Wirkungen werden Metaboliten des Benzols verantwortlich gemacht. Während früher von Benzolepoxid, dem im ersten oxidativen Stoffwechselschritt gebildeten Metaboliten, als wirksames Mutagen und Kanzerogen ausgegangen wurde, werden auf Basis neuerer Erkenntnisse andere Metaboliten als relevant angesehen. Speziell die Metaboliten Catechol, Hydrochinon, 1,2- und 1,4-Benzo-chinon, 1,2,4-Trihydroxybenzol, die auch im Knochenmark nachgewiesen wurden, scheinen nach heutigen Erkenntnissen sowohl für primäre (Mutationen, DNA-Addukte) als auch sekundäre Gentoxizität (Klastogenität) verantwortlich. 1,4-Benzochinon erwies sich bei der Bindung an DNA als hoch wirksam. Über Ringöffnung kann vermutlich auch trans, trans-Muconaldehyd, entstehen, ein postuliertes Intermediat bei der Bildung der trans, trans-Muconsäure. Hierbei handelt es sich ebenfalls um ein Mutagen und Klastogen. Befunde zu isoliert getesteten Metaboliten unterschätzen möglicherweise die gentoxische Potenz, da überadditive Wirkungen bei gleichzeitiger Exposition gegenüber mehreren Metaboliten berichtet sind (Albertini et al., 2003; ATSDR, 2007; Hartwig, 2010; Khan, 2007; Roller et al., 2006; Snyder, 2007).
- 2) Die chromosomenschädigenden Wirkungen beruhen (zum Teil?) auf oxidativer DNA-Schädigung, welche durch hochreaktive Semichinon-Radikale und zyklische Redoxreaktionen im Knochenmark ausgelöst wird. Vor allem Catechol, 1,4-Benzochinon und Hydrochinon scheinen für diese Wirkungen verantwortlich (Albertini et al., 2003; Bird et al., 2005; Khan, 2007; Wan und Winn, 2008).
- 3) 1,4-Benzochinon und Hydrochinon sind Topoisomerase II-Inhibitoren und können so die DNA-Replikation und Transkription beeinflussen (Bird et al., 2005; Eastmond et al., 2005; Lindsey et al., 2005a; b; Whysner et al., 2004).
- 4) Ein wichtiger Risikofaktor scheint darin zu bestehen, dass die beobachteten DNA-Doppelstrangbrüche schlecht und fehleranfällig in Knochenmarksvorläuferzellen repariert werden (Hartwig, 2010).
- 5) Myelotoxizität und Blutbildschädigung scheinen einen signifikanten Risikofaktor für Leukämie darzustellen, jedoch wurden auch Leukämien ohne erkennbare Blutbildschädigungen berichtet (Albertini et al., 2003; ATSDR, 2007; Khan, 2007; Rothman et al., 1997). Ob eine vorherige Hämatotoxizität obligatorisch für die Leukämie-entstehung ist, wird kontrovers diskutiert (EPA, 1998; Smith und Fanning, 1997). Es scheint möglich, dass die Stimulierung der Regeneration von Blutzellen (als kompensatorische Reaktion auf Blutschädigung) die vermehrte Bildung von genetisch geschädigten Zellen verursachen kann und somit einen Verstärkereffekt bei der Krebsentstehung bedeutet. Diese These wird zwar seit langem diskutiert, wurde aber in neueren Arbeiten nicht näher untersucht oder bestätigt.
- 6) Wie bei Leukämien könnte auch bei der Entstehung der NHL neben Chromosomenschädigung die Immuntoxizität eine Rolle zu spielen (Smith et al., 2007).

- 7) Möglicherweise spielen auch (zusätzlich) epigenetische Faktoren eine Rolle: in Benzol-exponierten Personen (Verkehrspolizisten und Tankstellenpersonal, Exposition 6-478  $\mu\text{g}/\text{m}^3$ ) wurden im Vergleich zu Kontrollpersonen DNA-Methylierungsmuster ähnlich den Methylierungsmustern bei AML-Patienten und anderen Krebsarten beobachtet (Bollati et al., 2007).

Neben primärer genotoxischer Wirkung sind demnach auch andere Mechanismen bei der benzolverursachten Leukämieentstehung relevant. Dies weist auf eine mögliche Nichtlinearität bei Extrapolation in den Niedrigrisikobereich hin.

Hartwig (2010) schlussfolgert, dass die maßgeblichen Mechanismen, die zur Leukämie nach Benzolexposition führen, noch nicht bekannt sind. Mehrere reaktive Metaboliten könnten zu einem breiten Spektrum von DNA-Schäden, einschließlich oxidativer Läsionen, DNA-Addukten und apurinischen Stellen führen. Zusätzlich müssten auch andere Effekte beachtet werden, die zur krebserzeugenden Wirkung beitragen könnten, wie Überexpression von Transkriptionsfaktoren, Onkogenaktivierung und Signalkettenveränderung. Es bestehe weiterer Forschungsbedarf, um zu ermitteln, welche der oben genannten Mechanismen im Niedrigkonzentrationsbereich (realistische Expositionsbedingungen) relevant seien.

## 9. Ableitung der ERB

### 9.1 Relevante systemische oder lokale nicht krebserzeugende Wirkung

Als kritischer nicht kanzerogener Endpunkt steht bei Mensch und Tier die blutschädigende Wirkung im Vordergrund. Dabei ist die Datenlage zum Auftreten erster Effekte bzw. zur Angabe einer Konzentration ohne nachteilige Effekte widersprüchlich:

- Lan et al. beobachteten hämatotoxische relevante Effekte bei Benzolexpositionen unterhalb 1 ppm (Lan et al., 2004; Stokstad, 2004), woraus ATSDR (2007) eine Benchmarkdosis (BMD25sd, 25% der Standardabweichung des mittleren Kontrollwertes) von 0,42 ppm (1,37  $\text{mg}/\text{m}^3$ ) als maßgeblichen Eckpunkt für die Bewertung nichtkanzerogener Wirkungen von Benzol ableiteten. Ein Mangel der Studie von Lan und Mitarbeitern ist, dass sich die Expositionsbestimmung auf die letzten 4 Wochen vor der Blutuntersuchung beschränkte, so dass sowohl frühere, höhere Expositionen und auch dermale Expositionen nicht berücksichtigt wurden.
- Hämatotoxizität wird von anderen Autoren in ähnlichem Konzentrationsbereich vorgefunden: Qu et al. (2002; 2003). Ein Mangel der Studie von Qu und Mitarbeitern ist, dass sich die Expositionsbestimmung auf die letzten 4 Wochen vor der Blutuntersuchung beschränkte, so dass möglicherweise frühere, höhere Expositionen nicht berücksichtigt wurden und das Geschlechterverhältnis in der Kontrollgruppe und der niedrigsten Expositionsgruppe deutlich unterschiedlich war. Nach den Analysen der Daten von Lan et al. (2004) scheint dies aber keine wesentliche Beeinflussung des Ergebnisses zu bedeuten.

- Lamm und Grünwald (2006) hinterfragten die Studie von Lan et al. wegen einer teilweise fehlende Signifikanz und Monotonie der Dosis-Wirkungsbeziehung im Sinne einer supralinearen Abnahme der Blutzellen. Lan et al. untermauerten aber in einer Replik mittels einer erweiterten Reanalyse der Daten mittels Spline-Regression mit Benzol als kontinuierlicher Variable die Signifikanz und die Dosisabhängigkeit der Befunde. Es zeigte sich auch, dass Vorläuferzellen signifikant empfindlicher reagierten als periphere Leukozyten.
- Swaen et al. (2010b) konnten die Ergebnisse von Lan et al. nicht bestätigen. Wiederum waren aber die Expositionen der letzten Jahre niedriger (im Mittel: 1998: 0,4 ppm, 1999: 0,36 ppm, 2000: 0,17 ppm). Die mittlere geschätzte Expositionshöhe lag bei 0,22 ppm. Allerdings waren auch die Ergebnisse nach Stratifizierung in Kategorien (< 0,5 ppm, 0,5-1 ppm und > 1 ppm) nicht unterschiedlich, was einen direkten Widerspruch zu den Daten von Lan et al. (2004) darstellt. Eine mögliche Erklärung hierfür liegt in der Verwendung einer „Job-Exposure-Matrix“ (JEM) gegenüber individuellen Expositionsmessungen bei Lan et al. (2004).
- Swaen et al. (2010b) verweisen zur Bestätigung auf andere Studien mit ebenfalls negativen Befunden zu hämatotoxischen Effekten nach Benzolexposition. Diese Studien (Collins et al., 1997; Tsai et al., 2004) wurden jedoch bei niedrigen Expositionen durchgeführt. Die Studie von Qu et al. wird von Swaen et al. nicht in die Diskussion einbezogen. Eine dritte – von Swaen et al. erwähnte Studie mit negativem Befund (Kang et al., 2005) ist wegen der niedrigen Zahl von nur 7 Personen, die gegenüber Konzentrationen über 1 ppm exponiert waren, schwer einzuordnen.
- Schnatter et al. (2010) untersuchten ebenfalls Veränderungen im peripheren Blut von Benzol-exponierten Arbeitnehmern (n=928) aus fünf verschiedenen Fabriken in der Umgegend von Shanghai (China). Die empfindlichsten Parameter, die expositionsbedingt signifikant und dosisabhängig verändert waren, sind Neutrophile und mittleres Thrombozytenvolumen (MPV), jedoch erst ab Benzolkonzentrationen von ca. 8 ppm in der Luft. Insgesamt waren die Indikatoren für Veränderungen bei roten Blutzellen (RBC) stärker ausgeprägt als diejenigen für die weißen Blutzellen (WBC).

Auf diesem Hintergrund kann kein eindeutiger NOAEL für hämatotoxische Effekte angegeben werden. Es gibt jedoch Verdachtsmomente auf erste nachteilige Effekte deutlich unterhalb von 1 ppm.

Hinsichtlich immuntoxischer Veränderungen ist die Datenbasis schmaler.

- Aus den Studien von Lan et al. (2004) wäre eine Wirkungsschwelle in gleicher Höhe wie für die Hämatotoxizität abzuleiten.
- Uzma et al. (2010) fanden bei einer Exposition gegenüber 0,345 ppm Benzol ebenfalls veränderte immunologische Parameter bei Tankstellenwärtern, wobei eine Mischexposition oder ein Einfluss anderer Schadstoffe nicht auszuschließen ist.

Wir gehen auf Basis der neueren Befunde in der Literatur jedoch davon aus, dass immunologische und hämatotoxische Veränderungen nicht als „Vorläuferereignisse“ angesehen werden können und insofern keine definitive Rolle im Pathomechanismus der hämatologischen und anderen Tumorerkrankungen spielen.

### *Unterstützende Betrachtung auf Basis von Tierversuchen*

Mäuse erwiesen sich als empfindlichste Spezies. Erste Effekte auf das Blutbild traten bei wiederholter inhalativer Exposition gegenüber 10 ppm (32,5 mg/m<sup>3</sup>) auf. Bereits bei dieser niedrigsten getesteten Konzentration wurden in Mäusen Lymphozytopenie, Erythrozytopenie und eine Abnahme erythroider Stammzellen in Knochenmark und Milz beobachtet (Exposition bis zu 25 Wochen an 6 h/d, 5 d/w). Diese Studie liefert keinen NOAEL (Baarson et al., 1984).

Weiterhin wurde in einer Studie von Green et al. (1981) ein erhöhtes Milzgewicht sowie eine erhöhte Anzahl multipotenter hämatopoetischer Stammzellen und kernhaltiger Zellen in der Milz von Mäusen beobachtet, welche 10 Wochen, 6 h/d, 5 d/w gegenüber 10 ppm (32,5 mg/m<sup>3</sup>) Benzol exponiert waren (LOAEL, kein NOAEL).

Zu Vergleichszwecken wird hier mangels eines NOAEL ebenfalls ausgehend vom LOAEL eine Dosis abgeschätzt, nach der mit hinreichender Wahrscheinlichkeit keine nicht kanzerogenen Effekte zu erwarten sind. Umgerechnet auf eine humanäquivalente Konzentration ergäbe sich aus den Daten an Mäusen für den „Schwellenwert“ für Blutbildveränderungen unter der Verwendung der im Rahmen dieser Ableitung zu verwendenden Defaultfaktoren (Faktor 3 zur Abschätzung des NOAEL aus dem LOAEL (nur zur Orientierung verwendet, da im AGW-Konzept nicht vorgesehen), Intraspeziesfaktor 5; Annahmen: 70 kg Gewicht, 10 m<sup>3</sup> Atemvolumen/8 h) eine Konzentration von 1,08 mg/m<sup>3</sup> (0,33 ppm). Der Wert und die Ableitung entspricht dem von SCOEL vorgeschlagenen OEL von < 1 ppm, ebenfalls (unter anderem) auf Basis tierexperimenteller Daten und dem dort vorgefundenen LOAEL von 10 ppm (EC, 1994).

### *Entwicklungstoxizität*

Aus einer neuerlichen Studie von Lupo et al. (2010) ergeben sich Hinweise auf Fehlbildungen nach Umweltexposition gegenüber Benzol bei nur 5 µg/m<sup>3</sup> Expositionshöhe. Die Beobachtungen sind jedoch unzureichend abgesichert; ohne zusätzliche Bestätigung können sie daher nicht für eine Risikoquantifizierung von nichtkanzerogenen Effekten herangezogen werden.

### *Schlussfolgerung*

Es liegen relevante Hinweise auf hämatologische und immunologische Effekte bei Luftkonzentrationen von weniger als 1 ppm Benzol am Arbeitsplatz vor. Ein qualifizierter NOAEL ist auf Basis der widersprüchlichen Datenlage beim Menschen jedoch nicht zu ermitteln. Möglicherweise sind diese Widersprüche mit einem erheblichen Einfluss von Polymorphismen auf die Effektausprägung zu begründen. Auf Basis tierexperimenteller Werte wäre ein NOAEL von etwa 0,3 ppm abzuleiten. Es liegen jedoch relevante Unsicherheiten bei der quantitativen Übertragung von tierexperimentellen Daten bei Benzol auf den Menschen vor, so dass von einer formalen Übernahme des so abgeschätzten NOAEL für den Menschen Abstand genommen wird. Es ist davon auszugehen, dass mit einer Beschränkung der Exposition gegenüber Benzol ausgehend von der krebserzeugenden Wirkung in hinreichendem Maße auch den Hinweisen auf nichtkanzerogene Wirkungen Rechnung getragen wird, insbesondere wenn das Toleranzrisiko eingehalten wird (vgl. Abschnitt 9.2).

## 9.2 Exposition–Risiko–Beziehung bei krebserzeugender Wirkung

### 9.2.1 Krebslokalisation mit Humanrelevanz und quantifizierbaren Krebsinzidenzen

In Tieren (Ratten, Mäuse) wurde im Vergleich zum Menschen ein anderes Profil der Zielorgane sowie eine etwas niedrigere Empfindlichkeit gegenüber einer benzolbedingten Leukämieentstehung gezeigt (vgl. z.B. Roller et al., 2006). Aus diesem Grund werden trotz üblicher Unsicherheiten in der Expositionsabschätzung die Humandaten zur Risikoabschätzung der leukämogenen Wirkung herangezogen.

Im Rahmen der Anerkennung als Berufskrankheit „Erkrankungen des Blutes, des blutbildenden und lymphatischen Systems durch Benzol“ (Bk 1318) werden in Deutschland (neben myelotoxischen nichtmalignen Blutbildveränderungen wie aplastische Anämie) die Leukämiearten (nach WHO-Definition) akute lymphatische Leukämie (ALL), akute myeloische Leukämie (AML), chronische lymphatische Leukämie (CLL), jedoch nicht die chronisch myeloische Leukämie (CML) sowie Non-Hodgkin-Lymphome einschließlich multiplen Myelomen als benzolinduzierte Krebsformen aufgeführt, wobei es sich bei der CML per Definition sowohl um eine Leukämie als auch eine myeloproliferative Erkrankung handelt und die CLL sowohl den Leukämien als auch den Non-Hodgkin-Lymphomen zugeordnet werden kann (Beelte et al., 2009; BMAS, 2007; DGUV, 2009; Henry und Brüning, 2009).

#### **Leukämie**

Durch Benzol verursachte Leukämien sind in zahlreichen Kohorten- und Fall-Kontrollstudien belegt und ergeben ein weitgehend konsistentes Bild, auch hinsichtlich der quantitativen Abschätzung der Wirkungen.

Von Roller et al. (2006) wurden Risikoschätzungen auf Basis der Publikationen durchgeführt, bei denen die Exposition gegenüber Benzol in mehreren Kategorien quantifiziert wurde. Die ausgewiesenen Risiken für Leukämie (überwiegend angegeben in SMR oder Zusatzrisiko pro kumulative Belastung in ppm-Jahren) wurden in ED10-Werte (Expositionskonzentration, welche mit einem Exzess-Lebenszeit-Tumorrisiko von 10% assoziiert ist) umgerechnet. Die Darstellung von ED10-Werten verschiedener Studien bietet den Vorteil, dass ausgehend von den Inzidenzdaten der Studien eine (wenn überhaupt nötig) nur geringe Extrapolation aus dem Bereich beobachteter Daten erforderlich ist. Weiterhin ermöglicht sie eine direkte Vergleichbarkeit der Wirkstärke von Benzol in den verschiedenen Studien. Die Ableitung erfolgte mittels linearer oder Poisson-Regression aus der graphischen Auftragung der Datenpunkte einer Studie der unterschiedlichen kumulativen Expositionskategorien (bei Angabe von Spannen: Konzentrations-Mittelwert) mit ihren assoziierten Risiken. Nach Roller et al. (2006) waren die sich durch Verwendung der unterschiedlichen Regressionsmodelle bedingten Unterschiede in den resultierenden E10-Werten gering und gegenüber anderen Unsicherheiten (z.B. Expositionsabschätzung) vernachlässigbar. Aus der resultierenden Regressionsgerade lässt sich auf Basis eines Zusatzrisikos von 10% die zugehörige ED10 ableiten (Beispiel siehe Anhang). In der vorliegenden Ausarbeitung wurde diese Darstellung als Ausgangspunkt zur Risikoabschätzung verwendet, jedoch unter Einbeziehung mittlerweile erschienener Publikationen.

Eine Zusammenfassung dieser Ergebnisse ist in der folgenden Tabelle 11 dargestellt. In Abweichung zu den Angaben von Roller et al. (2006) wurde gemäß den Vorgaben des Leitfadens von 40 Jahren Beschäftigungsdauer für die Risikoabschätzungen ausgegangen (Roller et al.: 35 Jahre) und entsprechend umgerechnet. Aktuellere Veröffentlichungen (siehe auch Abschnitt 7.2) wurden ergänzt.

**Tabelle 11: Vorliegende Risikoschätzungen für Leukämie nach Benzolexposition auf Basis epidemiologischer Daten (nach Roller et al., 2006, mit Ergänzungen)**

Autor	Risiko am Arbeitsplatz		
	ED10 (ppm-Jahre)	ED10 (ppm bei 40 Jahren beruflicher Expositionsdauer)	ED10 (mg/m <sup>3</sup> )
<b>“Pliofilm-Kohorte”, USA</b>			
Crump (1996)	912	22,8	74,1
Paxton (1996), mit Expositionsabschätzungen nach:			
Rinsky	430	10,8	35,1
Crump	604	15,1	49,1
Paustenbach	1436	35,9	116,7
Rinsky et al. (1987)	416	10,4	33,8
Rinsky et al. (2002)	574	14,4	46,8
<b>Schuhfabrik, Italien</b>			
Seniori Constantini et al. (2003)	641	16,0	52,0
<b>Chemiearbeiter, China</b>			
Hayes et al.	662	16,6	54,0
<b>Chemiearbeiter, USA</b>			
Bloemen et al. (2004)	910	22,8	74,1
Wong et al. (1987a; b)	800	20	65,0
<b>EDF-GDF, Frankreich</b>			
Guénel et al. (2002)	117	2,9	9,4
<b>Ölindustrie, Australien</b>			
Glass et al. (2003)	22	0,6	2,0
Glass et al. (2005)	50,3	1,3	4,1
<b>Mittelwert</b>			
	<b>582</b>	<b>15</b>	<b>47</b>

Die Qualität dieser Studien ist hinsichtlich Konzeption, Auswertung und Differenzierung der Expositions-kategorien heterogen.

Vlaanderen et al. (2008) erarbeiteten auf diesem Hintergrund insgesamt 20 Qualitätskriterien zur Beurteilung der Studienqualität im Hinblick auf Konzeption und Datendarstellung, Risikocharakterisierung inkl. möglicher Störfaktoren, Qualität der Expositionsabschätzung sowie Darstellung der Exposition-Risiko-Beziehung für Leukämie und speziell AML. Aus 118 Publikationen verblieben unter Berücksichtigung dieser Kriterien letztlich nur 5 Arbeiten, welche eine fundierte quantitative Exposition-Risiko-Beschreibung für Benzol und AML beschreiben. Häufigste Ausschlusskriterien waren Mängel in der Charakterisierung der Exposition-

Risiko-Beziehung sowie fehlende Differenzierung der aufgetretenen Leukämien bzw. Darstellung der Exposition-Risiko-Beziehung für AML. Problematisch an dieser Vorgehensweise erscheint jedoch gerade die Beschränkung auf AML: Benzol wird auch mit der Entstehung anderer Leukämieformen in Zusammenhang gebracht (vgl. Henry und Brüning, 2009). So könnte eine Unterschätzung des Gesamtrisikos resultieren, da weitere Leukämieformen in der Summe höhere Inzidenzen aufweisen als AML (Schnatter et al., 2005). Weiterhin ergeben sich durch die Beschränkung auf AML-Fälle statistisch noch größere Unsicherheiten, was sich in 95%-Konfidenzintervallen mit Faktoren bis  $> 200$  niederschlägt.

Aus diesem Grund wurden nicht nur die von Vlaanderen et al. (2008) als besonders geeignet bewerteten Studien zur Ableitung der ERB-Basis herangezogen, sondern die Gesamtheit der in Tabelle 11 aufgeführten Studien. Bei Roller et al. (2006) wurden Studien mit ED10-Extremwerten von der Auswertung ausgeschlossen, was sich aber nur geringfügig auf den resultierenden Mittelwert der ED10 auswirkte ( $< 10\%$  Unterschied). Diese Entscheidung war zudem nicht von der Studienqualität abhängig, sondern basierte nur auf dem „Ausreißerstatus“ der Ergebnisse.

Vlaanderen et al. (2010) führten eine vergleichbare Analyse durch, wobei alle Leukämieformen einbezogen wurden. Hierbei ergab sich eine weitgehende Übereinstimmung mit der in Tabelle 11 berücksichtigten Auswahlliste (Guénel et al., 2002 nicht enthalten, Schnatter et al. 1996 zusätzlich berücksichtigt).

Eine neue Metaanalyse von Vlaanderen et al. (2011) versucht wiederum, differenziert das Relative Risiko für verschiedene Lymphomasubtypen zu quantifizieren. Die für AML berichteten Daten weichen nur unwesentlich von der hier vorgenommenen Schätzung ab (ED10 zwischen 9 und 23 ppm, je nach Zeitraum der Studien), sollten jedoch aus den oben genannten Gründen für die Risikoquantifizierung bei der ERB-Ableitung nicht isoliert verwendet werden.

Unter Einbezug aller Daten resultiert aus der Auswertung der in Tabelle 11 aufgeführten Studien eine mittlere ED10 von  $47 \text{ mg/m}^3$  (15 ppm) für den Arbeitsplatz<sup>2</sup>. Dieser Wert steht in guter Übereinstimmung mit der Ableitung des LAI (1993; 2004) mit einer ED10 von 18 ppm (zu Vergleichszwecken extrapoliert aus dem angegebenen unit risk von  $9 \cdot 10^{-6}$  pro  $\mu\text{g/m}^3$ , Basis 40 Jahre Exposition am Arbeitsplatz (Anmerkung: eine Extrapolation von niedriger auf hohe Risikowerte beinhaltet Unsicherheiten, wird jedoch lediglich für einen Plausibilitätsvergleich der resultierenden Risiken am Arbeitsplatz vorgenommen).

Eine Bestätigung dieser Risikoquantifizierung ergibt sich aus einer neuen Metaanalyse von Khalade et al. (2010). Die Autoren berücksichtigten wiederum Daten zu verschiedenen Leukämieformen in aggregierter Form, wiesen dann aber auch differenzierte relative Risiken für AML, CLL und CML aus. Auf Basis von 15 Studien ergab sich zunächst ein mittleres relatives Risiko von 1,4 (95%-CI: 1,23-1,57), jedoch unter Einschluss sehr heterogener Einzelergebnisse. Wird dagegen eine Unterteilung nach kumulierter Exposition in die Gruppen bis zu 40 ppm-Jahre, 40 bis 99,9 ppm-Jahre und 100 oder mehr ppm-Jahre vorgenommen, ergibt sich eine wesentlich verbesserte Homogenität der Ergebnisse. Für die niedrigste kumulierte Expositionsgruppe von bis zu 40 ppm-Jahren ergab sich ein relatives Risiko von 1,64 (95%-CI: 1,13-2,39) mit steigendem Risiko für erhöhte ppm-Jahre (signifikanter Trend:  $p=0.015$ ). Ein relatives Risiko von 1,64 bei 40 ppm-Jahren deckt sich mit dem hier vorgeschlagenen ED10-Wert von 15 ppm (berechneter Wert aus den Daten von

<sup>2</sup> Der Unterschied zur Angabe 18 ppm in Roller et al. (2006) ergibt sich aus der Umrechnung von 35 Jahren in 40 Jahre Exposition am Arbeitsplatz sowie durch die Berücksichtigung weiterer, aktueller Studien

Khalade et al.: ED10 = 15,6 ppm). Für AML und CLL alleine ergaben sich Hinweise auf ähnlich erhöhte Risiken, die jedoch nicht oder nur marginal signifikant waren; für CML ließ sich kein signifikant erhöhtes Risiko in dieser Metaanalyse ermitteln.

Die Studie von Wong et al. (2010a) berechnet nicht das Gesamtrisiko für Leukämien, sondern nur die Odds ratio für AML und bestimmte Subtypen. Mit einer durchschnittlichen OR von 1,20 (95%-CI: 0,84-1,171) liegt die ED10 höher als das Gesamtrisiko für Leukämien.

Ausgehend von der ED10 als „point of departure“ (POD) stellt sich die Frage nach dem angemessenen Prinzip der Risikoextrapolation.

Die Diskussion zum Wirkmechanismus (vgl. Kap. 8) zeigt, dass neben primärer gentoxischer Wirkung vermutlich auch andere Mechanismen beteiligt sind, welche einen nichtlinearen Beitrag zur Dosis-Wirkungsbeziehung leisten.

Dennoch gibt es wichtige Argumente, die für eine lineare Extrapolation sprechen. Die folgende Tabelle gibt in Anlehnung an eine Abwägung von EPA (1998) das „Pro und Contra“ einer linearen Extrapolation wider:

Pro	Kontra
Es gibt keinen einzelnen kausalen Wirkmechanismus, bei dem eine Wirkungsschwelle oder Verstärkereffekt mit hinreichender Sicherheit quantifiziert werden kann.	Mechanistische Gründe: zahlreiche Mechanismen, bei denen eine Wirkungsschwelle unterstellt werden kann; geringer Einfluss der primären Gentoxizität.
Der Nichtlinearitätsbereich könnte bei oder unterhalb üblicher Umweltexposition von Benzol liegen.	Multikausalität der Kanzerogenität spricht gegen eine lineare Exposition-Risiko-Beziehung
Das Mikrokern-Assay in vivo bei der Maus (Zhang et al., 2010) zeigte noch bei sehr niedrigen Konzentrationen Mikronuklei (extrapoliert mit einem NOAEL um 60 ppb). Humanbefunde ergeben ebenfalls bei niedrigen Expositionen Verdachtsmomente auf Mikrokernbildung (Rekhadeviet et al., 2010; Maffei et al., 2005)	In vitro Mikrokernassays beim Menschen und in Knochenmarkszellen von Mäusen zeigten einen nichtlinearen Zusammenhang.
Die Induktion von Aneuploidie von anderen Chromosomen (e.g., 7) tritt bei niedrigeren Konzentrationen auf und die Effekte auf die Hyperploidie der Chromosomen 7,8,9 zeigen einen linearen Trend. Hinweise auf Aneuploidie bereits bei sehr niedrigen Konzentrationen ( $\leq 1$ ppm Benzol in der Luft, Xing et al., 2010; ca. 0,5 ppm, Kim et al., 2010; $>0$ bis $<30$ ppm-Jahre und darüber; Qu et al., 2003). Aneuploidie ist	Die Induktion der Aneuploidie von Chromosom 9 ist nichtlinear und nur bei hohen Benzolkonzentrationen ( $>31$ ppm) signifikant (Zhang et al., 1996).



nicht der einzige relevante Mechanismus.	
DNA-Addukte im Maus-Knochenmark traten schon bei niedrigen Konzentrationen mit linearer Dosis-Wirkungsbeziehung auf.	DNA-Addukte mit P <sup>32</sup> -postlabelling waren nur bei hohen Dosierungen erkennbar.
Fehler bei der DNA-Reparatur können zu Punktmutationen führen. Hinweise auf beeinträchtigte und fehlerhafte DNA-Reparatur insbesondere bei Doppelstrangbrüchen (Hogswood et al., 2009; Bi et al., 2010; Lan et al., 2009; Hartwig, 2010). Oxidative Schäden scheinen bereits bei sehr geringer Benzolexposition aufzutreten (Uzma et al., 2010; Manini et al., 2010)	Oxidative DNA-Schäden tragen wahrscheinlich zu den Effekten bei und werden in starkem Umfang repariert.
Die Hämatotoxizität ist mit ihrem NOAEC nicht klar gegenüber der krebserzeugenden Wirkung abgrenzbar. Sie scheint keine Voraussetzung für die Kanzerogenität (Hirabayashi und Inoue, 2010).	Die Hämatotoxizität ist Voraussetzung für die Leukämie und besitzt als nichtkanzerogener Endpunkt eine Wirkungsschwelle.
Genexpression zeigt signifikante Veränderungen, indikativ für Leukämie, Immuntoxizität und oxidative Effekte bereits bei deutlich unter 1 ppm (McHale et al., 2011)	In mehreren epidemiologischen Studien keine signifikanten Befunde zur Leukämie bei < 40 ppm-Jahren (Schlatter et al., 1996a,b)

WHO (2000) berichtet die Ergebnisse paralleler Risikoabschätzungen mittels linearer Modelle und nichtlinearer Modelle (angesichts der bestehenden Unsicherheiten aber ohne eine Wertung über eine höhere Verlässlichkeit eines der beiden Modelle) und mittelt die Ergebnisse. Die anderen Organisationen schätzen die Risiken mittels linearer Modelle.

Richardson (2009) analysierte die Daten zur Pliofilm-Kohorte unter Berücksichtigung mechanistischer Aspekte und fand eine gute Übereinstimmung der beobachteten Leukämiefälle (in Abhängigkeit von Expositionshöhe, Latenzzeit und Alter bei Expositionsbeginn) mit einem 2-stufigen „clonal expansion“-Modell (Moolgavkar und Knudsen-Modell), einem einfachen Multistage-Modell, welche auch für eine Risikoextrapolation in den Niedrigdosisbereich verwendet werden. Diese Modelle basieren auf der Annahme der Initiation einer Zelle (gentoxischer Mechanismus) mit anschließender Promotion (nicht gentoxischer Mechanismus, je nach Modell in einer oder mehreren Stufen) bis zur malignen Transformation. Den größten Einfluss auf die Modellaussagen hatte hierbei der Parameter Proliferation initiiert Zellen, entsprechend der möglichen mechanistischen Bedeutung dieses Schrittes bei der benzolinduzierten Leukämieentstehung. Die Assoziation zwischen Initiation und Benzolexposition war schwächer. Allerdings schränkt der Autor selbst seine Deutung dahingehend ein, dass eine gute Anpassung eines theoretischen Mechanismus-Modells an empirische Daten allein nicht notwendigerweise die Richtigkeit des Modells bestätigt. Weiterhin beruhen die Aussagen nur auf Daten eines Kollektivs.

Eine Bestätigung durch Überprüfung anderer benzolexponierter Kohorten wäre wünschenswert.

Smith (2010) geht von einem linearen Konzentrations-/Wirkungszusammenhang im Niedrigrisikobereich aus.

Auch die Mehrzahl der vorliegenden weiteren Risikoabschätzungen nehmen eine lineare Dosis-Wirkungsbeziehung an.

Allerdings wird auch von einigen Autoren (z.B. Jamall und Willhite, 2008) aufgrund der epidemiologischen Befunde eine sigmoide Dosis-Wirkungskurve mit Schwellenwert vermutet. Vlaanderen et al. (2010) ermittelten in ihrer Metaanalyse sogar eine Tendenz zu einer supralinearen Dosis-Wirkungskurve, allerdings führte eine lineare Modellierung ebenfalls zu einer guten Anpassung an die Studiendaten und ergab eine ähnliche Dosis-Wirkungsbeziehung wie in EPA/IRIS (vgl. Abschnitt 9.2.2).

Auf diesem Hintergrund sind 3 Ansätze auf ihre Anwendbarkeit hin zu prüfen:

- Lineare Extrapolation
- „praktischer Schwellenwert“
- Knickfunktion.

### **Lineare Extrapolation**

Aufgrund der Unsicherheiten im Wirkmechanismus und der fehlenden eindeutigen Zusammenhänge, bei welcher Konzentration wirkungsverstärkende Effekte eine Rolle spielen und der Verdachtsmomente auf gentoxische, immuntoxische und hämatologische Effekte sowie veränderte Genexpressionsprofile bei sehr niedrigen Expositionskonzentrationen ist es erforderlich, eine lineare Risikoextrapolation zur Ableitung einer ERB vorzunehmen.

Nach Tabelle 11 liegt der POD bei 47 mg/m<sup>3</sup> (ED10). Ein Risiko von 0,4% liegt demnach bei linearer Extrapolation bei 1,9 mg/m<sup>3</sup> (6 ppm). Es ergibt sich:

1,9 mg/m<sup>3</sup> für ein Risiko von 4:1.000,  
0,2 mg/m<sup>3</sup> für ein Risiko von 4:10.000 und  
0,02 mg/m<sup>3</sup> für ein Risiko von 4:100.000.

Überschlägig wurde eine Pfad-zu-Pfad-Extrapolation auf Basis der Daten aus dem Tierversuch durchgeführt. Smith et al. (2010) leiteten auf Basis der oralen Exposition und der Daten aus dem Tierexperiment eine T25 (oral) ab, wobei sie die Häufigkeit der gefundenen Zymbaldrüsentumoren in weiblichen Ratten zugrunde legten. Der Leitfaden (AGS, 2008) verweist für diese Tumorlokalisation auf die Unsicherheiten einer Risikoquantifizierung (Leitfaden, Abschnitt 3.1(6)). Die entsprechende T25 (oral) liegt bei 48 mg/kg Körpergewicht und Tag. Nach Anwendung eines Scaling und nach Umrechnung auf den Arbeitsplatz lässt sich daraus ein Risiko von 4:1000 bei 3,8 mg/m<sup>3</sup> ableiten, was sich sehr gut mit den hier auf Basis von Humandaten abgeleiteten Risikoquantifizierungen deckt.

### **Praktischer Schwellenwert**

Die Annahme eines expliziten Schwellenwertes in Höhe von 40-50 ppm-Jahren, wie sie von verschiedenen Autoren propagiert wird (u.a. Crump, 1996; Hoffmann et al., 2001; Paxton, 1996) (Schnatter et al., 1996a; Schnatter et al., 1996b), ist auf Basis vorliegender Daten und der Unsicherheit in der Bewertung zu hinterfragen: dieser Wert ist nicht biologisch basiert, sondern gründet sich auf der fehlenden eindeutigen Nachweisbarkeit signifikant erhöhter Risiken unterhalb dieser kumulativen Exposition (ECB, 2008). Wie ausführlich von Roller et al (2006) begründet, kann dies eine Folge der beobachteten geringen Fallzahlen der Leukämiefälle und der daraus resultierenden geringen statistischen Power der Studien sein: geringe Risiken bei niedrigerer kumulativer Exposition sind angesichts der Konzeption der Studien mit relativ wenigen beobachteten Leukämiefällen aufgrund ihrer „statistischen Power“ nicht mehr signifikant vom Hintergrund abzugrenzen. Dies hat aber nur Auswirkungen auf die Fähigkeit zum Nachweis dieser Risiken, und ist nicht als Indiz einer biologischen Schwelle zu werten (siehe ausführliche Begründung in Roller et al., 2006). Aus dem gleichen Grund stehen auch die oben berichteten Studien mit negativen Befunden nicht im Widerspruch zu dem ausgewiesenen ED10-Wert. Neuere Studien (Collins et al., 2003; Glass et al., 2005; Glass et al., 2003; Guénel et al., 2002) zeigen zudem, auch wenn noch mit gewissen Unsicherheiten behaftet, in der Gesamtschau ernstzunehmende Hinweise auf ein signifikant erhöhtes Risiko bei deutlich geringerer kumulativer Belastung (Henry und Brüning, 2006; 2009; Roller et al., 2006). Miller et al. (2010) zeigen zwar eine mögliche Überbewertung des Risikos in den Studien von Glass et al., erkennen jedoch ebenso eine mögliche Unterbewertung des Risikos in den Studien von Schnatter et al. (1996a) und von Rushton und Romaniuk (1997).

Aus diesen Gründen wird im Folgenden keine „praktische Wirkungsschwelle“ abgeleitet.

### **Sublinearität (Knickfunktion)**

Bei Personen, die aufgrund ihrer spezifischen genetischen Disposition besonders empfindlich auf hämatotoxische Effekte des Benzol reagierten, wurde gezeigt, dass die identischen genetischen Veränderungen auch eine erhöhte Empfindlichkeit für eine fehlerhafte Genreparatur oder eine Instabilität des Genoms herbeiführen (Hosgood et al., 2009; Lan et al., 2004; Lan et al., 2009; Shen et al., 2006). Während in der Kontrollgruppe bei den entsprechenden Polymorphismen noch keine hämatologischen Veränderungen gefunden wurden, führten die berichteten Expositionen gegenüber Benzol zur Hämatotoxizität. Mit den gleichen genetischen Veränderungen sind auch gentoxische Ereignisse (mangelhafte DNA-Reparatur, Instabilität des Genoms) verknüpft, die zur Kanzerogenität von Benzol beitragen können. Damit ist bei den empfindlichen Personengruppen ein kausaler Zusammenhang zwischen kanzerogener und nichtkanzerogener Wirkung plausibel.

Im Konzentrationsbereich von 0,5 ppm wurden bereits erste hämatotoxische Wirkungen beobachtet (Lan et al., 2004; Qu et al., 2002; 2003). Dieser Schwellenwert ist zwar umstritten (vgl. Abschnitt 9.1); es kann jedoch vermutet werden, dass ab ähnlicher Höhe auch andere Vorläufereffekte für die Kanzerogenität, bei denen eine Schwelle vorliegt, einen wirkungsverstärkenden Einfluss hervorbringen. Es kann deshalb diskutiert werden, bei dieser Expositionshöhe einen Knickpunkt (Wirkungsverstärkung bei höheren Konzentrationen) anzunehmen. Der Knickpunkt stellt hierbei formal die von ATSDR (2007) abgeleitete BMD für Blutschädigung in Höhe von 0,42 ppm (gerundet 1400

$\mu\text{g}/\text{m}^3$ ) dar, bei der gemäß den Vorgaben des Leitfadens das Risiko um den Faktor 10 vermindert wird (vgl. Abbildung 2).

Die hier zu diskutierende Knickfunktion hat dann folgendes Aussehen:

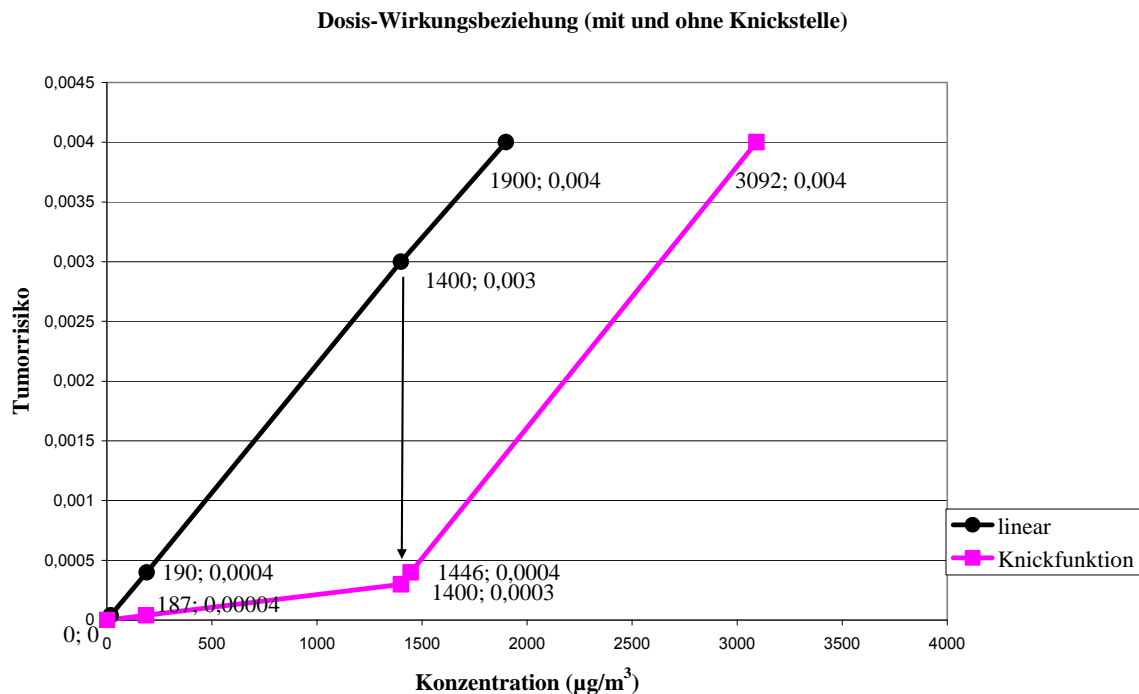


Abbildung 2: Dosis-Wirkungsbeziehung Benzol (mit und ohne Sublinearitätsannahme), Tumorrisiko für Leukämien (vgl. Tabelle 11 für ED10 als POD; daraus 0,4%-Risiko abgeleitet: 1,9  $\text{mg}/\text{m}^3$ ).

Somit ergeben sich folgende Risikozahlen:

3,1  $\text{mg}/\text{m}^3$  für ein Risiko von 4:1.000,

1,5  $\text{mg}/\text{m}^3$  für ein Risiko von 4:10.000 und

0,2  $\text{mg}/\text{m}^3$  für ein Risiko von 4:100.000

Angesichts der nicht abgeschlossenen Mechanismuskussion, der umstrittenen Quantifizierung hämatotoxischer Effekte in der Studie von Lan et al. (2004) und der Verdachtsmomente auf nichtkanzerogene Effekte auch bei niedrigerer beruflicher Konzentration wird die sublineare Funktion nicht für die resultierende ERB-Ableitung herangezogen. Neuere Bewertungen deuten insgesamt darauf hin, dass hämatologische und immunologische Veränderungen nicht als (zwingende) Vorläuferereignisse angesehen werden können. Die hier vorgestellte Berechnung dient demnach nur der transparenten Diskussion alternativer Bewertungsansätze.

#### Andere Tumorarten

Einige Studien sowie Metaanalysen zeigen wahrscheinliche Zusammenhänge zwischen Benzolexposition und Lymphoma-Subtypen oder anderen Tumoren des

hämatopoetischen Systems, u.a. multiple Myelome und Non-Hodgkin-Lymphome (z.B. Infante, 2006; Mehlman, 2006a; b; Schnatter et al., 2005; Smith et al., 2007; Steinmaus et al., 2008; Vlaanderen et al., 2011). Dabei besteht noch kein eindeutiges Bild. Allerdings kann anhand der Metaanalyse von Vlaanderen et al. (2011) davon ausgegangen werden, dass eine vergleichbare oder niedrigere Potenz als für AML oder Leukämien (gesamt) vorliegt.

Allem Anschein nach sind die Gründe für die widersprüchlichen Befunde zum NHL in der Auswahl der Studien (unterschiedliche betrachtete Studienzahlen mit unvollständiger Überlappung zwischen den verschiedenen Metaanalysen) und dem Auswertungsmodus (abweichende Risiken für dasselbe Kollektiv, vor allem bei unterschiedlichem „follow-up“-Stadien, aber auch geringe Unterschiede bei der Betrachtung derselben Studie, kumulierte Betrachtung vs. Einzelbetrachtung der Studien mit signifikanten Effekten) zu suchen. In Deutschland werden verschiedene Formen von Non-Hodgkin-Lymphomen als benzolbedingte Berufskrankheit anerkannt (BMAS, 2007; DGUV, 2009; Henry und Brüning, 2009). Der Ärztliche Sachverständigenbeirat „Berufskrankheiten“ beim BMAS folgert, dass Studien, die bereits kein erhöhtes Risiko für AML bzw. akute nichtlymphatische Leukämien (ANLL) aufweisen, erst recht nicht geeignet sind, seltenere bösartige Neoplasien des hämato-poetischen Systems, insbesondere NHL, nachzuweisen (Beelte et al., 2009). Wir gehen davon aus, dass mit der Erfassung des Leukämierisikos in ausreichendem Maße auch der möglichen Gefährdung durch andere Tumore des blutbildenden Systems Rechnung getragen wird.

Hinsichtlich der Tumorbildung in anderen Organen (Lunge, Magen und Leber) ist die Datenlage noch unsicherer (Beach und Burstyn, 2006; Hassauer et al., 2005).

### 9.2.2 ERB / Risikoquantifizierungen und OEL anderer Organisationen

Es liegen zahlreiche Risikoabschätzungen zu Benzol vor, die auf Exposition am Arbeitsplatz basieren, jedoch in unit risk-Werten für die Exposition der Allgemeinbevölkerung ausgedrückt werden. Die unit risk-Werte der im Folgenden aufgeführten Organisationen und die aus diesen Risikoabschätzungen linear errechneten ED10-Werte für die Exposition am Arbeitsplatz sind in Tabelle 12 zusammengefasst (Anmerkung: eine Extrapolation niedriger auf hohe Risikowerte beinhaltet große Unsicherheiten, wird jedoch hier lediglich für einen Plausibilitätsvergleich der resultierenden Risiken am Arbeitsplatz vorgenommen).

EC (1994)

EC (1994) veröffentlichte eine Begründung für den Arbeitsplatzgrenzwert von 1 ppm (3,24 mg/m<sup>3</sup>), der bereits 1991/1992 von SCOEL etabliert und später zum „binding value“ (BOELV) erklärt wurde. Nach der „Communication from the Commission on the results of the risk evaluation and the risk reduction strategies for the substances:...benzene“ (2008/C 157/01) gilt derzeit (März, 2011) noch der identische Wert;

- er wird jedoch mit dem Ergebnis des Risk Assessment Report (RAR) der EU begründet und nicht mehr auf Basis des Textes von 1991/1992;
- es wird Bedarf einer Überprüfung durch SCOEL konstatiert, die noch nicht erfolgt ist;

- es wird darauf verwiesen, dass der Wert von 1 ppm vor anderen Effekten schützen soll, nicht jedoch notwendigerweise vor Mutagenität und Kanzerogenität („for prolonged... inhalation exposure at levels below 1 ppm (3.2 mg/m<sup>3</sup>) the only concerns are from mutagenicity and carcinogenicity.“

Zum Zeitpunkt der Begründung von 1991/1992 wurde ein LOAEL von 10 ppm im Tierversuch für hämatotoxische Effekte für die Bewertung zugrunde gelegt und eine quantitative Übertragbarkeit auf den Menschen unterstellt. Auf diesem Hintergrund wurde der OEL von 1 ppm begründet, da die Möglichkeit gesehen wurde, dass hämatotoxische Effekte bei der Leukämieentstehung eine Rolle spielen könnten („If haematotoxic effects play a role in the induction of leukaemia, then avoidance of these will minimize the risk of leukaemia.“) Zugleich wurde darauf hingewiesen, dass ein Grenzwert von 0,5 ppm (1,6 mg/m<sup>3</sup>) einem Exzessrisiko von 0,25-3,3 Fällen/1000 exponierten Arbeitnehmern entsprechen könnte. Damit entspricht diese Abschätzung noch immer einer Risikoquantifizierung, wie wir sie unten für das Toleranzrisiko vornehmen (1,9 mg/m<sup>3</sup> entspricht danach einem Risiko von 4:1000).

#### **BMAS (2007)**

BMAS (2007) verwendete im Begründungspapier „Erkrankungen des blutbildenden und lymphatischen Systems durch Benzol“ die Studie von Glass et al. (2005) zur Herleitung einer Verursachungswahrscheinlichkeit für Leukämien einschließlich CLL, aplastische Anämie und myeloplastisches Syndrom von über 50% ab einem Bereich von 10 ppm-Jahren (entspricht 0,25 ppm bei 40 Jahren Exposition). Dies basiert auf der angenommenen Verdoppelungsrate (Beelte et al., 2009).

#### **EPA/IRIS (2002; 1998)**

Die Abschätzung der EPA basiert auf verschiedenen Veröffentlichungen zu der Pliofilm-Kohorte (Stand 1998). Auf Basis unterschiedlicher Expositionsabschätzungen werden mittels eines linearen Dosis-Wirkungsmodells Risikospannen für das unit risk angegeben (EPA, 1998). Für nichtkanzerogene Effekte (EPA, 2002) wird die Hämatotoxizität zugrunde gelegt mit einem LOAEL von 7,6 ppm (24 mg/m<sup>3</sup>) auf Basis der Studie von Rothman et al. (1996).

#### **WHO (2000)**

Auch die Abschätzung der WHO basiert auf der Pliofilm-Kohorte. Unter Verwendung verschiedener Modelle und Expositionsabschätzungen wurde auf Basis der sich ergebenden Risikoabschätzungen ( $4.4 \times 10^{-6}$  to  $7.5 \times 10^{-6}$ ) das geometrische Mittel errechnet und als Richtwert („guideline value“) ausgewiesen.

#### **IARC (2009)**

Nach IARC wird deren Einstufung von Benzol in Gruppe 1 („The agent is carcinogenic to humans“) bestätigt mit „sufficient evidence“ für ANLL (akute nonlymphatische Leukämie) und „limited evidence“ für ALL (akute lymphatische Leukämie), CLL (chronische lymphatische Leukämie), MM („multiple Myeloma“) und NHL (Non Hodgkin Lymphom“) (Baan et al., 2009). Eine Risikoquantifizierung erfolgt

nicht. Im Zusammenhang mit dieser Einstufung fand eine Auseinandersetzung zwischen Infante und den Autoren der aktuellen Bewertung statt (Cogliano et al., 2011; Infante, 2011), die die Einstufung nach Evidenz verschiedener Tumorlokalisationen betrifft, nicht jedoch die hier zu betrachtende Risikoquantifizierung.

#### **Wahrendorf und Becher (1990); LAI (1993, 2004)**

Die Datenbasis dieser Abschätzung ist ebenfalls die Pliofilm-Kohorte, ergänzt durch Ergebnisse an weiteren Kollektiven (welche aber von EPA als weniger verlässlich eingeschätzt wurden). Die Studiendaten wurden mittels verschiedener methodischer Ansätze (u.a. Vergleich altersabhängiger Mortalitätsraten und gemittelter Sterberaten über die gesamte Lebensdauer, Analyse von Subkohorten mit unterschiedlicher kumulativer Exposition) ausgewertet und (im Gegensatz zu den o.g. Abschätzungen) mit den Mortalitätsraten der deutschen Allgemeinbevölkerung verglichen. Aus der Angabe der Spanne der Abschätzungen als realistischer Bereich der Risiken wurde ein Median gebildet, welcher vom LAI als Bewertungsbasis zur Risikoabschätzung übernommen wurde.

#### **Diskussion dieser Krebsrisikoabschätzungen:**

Alle genannten, in der folgenden Tabelle 12 aufgeführten Risikoabschätzungen stellen zwar mit generellen Unsicherheiten behaftete Abschätzungen dar, können aber als geeignet zur Risikobewertung angesehen werden. Diese Unsicherheiten (Basis kumulative Exposition, retrospektive Schätzung der Expositionshöhe) betreffen auch die im Rahmen der vorliegenden Ableitung verwendeten Studien. Alle vorliegenden Risikoabschätzungen liegen innerhalb einer Spanne von ca. Faktor 5, was im Rahmen der gegebenen Unsicherheiten und der z.T. unterschiedlichen Datenbasis (Auswahl der berücksichtigten Studien) als eine sehr gute Übereinstimmung zu werten ist.

Die unit risk-Schätzungen für lebenslange Exposition der genannten Organisationen können zum Vergleich mit der vorliegenden Bewertung auf ED10-Werte für den Arbeitsplatz extrapoliert werden (Annahmen: 10 m<sup>3</sup> Atemvolumen/8 h Schicht, 5 d/w Exposition, 48 von 52 Wochen pro Jahr über 40 von 75 Lebensjahren) und mit den dort erhaltenen Ergebnissen verglichen werden (beinhaltet große Unsicherheiten, dient hier nur als Vergleichsbasis). Diese Umrechnung ist in der folgenden Tabelle 12 wiedergegeben. Die Risikoabschätzung von Roller et al. (2006) basiert auf einer umfangreichen und aktuellen Datenbasis und stellt die untere Grenze der Spanne der vorliegenden Abschätzungen dar. Sie wird gut durch die neue Risikoabschätzung von Vlaanderen et al. (2010) bestätigt.<sup>3</sup>

---

<sup>3</sup> Die Daten der Leukämiefälle wurden mittels verschiedener Modellierungen in relative Risiken (RR) für 10, 20 und 40 ppm-Jahre ausgewiesen. Hierbei ergaben sich für 40 ppm-Jahre (entsprechend durchschnittlich 1 ppm über 40 Jahre Exposition) RR von 1,19-2,11. Dies entspricht bei einer Hintergrundrate von 1% für Leukämie (Roller et al., 2006) zusätzlichen Leukämierisiken von 0,19-1,11%, entsprechend ED10-Werten von 9-52 ppm. Die Autoren favorisieren für die Risikobewertung ein Modell, was RR von 1,14; 1,29 und 1,59 bei 10, 20 und 40 ppm-Jahren ausweist (Szenario A, ohne Intercept). Dies entspricht einer ED10 von 17 ppm, die praktisch identisch zu der von uns ermittelten ED10 in Höhe von 15 ppm ist.

**Tabelle 12: Vorliegende Risikoschätzungen für Leukämie aus der Literatur und Umrechnung auf Arbeitsplatzbedingungen (Werte in Fettdruck: jeweils angegebene Basis)**

<b>Autor</b>	<b>unit risk (pro <math>\mu\text{g}/\text{m}^3</math>, Allgemeinbevölkerung)</b>	<b>ED10 (ppm, Arbeitsplatz)</b>	<b>ED10 (<math>\text{mg}/\text{m}^3</math>, Arbeitsplatz)</b>
EPA (1998)	<b><math>2,2\text{-}7,8 \cdot 10^{-6}</math></b>	24-84	77-273
WHO (2000)	<b><math>6 \cdot 10^{-6}</math></b>	30,8	100
Wahrendorf und Becher (1990), LAI (1993, 2004)	<b><math>9,2 \cdot 10^{-6}</math></b>	18	58
Vlaanderen et al., (2010)	Nicht ausgewiesen	17 (9-52)	55 (29-169)
Khalade et al. (2010)	Nicht ausgewiesen	15,6	50,7
<b>zum Vergleich:</b>			
Vorliegende Auswertung	<b><math>10 \cdot 10^{-6}</math></b>	<b>15</b>	<b>47</b>

Auffällig ist, dass die Risikoabschätzungen auf alleiniger Basis der Pliofilm-Kohorte (EPA, WHO) zu etwas geringeren Risiken und damit höheren ED10-Werten kommen als die anderer Kollektive. Die Risikoschätzung des DKFZ (Wahrendorf und Becher, 1990), verwendet von LAI (1993) und LAI (2004), kommt dagegen unter Einbezug weiterer Studien zu einem Ergebnis, welches nahezu identisch zu dem der vorliegenden Ableitung ist. Speziell die neueren vorliegenden Arbeiten, welche bei EPA, WHO und Wahrendorf und Becher noch nicht berücksichtigt werden konnten (Tabelle 11), weisen signifikante Risiken bei niedrigeren Konzentrationen auf. Dennoch liegen alle Schätzungen innerhalb einer Spanne von ca. 5, was im Rahmen der gegebenen Unsicherheiten und der z.T. unterschiedlichen Datenbasis (Auswahl der berücksichtigten Studien) als eine sehr gute Übereinstimmung zu werten ist. Es wird deshalb der hier vorgenommenen Ableitung mit der aktuellsten Datenbasis der Vorzug als Grundlage für die Ableitung der ERB-Werte gegeben.

#### **IOM (2010)**

IOM nimmt keine eigene Ableitung eines Arbeitsplatzkrebsrisikos für Benzol vor, stellt jedoch vorliegende Risikoquantifizierungen für den Arbeitsplatz gegenüber. Die entsprechende Tabelle wird im Folgenden dokumentiert (



Tabelle **13**) unter Einschluss der hier vorgestellten Risikoquantifizierung:

**Tabelle 13: Gegenüberstellung von Risikoquantifizierungen auf Basis einer Auswertung von IOM (2010) und Vergleich mit der vorliegenden Bewertung**

Kandidat für einen OEL [mg/m <sup>3</sup> ]	Kommentare
3,2	SCOEL BOELV
1,6	ACGIH TLV
0,12-3,56	Expositionskonzentration, die mit einem 10 <sup>-5</sup> -Risiko verbunden ist (40 Jahre Exposition, Arbeitsplatzbedingungen) nach Crump (1994)
0,016	Expositionskonzentration, die mit einem 10 <sup>-5</sup> -Risiko verbunden ist (40 Jahre Exposition, Arbeitsplatzbedingungen) nach WHO (2000)
0,017	DMEL auf Basis eines „apparent threshold“ für Krebs nach Glass (2006) bei einem zusätzlichen Sicherheitsfaktor von 5
1,9	4:1000-Risiko (diese Ableitung, Arbeitsplatz)
0,2	4:10000-Risiko (diese Ableitung, Arbeitsplatz)
0,02	4:100000-Risiko (diese Ableitung, Arbeitsplatz)

#### **DFG (2009)**

Benzol wird von der DFG als Humankanzerogen (Cat 1) und Keimzellmutagen (Cat. 3A) bewertet. Es wurde entsprechend kein MAK-Wert ausgewiesen. Eine Risikoabschätzung für Benzol liegt nicht vor.

#### **ACGIH (2004, 2008)**

Die ACGIH wertet Benzol als erwiesenes Humankanzerogen (Cat A1) und leitet einen TLV-Wert von 0,5 ppm (1,6 mg/m<sup>3</sup>) ab. Es wurde geschlussfolgert, dass eine Exposition gegenüber dieser Konzentration kein signifikant erhöhtes Krebsrisiko nach sich ziehen würde. Hierzu wurden Befunde zur Pliofilm-Kohorte herangezogen und nach den Expositionsmatrizes von Crump und Paustenbach ausgewertet, welche aber in der vorliegenden Bewertung als nicht geeignet zur quantitativen Risikoabschätzung erachtet werden (s.o.)

#### **ECB (RAR; 2008)**

ECB wertet Benzol als Humankanzerogen und verweist auf die große Spanne der insgesamt vorliegenden Risikoabschätzungen. Die vorliegenden Daten würden es aber nicht erlauben, einer individuellen Abschätzung den Vorzug zu geben. Im RAR wird ausgeführt, dass für Benzol kein Schwellenwert und damit keine Konzentration ohne bestehendes Krebsrisiko angegeben werden kann und die Notwendigkeit der Minimierung des Risikos besteht.

#### **ATSDR (2007)**

Die ATSDR führt selbst keine Kanzerogenitätsbewertung durch, verweist aber auf die Einstufungen anderer Organisationen (EPA, WHO/IARC) und berichten die Risikoabschätzung von EPA/IRIS.

Für nicht kanzerogene Effekte wurde auf Basis der Studie von Lan et al. (2004) mittels einer Benchmark-Modellierung ein „minimal risk level“ in Höhe von 0,003 ppm (0,01 mg/m<sup>3</sup>) für kontinuierliche, chronische inhalative Exposition abgeleitet. Diese Studie diente auch hier zur Ableitung des Schwellenwertes für nicht krebserzeugende Wirkungen.

### 9.3 Schlussfolgerung

Danach lauten die **Risikozahlen** (zusätzliches nominelles Risiko bei inhalativer Exposition über Arbeitslebensdauer, an Krebs zu erkranken):

Risiko	Konzentration
“Point of Departure”: ED10 (Basis: Mittelwert der epidemiologischen Studien)	47 mg/m <sup>3</sup> ; 15 ppm
4:1.000 (Toleranzrisiko)	1,9 mg/m <sup>3</sup> ; 0,6 ppm
4:10.000 (Akzeptanzrisiko bis 2013)	0,2 mg/m <sup>3</sup> ; 0,06 ppm
4:100.000 (Akzeptanzrisiko nach 2013, spätestens 2018)	0,02 mg/m <sup>3</sup> ; 0,006 ppm

Ein Risiko für das Auftreten nichtbösartiger adverser Effekte (insbesondere immunologischer und hämatologischer Veränderungen) ist auch bei Konzentrationen von  $\leq 1,9$  mg/m<sup>3</sup> nicht sicher ausschließbar, jedoch auch nicht mit hinreichender Wahrscheinlichkeit anzunehmen. Damit richtet sich die Expositionsbegrenzung quantitativ an der Risikoabschätzung für bösartige Erkrankungen aus.

**Die Erkenntnisse zu nichtbösartigen Effekten basieren auf Daten mit chronischer Exposition und reflektieren keine Wirkungen nach kurzzeitiger Belastung. Aus diesem Grunde liefern diese Daten keinen Anlass, vom Defaultvorgehen hinsichtlich zulässiger kurzzeitiger Überschreitungen des Schichtmittelwerts abzuweichen. Der (Default-) Überschreitungsfaktor 8 gegenüber dem Toleranzrisikowert kann somit beibehalten werden.**

Nach der vorgestellten Berechnung wäre dem ehemaligen TRK-Wert von Benzol ein Risiko von ca. 6,6 Promille zuzuordnen (nominelles Erkrankungsrisiko für Leukämie bei arbeitslebenslanger Exposition gegenüber Benzol in Höhe des TRK-Werts) (DFG, 2004).

#### *Mittelwert und Expositionsspitzen*

Wie beschrieben, wurde der Schwellenwert für nichtkanzerogene Effekte nicht quantitativ ausgewiesen. Es liegen jedoch erhebliche Hinweise dafür vor, dass entsprechende Wirkungen bereits bei oder wenig oberhalb des Toleranzrisikos bei längerer Expositionsdauer zu erwarten sind. Nach einmaliger Exposition über 2 Stunden wurde ein niedrigster NOAEL von ca. 50 ppm auf Basis von Humandaten genannt, der auf CNS-Effekten beruht (Srbová et al., 1950). Dieser Wert wurde nach Anwendung eines Extrapolationsfaktors von 3 (Intraspeziesvariabilität) und nach

Extrapolation auf 8 Stunden zur Ableitung eines Störfallwerts für Benzol von 9 ppm (AEGL-1; 8 Stunden) herangezogen.

### *Unsicherheiten der Abschätzung*

Die Unsicherheiten der Exposition-Risiko-Beziehung sind vor allem in den prinzipiellen Unsicherheiten der Datenbasis zu sehen, da z.Tl. die Klassierung der Leukämien unklar ist und nur retrospektive Expositionsabschätzungen zu vielen Studien vorliegen (teils mit unterschiedlichen Expositionsabschätzungen zu denselben Studien). Weiterhin ist das Problem der statistischen Aussagekraft der Befunde von kleinen Fallzahlen anzuführen, welches gerade bei niedriger Exposition zum Tragen kommt. Nachdem aber alle Risikoabschätzungen ungeachtet der jeweiligen Datenbasis und Modellierung zu relativ gut übereinstimmenden Werten kommen (Spanne des abgeschätzten Risikos ca. 5), kann in der Gesamtheit der Daten eine hinreichende Plausibilität der Ergebnisse unterstellt werden.

Die Auswahl eines Mittelwerts in den Risikoschätzungen, wie sie hier erfolgte, übernimmt zwangsläufig nicht die besonders hohen oder niedrigen Risikoeinschätzungen. So wurden die qualifizierten Studien von Glass et al. hier nicht (alleine) zur Risikoquantifizierung genutzt.

Unter dem jetzigen Kenntnisstand bestehen beträchtliche Unklarheiten hinsichtlich des Mechanismus der leukämogenen Wirkung von Benzol (Rolle der primären Gentoxizität und mögliche Sublinearität durch Beteiligung sekundärer gentoxischer Ereignisse und nichtkanzerogener Hämatoxizität, Supralinearität, d.h. Plateaueffekte bei Expositionsspitzen infolge Sättigung des Metabolismus, Supralinearität wegen eines effektiven Metabolismus im Niedrigdosisbereich).

Weitere Unsicherheiten ergeben sich aus möglichen zusätzlichen Tumorlokalisationen, welche aber zum jetzigen Zeitpunkt noch nicht als gesichert gelten oder quantitativ erfasst werden können.

Genetische Polymorphismen der Enzyme Cytochrom CYP2E1, NAD(P)H-Chinonreductase (NQ01), verschiedener Glutathion-S-Transferasen sowie weiterer Enzyme, welche in den Metabolismus von Benzol involviert sind, beeinflussen die individuelle Empfindlichkeit gegenüber Benzolintoxikation (Blutbildveränderung). Dies kommt besonders bei Personen zum Tragen, bei denen gleichzeitig mehrere Polymorphismen vorliegen. Dieser Effekt wurde anhand der nicht kanzerogenen Blutschädigung aufgezeigt. Der Einfluss auf die Sensitivität gegenüber Krebs ist angesichts der Beobachtungen von Lan et al. (2009), Hosgood et al., 2009; Shen et al. (2006) und Qu et al. (2003) und wegen der allgemein anerkannten Wechselwirkung regenerativer Prozesse und der Krebspromotion zu vermuten.

### *Dermale Aufnahme*

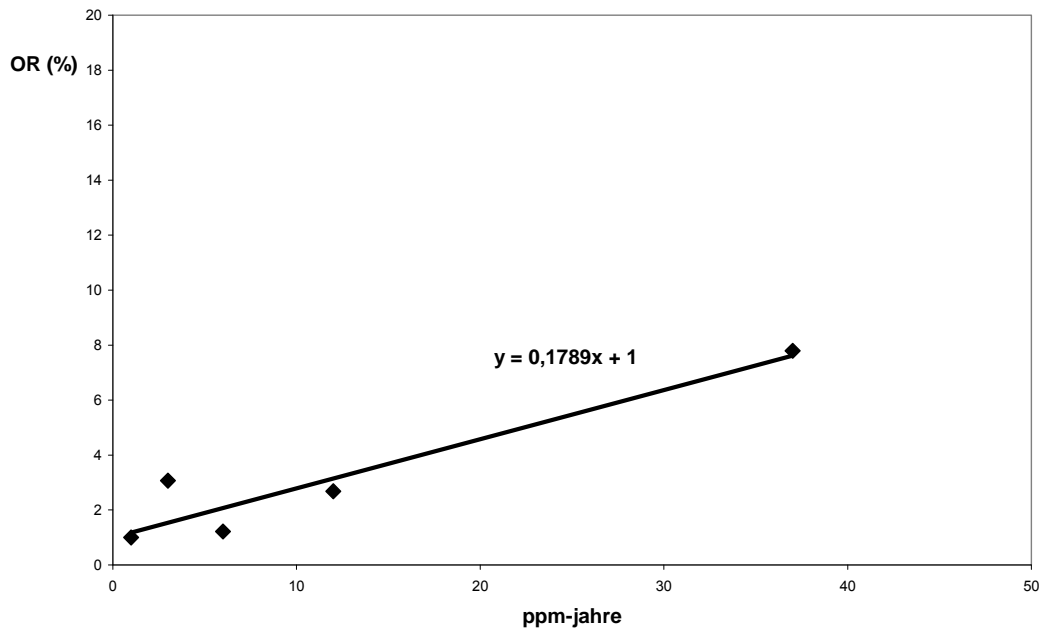
Die dermale Aufnahme luftbürtigen Benzols ist mit 4% der inhalativ aufgenommenen Menge gering, ebenso die perkutane Resorption bei nicht-okklusiver dermalen Exposition (ATSDR, 2007; ECB, 2008; EPA, 2002; vgl. auch Korinth et al., 2005). Eine neuerliche differenzierte Analyse der perkutanen Aufnahme von Benzol sollte zur Erfassung der Gesamtbelastung beachtet werden (Williams et al., 2011).

### *Biomonitoring*

Eine Abschätzung der inneren Belastung in Abhängigkeit der äußeren Exposition ist mittels der Parameter Benzolbelastung im Blut, Ausscheidung von S-Phenylmercaptursäure oder der trans-, trans-Muconsäure im Urin prinzipiell möglich; jedoch bietet die nach Greim und Lehnert (1996) aufgestellte Korrelation (vgl. Abschnitt 4) erst Daten oberhalb von 0,3 ppm (1 mg/m<sup>3</sup>) und befindet sich zudem in Überprüfung (DFG, 2009). Andere vorgeschlagene Parameter des Biomonitoring (vgl. Abschnitt 4) sind noch nicht allgemein etabliert, ermöglichen aber in der Zukunft möglicherweise eine sensitivere Ermittlung der inneren Belastung. Angesichts des möglicherweise abweichenden Metabolismus bei niedriger Exposition sind die Daten von (Rappaport et al., 2009) beim Biomonitoring zu berücksichtigen. Weitere Informationen über Benzolmetaboliten im biologischen Material liefern Weisel (2010) und Schettgen et al. (2010).

**Anhang: Berechnungen****ED10-Berechnung**

Beispiel: Glass et al. (2005), Diagramm der Versuchsdaten:



Aus der Regressionsgeraden lässt sich beim Einsetzen des Risikos von 10% (y-Wert) die ED10 von 50,3 ppm-Jahren errechnen (1,26 ppm bei 40 Jahren Exposition)  
 Anmerkung: Das Hintergrundrisiko für Leukämie ist ca. 1% (Schnittpunkt der Trendlinie bei Exposition von 0; Roller et al., 2006).

**Umrechnung der ED10 in Toleranz- und Akzeptanzrisiko**

ED10: 47 mg/m<sup>3</sup> (10% Zusatzrisiko)

Toleranzrisiko (4:1000): 47 mg/m<sup>3</sup> / 0,1 x 0,004 = 1,88 mg/m<sup>3</sup> (gerundet 1,9 mg/m<sup>3</sup>)

Akzeptanzrisiko (4:10000): 47 mg/m<sup>3</sup> / 0,1 x 0,0004 = 0,19 mg/m<sup>3</sup>

Akzeptanzrisiko (4:100000): 47 mg/m<sup>3</sup> / 0,1 x 0,00004 = 0,19 mg/m<sup>3</sup>

Quelle: (Qu et al., 2003)

## Literatur

---

ACGIH, American Conference of Governmental Industrial Hygienists (2004)  
Documentation of the TLVs and BEIs with Other Worldwide Occupational Exposure Values

Cincinnati OH

ACGIH, American Conference of Governmental Industrial Hygienists (2008)  
Guide to Occupational Exposure Values

Cincinnati, OH

AGS, Ausschuss für Gefahrstoffe (2008)

Leitfaden zur Quantifizierung von Krebsrisikozahlen bei Exposition gegenüber krebserzeugenden Gefahrstoffen für die Grenzwertsetzung am Arbeitsplatz

Arbeitskreis Risikoableitung im Unterausschuss „Gefahrstoffbewertung“ (UA III) des Ausschusses für Gefahrstoffe (AGS)

Bundesanstalt für Arbeitsschutz und Arbeitsmedizin, Dortmund/Berlin/Dresden

<http://www.baua.de/de/Publikationen/Fachbeitraege/Gd34.pdf?blob=publicationFile&v=5>

Albertini, R.; Clewell, H.; Himmelstein, M.W.; Morinello, E.; Olin, S.; Preston, J.; Scarano, L.; Smith, M.T.; Swenberg, J.; Tice, R.; Travis, C. (2003)

The use of non-tumor data in cancer risk assessment: reflections on butadiene, vinyl chloride, and benzene

*Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 37, 105-132

ATSDR, Agency for Toxic Substances and Disease Registry (2007)

Toxicological Profile for Benzene. Update

U.S. Department of Health and Human Services; Public Health Service

Austin, H.; Cole, P.; McCraw, D.S. (1986)

A case-control study of leukemia at an oil refinery

*Journal of Occupational Medicine*, 28, 1169-1173, zitiert nach Egilman et al., 2007

Baan, R.; Grosse, Y.; Straif, K.; Secretan, B.; El Ghissassi, F.; Bouvard, V.; Benbrahim-Tallaa, L.; Guha, N.; Freeman, C.; Galichet, L.; Coglianò, V. (2009)

A review of human carcinogens - Part F: chemical agents and related occupations

*The Lancet Oncology*, 10, 1143-1144

Baerson, K.A.; Snyder, C.A.; Albert, R.E. (1984)

Repeated exposures of C57BL mice to inhaled benzene at 10 ppm markedly depressed erythropoietic colony formation

*Toxicology Letters*, 20, 337-342

Badham, H.J.; LeBrun, D.P.; Rutter, A.; Winn, L.M. (2010)

Transplacental benzene exposure increases tumor incidence in mouse offspring: possible role of fetal benzene metabolism

*Carcinogenesis*, 31, 1142-1148

Bagryantseva, Y.; Novotna, B.; Rossner, P.; Chvatalova, I.; Milcova, A.; Svecova, V.; Lnenickova, Z.; Solansky, I.; Sram, R.J. (2010)

Oxidative damage to biological macromolecules in Prague bus drivers and garagemen: impact of air pollution and genetic polymorphisms

*Toxicology Letters*, 199, 60-68

Barry, K.H.; Zhang, Y.; Lan, Q.; Zahm, S.H.; Holford, T.R.; Leaderer, B.; Boyle, P.; Hosgood, H.D.; Chanock, S.; Yeager, M. (2011)

Genetic variation in metabolic genes, occupational solvent exposure, and risk of Non-Hodgkin Lymphoma

*American Journal of Epidemiology*, 173, 404-413

Beach, J.; Burstyn, I. (2006)

Cancer risk in benzene exposed workers

*Occupational and Environmental Medicine*, 63, 71-72

Beelte, S.; Haas, R.; Germing, U.; Jansing, P.J. (2009)

Paradigmenwechsel in der Beurteilung myeloischer und lymphatischer Neoplasien bei beruflicher Benzolexposition (BK-Ziffer 1303)

*Medizinische Klinik*, 104, 197-203

Bi, Y.; Li, Y.; Kong, M.; Xiao, X.; Zhao, Z.; He, X.; Ma, Q. (2010)

Gene expression in benzene-exposed workers by microarray analysis of peripheral mononuclear blood cells: induction and silencing of CYP4F3A and regulation of DNA-dependent protein kinase catalytic subunit in DNA double strand break repair

*Chemico-Biological Interactions*, 184, 207-211

Billet, S.; Paget, V.; Garcon, G.; Heutte, N.; André, V.; Shirali, P.; Sichel, F. (2010)

Benzene-induced mutational pattern in the tumour suppressor gene *TP53* analysed by use of a functional assay, the functional analysis of separated alleles in yeast, in human lung cells

*Archives of Toxicology*, 84, 99-107

Bird, M.G.; Greim, H.; Kaden, D.A.; Rice, J.M.; Snyder, R. (2010)

BENZENE 2009 - Health effects and mechanisms of bone marrow toxicity: Implications for t-AML and the mode of action framework

*Chemico-Biological Interactions*, 184, 3-6

Bird, M.G.; Greim, H.; Snyder, R.; Rice, J.M. (2005)

International symposium: Recent advances in benzene toxicity



*Chemico-Biological Interactions*, 153-154, 1-5

Bloemen, L.J.; Youk, A.; Bradley, T.D.; Bodner, K.M.; Marsh, G. (2004)  
Lymphohaematopoietic cancer risk among chemical workers exposed to benzene  
*Occupational and Environmental Medicine*, 61, 270-274

BMAS, Bundesministerium für Arbeit und Soziales (2007)  
Berufskrankheitenverordnung: Empfehlung des Ärztlichen Sachverständigenbeirats  
„Berufskrankheiten“, Bekanntmachung des BMAS vom 01.09.2007 – IVa – 45222  
*Gemeinsames Ministerialblatt*, 49-51, 974-1015

Bollati, V.; Baccarelli, A.; Hou, L.; Bonzini, M.; Fustinoni, S.; Cavallo, D.; Byun, H.M.;  
Jiang, J.; Marinelli, B.; Pesatori, A.C.; Bertazzi, P.A.; Yang, A.S. (2007)  
Changes in DNA methylation patterns in subjects exposed to low-dose benzene  
*Cancer Research*, 67, 876-880

Bolt, H.M.; Triebig, G.; Greim, H. (2010)  
Benzol-Symposium München 2009. Gesundheitliche Effekte von Benzol auf das  
Hämatopoetische System und Wirkmechanismen  
*Arbeitsmedizin, Sozialmedizin, Umweltmedizin*, 45, 123-125

Buthbumrung, N.; Mahidol, C.; Navasumrit, P.; Promvijit, J.; Hunsonti, P.; Autrup, H.;  
Ruchirawat, M. (2008)  
Oxidative DNA damage and influence of genetic polymorphisms among urban and  
rural schoolchildren exposed to benzene  
*Chemico-Biological Interactions*, 172, 185-194

Chen, Y.; Li, G.; Yin, S.; Xu, J.; Ji, Z.; Xiu, X.; Liu, L.; Ma, D. (2007)  
Genetic polymorphisms involved in toxicant-metabolizing enzymes and the risk of  
chronic benzene poisoning in Chinese occupationally exposed populations  
*Xenobiotica*, 37, 103-112

Choi, S.; Kim, J.Y.; Kim, K.B.; Seol, J.E.; Baek, H.J.; Kook, H.; Seo, S.B. (2011)  
Differential gene expression analysis in human leukemia cell line K562 treated with  
benzene  
*Epidemiology*, 22, S246

Cogliano, V.J.; Baan, R.; Straif, K. (2011)  
Updating IARC's carcinogenicity assessment of benzene  
*American Journal of Industrial Medicine*, 54, 165-167

Collins, J.J.; Ireland, B.; Buckley, C.F.; Shepperly, D. (2003)  
Lymphohaematopoietic cancer mortality among workers with benzene exposure

*Occupational and Environmental Medicine*, 60, 676-679, zitiert nach Roller et al., 2006

Collins, J.J.; Ireland, B.K.; Easterday, P.A.; Nair, R.S.; Braun, J. (1997)  
Evaluation of lymphopenia among workers with low-level benzene exposure and the utility of routine data collection  
*Journal of Occupational and Environmental Medicine*, 39, 232-237

Crump, K.S. (1994)  
Risk of benzene-induced leukemia: a sensitivity analysis of the pliofilm cohort with additional follow-up and new exposure estimates  
*Journal of Toxicology and Environmental Health*, 42, 219-242

Crump, K.S. (1996)  
Risk of benzene-induced leukemia predicted from the pliofilm cohort  
*Environmental Health Perspectives*, 104 Suppl 6, 1437-1441

DFG, Deutsche Forschungsgemeinschaft (2004)  
MAK- und BAT-Werte-Liste 2004. Senatskommission zur Prüfung gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe. Mitteilung 40  
WILEY-VCH Verlag GmbH Weinheim

DFG, Deutsche Forschungsgemeinschaft (2009)  
MAK- und BAT-Werte-Liste 2009. Senatskommission zur Prüfung gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe. Mitteilung 45  
WILEY-VCH Verlag GmbH Weinheim

DGUV, Deutsche gesetzliche Unfallversicherung (2009)  
Liste der Berufskrankheiten wird erweitert. Pressemitteilung vom 05.08.2009  
online: <http://www.dguv.de/inhalt/presse/index.jsp>, Druckdatum: 2009  
Berlin

Dosemeci M; Yin SN; Linet M; Wacholder S; Rothman N; Li GL; Chow WH; Wang YZ; Liang ZL; Dai TR; Zhang WU; Chao XJ; Ye PZ; Kou QR; Fan YH; Zhang XF; Lin; XF; Meng JF; Zho JS; Blot WJ, and Hayes RB (1996).  
Indirect validation of benzene exposure assessments by association with benzene poisoning. *Environ Health Perspect.* 1996; 104, 1343-1347.

Eastmond, D.A.; Mondrala, S.T.; Hasegawa, L. (2005)  
Topoisomerase II inhibition by myeloperoxidase-activated hydroquinone: A potential mechanism underlying the genotoxic and carcinogenic effects of benzene  
*Chemico-Biological Interactions*, 153-154, 207-216

EC, European Commission (1994)

Occupational Exposure Limits. Recommendations of the Scientific Expert Group 1991-92. Report EUR 15091 EN  
Luxembourg

EC, European Commission (2008)

Regulation (EC) No 1272/2008 of the European Parliament and of the Council of 16 December 2008 on classification, labelling and packaging of substances and mixtures, amending and repealing Directives 67/548/EEC and 1999/45/EC, and amending Regulation (EC) No 1907/2006

*Official Journal of the European Union*, L 353, 1-1355

EC, European Commission (2009)

European Chemical Substances Information System (ESIS)

online: <http://ecb.jrc.ec.europa.eu/esis/>, Druckdatum: 2009

ECB, European Chemicals Bureau (2008)

Risk Assessment - Benzene. Final Approved Version

online: <http://ecb.jrc.ec.europa.eu/esis/?PGM=esi&DEPUIS=autre>, Druckdatum: 2009

EPA, Environmental Protection Agency (1998)

Carcinogenic Effects of Benzene: An Update. EPA/600/P-97/001F

U.S. Environmental Protection Agency, Washington, DC

EPA, Environmental Protection Agency (2002)

Toxicological Review of Benzene (Noncancer Effects). EPA/635/R-02/001F

U.S. Environmental Protection Agency, Washington DC

EPA, Environmental Protection Agency (2009)

Benzene. Interim Acute Exposure Guideline Levels (AEGLs) for NAS/COT Subcommittee for AEGLS

[http://www.epa.gov/oppt/aegl/pubs/benzene\\_interim\\_dec\\_2008\\_v1.pdf](http://www.epa.gov/oppt/aegl/pubs/benzene_interim_dec_2008_v1.pdf)

Farmer, P.B.; Kaur, B.; Roach, J.; Levy, L.; Consonni, D.; Bertazzi, P.A.; Pesatori, A.; Fustinoni, S.; Buratti, M.; Bonzini, M.; Colombi, A.; Popov, T.; Cavallo, D.; Desideri, A.; Valerio, F.; Pala, M.; Bolognesi, C.; Merlo, F. (2005)

The use of S-phenylmercapturic acid as a biomarker in molecular epidemiology studies of benzene

*Chemico-Biological Interactions*, 153-154, 97-102

Forrest, M.S.; Lan, Q.; Hubbard, A.E.; Zhang, L.; Vermeulen, R.; Zhao, X.; Li, G.; Wu, Y.Y.; Shen, M.; Yin, S.; Chanock, S.J.; Rothman, N.; Smith, M.T. (2005)

Discovery of novel biomarkers by microarray analysis of peripheral blood mononuclear cell gene expression in benzene-exposed workers

*Environmental Health Perspectives*, 113, 801-807

Fracasso, M.E.; Doria, D.; Bartolucci, G.B.; Carrieri, M.; Lovreglio, P.; Ballini, A.; Soleo, L.; Tranfo, G.; Manno, M. (2010)

Low air levels of benzene: Correlation between biomarkers of exposure and genotoxic effects

*Toxicology Letters*, 192, 22-28

Galván, N.; Lim, S.; Zmugg, S.; Smith, M.T.; Zhang, L. (2008)

Depletion of WRN enhances DNA damage in HeLa cells exposed to the benzene metabolite, hydroquinone

*Mutation Research - Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 649, 54-61

Garte, S.; Taioli, E.; Popov, T.; Bolognesi, C.; Farmer, P.; Merlo, F. (2008)

Genetic susceptibility to benzene toxicity in humans

*Journal of Toxicology and Environmental Health. Part A*, 71, 1482-1489

Glass, D.C.; Gray, C.N.; Jolley, D.J.; Gibbons, C.; Sim, M.R. (2005)

Health watch exposure estimates: do they underestimate benzene exposure?

*Chemico-Biological Interactions*, 153-154, 23-32

Glass, D.C.; Gray, C.N.; Jolley, D.J.; Gibbons, C.; Sim, M.R. (2006)

The health watch case-control study of leukemia and benzene: the story so far

*Annals of the New York Academy of Sciences*, 1076, 80-89

Glass, D.C.; Gray, C.N.; Jolley, D.J.; Gibbons, C.; Sim, M.R.; Fritschi, L.; Adams, G.G.; Bisby, J.A.; Manuell, R. (2003)

Leukemia risk associated with low-level benzene exposure

*Epidemiology*, 14, 569-577

Golding, B.T.; Barnes, M.L.; Bleasdale, C.; Henderson, A.P.; Jiang, D.; Li, X.; Mutlu, E.; Petty, H.J.; Sadeghi, M.M. (2010)

Modeling the formation and reactions of benzene metabolites

*Chemico-Biological Interactions*, 184, 196-200

Goldstein, B.D. (2010)

Benzene as a cause of lymphoproliferative disorders

*Chemico-Biological Interactions*, 184, 147-150

Green, J.D.; Snyder, C.A.; LoBue, J.; Goldstein, B.D.; Albert, R.E. (1981)

Acute and chronic dose/response effects of inhaled benzene on multipotential hematopoietic stem (CFU-S) and granulocyte/macrophage progenitor (GM-CFU-C) cells in CD-1 mice

*Toxicology and Applied Pharmacology*, 58, 492-503

Greim, H. (2002)

Gesundheitsschädliche Arbeitsstoffe, Toxikologisch-arbeitsmedizinische Begründungen von MAK-Werten, Loseblattsammlung, 34. Lfg  
DFG Deutsche Forschungsgemeinschaft, WILEY-VCH Verlag Weinheim

Greim, H.; Lehnert, G. (1996)

Biologische Arbeitsstoff-Toleranz-Werte (BAT-Werte) und Expositionsäquivalente für krebserzeugende Arbeitsstoffe (EKA), Arbeitsmedizinisch-toxikologische Begründungen  
8. Lfg., DFG Deutsche Forschungsgemeinschaft

Gu, S.Y.; Zhang, Z.B.; Wan, J.X.; Jin, X.P.; Xia, Z.L. (2007)

Genetic polymorphisms in CYP1A1, CYP2D6, UGT1A6, UGT1A7, and SULT1A1 genes and correlation with benzene exposure in a Chinese occupational population  
*Journal of Toxicology and Environmental Health. Part A*, 70, 916-924

Guénel, P.; Imbernon, E.; Chevalier, A.; Crinquand-Calastreng, A.; Goldberg, M. (2002)

Leukemia in relation to occupational exposures to benzene and other agents: a case-control study nested in a cohort of gas and electric utility workers  
*American Journal of Industrial Medicine*, 42, 87-97, zitiert nach Roller et al., 2006

Hartwig, A. (2010)

The role of DNA repair in benzene-induced carcinogenesis  
*Chemico-Biological Interactions*, 184, 269-272

Hassauer, M.; Kalberlah, F.; Schneider, K. (2005)

Benzol

In: Eikmann, T.; Heinrich, U.; Heinzow, B.; Konietzka, R., Gefährdungsabschätzung von Umweltschadstoffen. Ergänzbare Handbuch toxikologischer Basisdaten und ihre Bewertung, Kennziffer D 125, 10. Erg.-Lfg. 2/05, Erich Schmidt Verlag Berlin,

Hayes, R.B.; Yin, S.-N.; Dosemeci, M.; Li, G.-L.; Wacholder, S.; Travis, L.B.; Li, C.-Y.; Rothman, N.; Hoover, R.N.; Linet, M.S. (1997)

Benzene and the dose-related incidence of hematologic neoplasms in China  
*Journal of the National Cancer Institute*, 89, 1065-1071

Henry, J.; Brüning, T. (2006)

B-Zell-Lymphom des Magens bei einem Pechkokereiarbeiter  
*BGFA-Info 02/2006*, 6-9

Henry, J.; Brüning, T. (2009)

Erkrankungen des Blutes, des blutbildenden und lymphatischen Systems durch Benzol

*BGFA-Info 01/2009, 6-10*

Hirabayashi, Y.; Inoue, T. (2010)

Benzene-induced bone-marrow toxicity: A hematopoietic stem-cell-specific, aryl hydrocarbon receptor-mediated adverse effect

*Chemico-Biological Interactions, 184, 252-258*

Hoffmann, H.J.; Bolt, H.M.; Prager, H.M.; Schiele, R.; Tannapfel, A.; Triebig, G.; Weber, A. (2001)

Benzol-verursachte Malignome des haematolymphatischen Systems als Berufskrankheit BK 1303 : Eine arbeitsmedizinisch-toxikologische Bewertung des aktuellen wissenschaftlichen Schrifttums

*Arbeitsmedizin, Sozialmedizin, Umweltmedizin, 36, 475-483*

Hosgood, H.D.; Zhang, L.; Shen, M.; Berndt, S.I.; Vermeulen, R.; Li, G.; Yin, S.; Yeager, M.; Yuenger, J.; Rothman, N.; Chanock, S.; Smith, M.; Lan, Q. (2009)

Association between genetic variants in VEGF, ERCC3 and occupational benzene hematotoxicity

*Occupational and Environmental Medicine, 66, 848-853*

Hunting, K.L.; Longbottom, H.; Kalavar, S.S.; Stern, F.; Schwartz, E.; Welch, L.S. (1995)

Haematopoietic cancer mortality among vehicle mechanics

*Occupational and Environmental Medicine, 52, 673-678*

Infante, P.F. (2005)

Cancer risks in a UK benzene exposed cohort

*Occupational and Environmental Medicine, 62, 905-906*

Infante, P.F. (2006)

Benzene exposure and multiple myeloma: a detailed meta-analysis of benzene cohort studies

*Annals of the New York Academy of Sciences, 1076, 90-109*

Infante, P.F. (2011)

The IARC october 2009 evaluation of benzene carcinogenicity was incomplete and needs to be reconsidered

*American Journal of Industrial Medicine, 54, 157-164*

IOM, Institute of Occupational Medicine (2010)

OELs for Carcinogens. Research Report 937, Work Package 6

Irons, R.D.; Gross, S.A.; Le, A.; Wang, X.Q.; Chen, Y.; Ryder, J.; Schnatter, A.R. (2010)

Integrating WHO 2001-2008 criteria for the diagnosis of Myelodysplastic Syndrome (MDS): A case-case analysis of benzene exposure

*Chemico-Biological Interactions*, 184, 30-38

Jamall, I.S.; Willhite, C.C. (2008)

Is benzene exposure from gasoline carcinogenic?

*Journal of Environmental Monitoring*, 10, 176-187

Ji, Z.; Zhang, L.; Guo, W.; McHale, C.M.; Smith, M.T. (2009)

The benzene metabolite, hydroquinone and etoposide both induce endoreduplication in human lymphoblastoid TK6 cells

*Mutagenesis*, 24, 367-372

Kane, E.V.; Newton, R. (2010)

Occupational exposure to gasoline and the risk of non-Hodgkin lymphoma: a review and meta-analysis of the literature

*Cancer Epidemiology*, 34, 516-522

Kang, S.K.; Lee, M.Y.; Kim, T.K.; Lee, J.O.; Ahn, Y.S. (2005)

Occupational exposure to benzene in South Korea

*Chemico-Biological Interactions*, 153-154, 65-74

Kawasaki, Y.; Hirabayashi, Y.; Kaneko, T.; Kanno, J.; Kodama, Y.; Matsushima, Y.; Ogawa, Y.; Saitoh, M.; Sekita, K.; Uchida, O.; Umemura, T.; Yoon, B.I.; Inoue, T. (2009)

Benzene-induced hematopoietic neoplasms including myeloid leukemia in Trp53-deficient C57BL/6 and C3H/He mice

*Toxicological Sciences*, 110, 293-306

Keenan, J.J.; Ross, J.H.; Sell, V.; Vega, H.M.; Krieger, R.I. (2010)

Deposition and spatial distribution of insecticides following fogger, perimeter sprays, spot sprays, and crack-and-crevice applications for treatment and control of indoor pests

*Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 58, 189-195

Khalade, A.; Jaakkola, M.S.; Pukkala, E.; Jaakkola, J.J. (2010)

Exposure to benzene at work and the risk of leukemia: a systematic review and meta-analysis

*Environmental Health*, 9:31,

Khan, H.A. (2007)

Benzene's toxicity: a consolidated short review of human and animal studies

*Human and Experimental Toxicology*, 26, 677-685

Kim, Y.J.; Choi, J.Y.; Cho, Y.H.; Woo, H.D.; Chung, H.W. (2010)

Micronucleus-centromere assay in workers occupationally exposed to low level of benzene

*Human & Experimental Toxicology*, 29, 343-350

Kirkeleit, J.; Riise, T.; Bratveit, M.; Moen, B.E. (2008)

Increased risk of acute myelogenous leukemia and multiple myeloma in a historical cohort of upstream petroleum workers exposed to crude oil

*Cancer Causes & Control*, 19, 13-23

Korinth, G.; Barrot, R.; Drexler, H.; Hallier, E.; Kalberlah, F.; Prager, H.M.; Schaller, K.H.; Westphal, G.; Nies, E. (2005)

Perkutane Aufnahme von Benzol - Folgerungen für die retrospektive Expositionsabschätzung

*Arbeitsmedizin, Sozialmedizin, Umweltmedizin*, 40, 170-171

LAI, Länderausschuß für Immissionsschutz (1993)

Krebsrisiko durch Luftverunreinigungen. Materialienband. Band I und II

Ministerium für Umwelt Raumordnung und Landwirtschaft des Landes Nordrhein-Westfalen, Düsseldorf

LAI, Länderausschuß für Immissionsschutz (2004)

Bericht des Länderausschusses für Immissionsschutz (LAI) „Bewertung von Schadstoffen, für die keine Immissionswerte festgelegt sind - Orientierungswerte für die Sonderfallprüfung und für die Anlagenüberwachung sowie Zielwerte für die langfristige Luftreinhalteplanung unter besonderer Berücksichtigung der Beurteilung krebserzeugender Luftschadstoffe“

online: <http://www.lanuv.nrw.de/gesundheit/pdf/LAI2004.pdf>

Lamm, S.H.; Engel, A.; Byrd, D.M. (2005)

Non-Hodgkin lymphoma and benzene exposure: a systematic literature review

*Chemico-Biological Interactions*, 153-154, 231-237

Lamm, S.H.; Engel, A.; Joshi, K.P.; Byrd, D.M.; Chen, R. (2009)

Chronic myelogenous leukemia and benzene exposure: A systematic review and meta-analysis of the case-control literature

*Chemico-Biological Interactions*, 182, 93-97

Lamm, S.H.; Grünwald, H.W. (2006)

Benzene exposure and hematotoxicity

*Science*, 312, 998-999

Lan, Q.; Zhang, L.; Li, G.; Vermeulen, R.; Weinberg, R.S.; Dosemeci, M.; Rappaport, S.M.; Shen, M.; Alter, B.P.; Wu, Y.; Kopp, W.; Waidyanatha, S.; Rabkin, C.; Guo, W.; Chanock, S.; Hayes, R.B.; Linet, M.; Kim, S.; Yin, S.; Rothman, N.; Smith, M.T. (2004)



## Hematotoxicity in workers exposed to low levels of benzene

*Science*, 306, 1774-1776

Lan, Q.; Zhang, L.; Shen, M.; Jo, W.J.; Vermeulen, R.; Li, G.; Vulpe, C.; Lim, S.; Ren, X.; Rappaport, S.M.; Berndt, S.I.; Yeager, M.; Yuenger, J.; Hayes, R.B.; Linet, M.; Yin, S.; Chanock, S.; Smith, M.T.; Rothman, N. (2009)

Large-scale evaluation of candidate genes identifies associations between DNA repair and genomic maintenance and development of benzene hematotoxicity

*Carcinogenesis*, 30, 50-58

Lan, Q.; Zhang, L.; Shen, M.; Smith, M.T.; Li, G.; Vermeulen, R.; Rappaport, S.M.; Forrest, M.S.; Hayes, R.B.; Linet, M.; Dosemeci, M.; Alter, B.P.; Weinberg, R.S.; Yin, S.; Yeager, M.; Welch, R.; Waidyanatha, S.; Kim, S.; Chanock, S.; Rothman, N. (2005)

Polymorphisms in cytokine and cellular adhesion molecule genes and susceptibility to hematotoxicity among workers exposed to benzene

*Cancer Research*, 65, 9574-9581

Lee, E.; Im, H.; Oh, E.; Jung, W.W.; Kang, H.S.; Sul, D. (2005)

DNA damage in T and B lymphocytes, bone marrow, spleens, and livers of rats exposed to benzene

*Inhalation Toxicology*, 17, 401-408

Li, G.; Yin, S. (2006)

Progress of epidemiological and molecular epidemiological studies on benzene in China

*Annals of the New York Academy of Sciences*, 1076, 800-809

Lindsey, R.H.; Bender, R.P.; Osheroff, N. (2005a)

Effects of benzene metabolites on DNA cleavage mediated by human topoisomerase II alpha: 1,4-hydroquinone is a topoisomerase II poison

*Chemical Research in Toxicology*, 18, 761-770

Lindsey, R.H.; Bender, R.P.; Osheroff, N. (2005b)

Stimulation of topoisomerase II-mediated DNA cleavage by benzene metabolites

*Chemico-Biological Interactions*, 153/154, 197-205

Lupo, P.J.; Symanski, E.; Waller, D.K.; Chan, W.C.; Langlois, P.H.; Canfield, M.A.; Mitchell, L.E. (2010)

Maternal Exposure to Ambient Levels of Benzene and Neural Tube Defects among Offspring: Texas, 1999–2004

*Environmental Health Perspectives*, 119, 397-402

Maffei, F.; Hrelia, P.; Angelini, S.; Carbone, F.; Cantelli Forti, G.; Barbieri, A.; Sanguinetti, G.; Mattioli, S.; Violante, F.S. (2005)

Effects of environmental benzene: micronucleus frequencies and haematological values in traffic police working in an urban area

*Mutation Research - Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 583, 1-11

Manini, P.; De Palma, G.; Andreoli, R.; Mozzoni, P.; Poli, D.; Goldoni, M.; Petyx, M.; Apostoli, P.; Mutti, A. (2010)

Occupational exposure to low levels of benzene: Biomarkers of exposure and nucleic acid oxidation and their modulation by polymorphic xenobiotic metabolizing enzymes

*Toxicology Letters*, 193, 229-235

McCraw, D.S.; Joyner, R.E.; Cole, P. (1985)

Excess leukemia in a refinery population

*Journal of Occupational Medicine*, 27, 220-222, zitiert nach Egilman et al., 2007

McHale, C.M.; Lan, Q.; Corso, C.; Li, G.; Zhang, L.; Vermeulen, R.; Curry, J.D.; Shen, M.; Turakulov, R.; Higuchi, R.; Germer, S.; Yin, S.; Rothman, N.; Smith, M.T. (2008)

Chromosome translocations in workers exposed to benzene

*Journal of the National Cancer Institute. Monographs*, 74-77

McHale, C.M.; Zhang, L.; Lan, Q.; Vermeulen, R.; Li, G.; Hubbard, A.E.; Porter, K.E.; Thomas, R.; Portier, C.J.; Shen, M.; Rappaport, S.M.; Yin, S.; Smith, M.T.; Rothman, N. (2011)

Global gene expression profiling of a population exposed to a range of benzene levels

*Environmental Health Perspectives*, 119, 628-634

Mehlman, M.A. (2006a)

Causal relationship between non-Hodgkin's lymphoma and exposure to benzene and benzene-containing solvents

*Annals of the New York Academy of Sciences*, 1076, 120-128

Mehlman, M.A. (2006b)

Dangerous and cancer-causing properties of products and chemicals in the oil refining and petrochemical industries. Part XXX: Causal relationship between chronic myelogenous leukemia and benzene-containing solvents

*Annals of the New York Academy of Sciences*, 1076, 110-119

Merlo, D.F.; Stagi, E.; Fontana, V.; Consonni, D.; Gozza, C.; Garrone, E.; Bertazzi, P.A.; Pesatori, A.C. (2010)

A historical mortality study among bus drivers and bus maintenance workers exposed to urban air pollutants in the city of Genoa, Italy

*Occupational and Environmental Medicine*, 67, 611-619

Miller, B.G.; Fransman, W.; Heederik, D.; Hurley, J.F.; Kromhout, H.; Fitzsimons, E. (2010)

A review of the data quality and comparability of case-control studies of low-level exposure to benzene in the petroleum industry

*International Archives of Occupational and Environmental Health*, 83, 69-76

Modjtahedi, B.S.; Maibach, H.I. (2008)

In vivo percutaneous absorption of benzene in man: forearm and palm

*Food and Chemical Toxicology*, 46, 1171-1174

Mondrala, S.; Eastmond, D.A. (2010)

Topoisomerase II inhibition by the bioactivated benzene metabolite hydroquinone involves multiple mechanisms

*Chemico-Biological Interactions*, 184, 259-268

Mullin, A.H.; Rando, R.; Esmundo, F.; Mullin, D.A. (1995)

Inhalation of benzene leads to an increase in the mutant frequencies of a lacI transgene in lung and spleen tissues of mice

*Mutation Research - Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 327, 121-129, zitiert nach ECB, 2008

Neasham, D.; Sifi, A.; Nielsen, K.R.; Overvad, K.; Raaschou-Nielsen, O.; Tjønneland, A.; Barricarte, A.; González, C.A.; Navarro, C.; Rodriguez Suarez, L.; Travis, R.C.; Key, T.; Linseisen, J.; Kaaks, R.; Crosignani, P.; Berrino, F.; Rosso, S.; Mattiello, A.; Vermeulen, R.C.H.; Bueno-de-Mesquita, H.B.; Berglund, G.; Manjer, J.; Zackrisson, S.; Hallmans, G.; Malmer, B.; Bingham, S.; Khaw, K.T.; Bergmann, M.M.; Boeing, H.; Trichopoulou, A.; Masala, G.; Tumino, R.; Lund, E.; Slimani, N.; Ferrari, P.; Boffetta, P.; Vineis, P.; Riboli, E. (2011)

Occupation and risk of lymphoma: a multicentre prospective cohort study (EPIC)

*Occupational and Environmental Medicine*, 68, 77-81

Nishikawa, T.; Izumo, K.; Miyahara, E.; Horiuchi, M.; Okamoto, Y.; Kawano, Y.; Takeuchi, T. (2011)

Benzene induces cytotoxicity without metabolic activation

*Journal of Occupational Health*, 53, 84-92

NTP, National Toxicology Program (2007)

Toxicology and Carcinogenesis Study of Benzene in Genetically Modified Haploinsufficient p16Ink4a/p19Arf Mice. Gavage Study. NTP GMM 8

U.S. Department of Health and Human Services; Public Health Service

Paxton, M.B. (1996)

Leukemia risk associated with benzene exposure in the pliofilm cohort

*Environmental Health Perspectives*, 104 Suppl 6, 1431-1436

Pyatt, D. (2004)

Benzene and hematopoietic malignancies

*Clinics in Occupational and Environmental Medicine*, 4, 529-555

Qu, Q.; Shore, R.; Li, G.; Jin, X.; Chen, L.C.; Cohen, B.; Melikian, A.A.; Eastmond, D.; Rappaport, S.M.; Yin, S.; Li, H.; Waidyanatha, S.; Li, Y.; Mu, R.; Zhang, X.; Li, K. (2002)

Hematological changes among Chinese workers with a broad range of benzene exposures

*American Journal of Industrial Medicine*, 42, 275-285

Qu, Q.; Shore, R.; Li, G.; Jin, X.; Chen, L.C.; Cohen, B.; Melikian, A.A.; Eastmond, D.; Rappaport, S.M.; Yin, S.; Li, H.; Waidyanatha, S.; Li, Y.; Mu, R.; Zhang, X.; Li, K. (2003)

Validation and Evaluation of Biomarkers in Workers Exposed to Benzene in China. HEI (Health Effects Institute), Research Report 115

online: <http://pubs.healtheffects.org/view.php?id=34>, Druckdatum: 2009

Rappaport, S.M.; Kim, S.; Lan, Q.; Li, G.; Vermeulen, R.; Waidyanatha, S.; Zhang, L.; Yin, S.; Smith, M.T.; Rothman, N. (2010)

Human benzene metabolism following occupational and environmental exposures

*Chemico-Biological Interactions*, 184, 189-195

Rappaport, S.M.; Kim, S.; Lan, Q.; Vermeulen, R.; Waidyanatha, S.; Zhang, L.; Li, G.; Yin, S.; Hayes, R.B.; Rothman, N.; Smith, M.T. (2009)

Evidence that humans metabolize benzene via two pathways

*Environmental Health Perspectives*, 117, 946-952

Rappaport, S.M.; Waidyanatha, S.; Yeowell-O'Connell, K.; Rothman, N.; Smith, M.T.; Zhang, L.; Qu, Q.; Shore, R.; Li, G.; Yin, S. (2005)

Protein adducts as biomarkers of human benzene metabolism

*Chemico-Biological Interactions*, 153-154, 103-109

Recio, L.; Bauer, A.; Faiola, B. (2005)

Use of genetically modified mouse models to assess pathways of benzene-induced bone marrow cytotoxicity and genotoxicity

*Chemico-Biological Interactions*, 153-154, 159-164

Richardson, D.B. (2008)

Temporal variation in the association between benzene and leukemia mortality

*Environmental Health Perspectives*, 116, 370-374

Richardson, D.B. (2009)

Multistage modeling of leukemia in benzene workers: a simple approach to fitting the 2-stage clonal expansion model

*American Journal of Epidemiology*, 169, 78-85

Rinsky, R.A.; Hornung, R.W.; Silver, S.R.; Tseng, C.Y. (2002)

Benzene exposure and hematopoietic mortality: A long-term epidemiologic risk assessment

*American Journal of Industrial Medicine*, 42, 474-480, zitiert nach Roller, 2006

Rinsky, R.A.; Smith, A.B.; Hornung, R.; Filloon, T.G.; Young, R.J.; Okun, A.H.; Landrigan, P.J. (1987)

Benzene and leukemia - an epidemiologic risk assessment

*New England Journal of Medicine*, 316, 1044-1050

Roller, M.; Akkan, Z.; Hassauer, M.; Kalberlah, F. (2006)

Risikoextrapolation vom Versuchstier auf den Menschen bei Kanzerogenen. Fb 1078 Bundesanstalt für Arbeitsschutz und Arbeitsmedizin Dortmund/Berlin/Dresden, Wirtschaftsverlag NW Bremerhaven

Rothman, N.; Smith, M.T.; Hayes, R.B.; Li, G.L.; Irons, R.D.; Dosemeci, M.; Haas, R.; Stillman, W.S.; Linet, M.; Xi, L.Q.; Bechtold, W.E.; Wiemels, J.; Campleman, S.; Zhang, L.; Quintana, P.J.; Titenko-Holland, N.; Wang, Y.Z.; Lu, W.; Kolachana, P.; Meyer, K.B.; Yin, S. (1996)

An epidemiologic study of early biologic effects of benzene in Chinese workers

*Environmental Health Perspectives*, 104, Suppl. 6, 1365-1370

Rothman, N.; Smith, M.T.; Hayes, R.B.; Traver, R.D.; Hoener, B.; Campleman, S.; Li, G.L.; Dosemeci, M.; Linet, M.; Zhang, L.; Xi, L.; Wacholder, S.; Lu, W.; Meyer, K.B.; Titenko-Holland, N.; Stewart, J.T.; Yin, S.; Ross, D. (1997)

Benzene poisoning, a risk factor for hematological malignancy, is associated with the *NQO1* <sup>609</sup>C→T mutation and rapid fractional excretion of chlorzoxazone

*Cancer Research*, 57, 2839-2842

Rushton, L.; Romaniuk, H. (1997)

A case-control study to investigate the risk of leukaemia associated with exposure to benzene in petroleum marketing and distribution workers in the United Kingdom

*Occupational and Environmental Medicine*, 54, 152-166

Sakai, A.; Sasaki, K.; Muramatsu, D.; Arai, S.; Endou, N.; Kuroda, S.; Hayashi, K.; Lim, Y.; Yamazaki, S.; Umeda, M.; Tanaka, N. (2010)

A Bhas 42 cell transformation assay on 98 chemicals: The characteristics and performance for the prediction of chemical carcinogenicity

*Mutation Research - Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 702, 100-122

Sarma, S.N.; Kim, Y.-J.; Song, M.; Ryu, J.-C. (2011)

Induction of apoptosis in human leukemia cells through the production of reactive oxygen species and activation of HMOX1 and Noxa by benzene, toluene, and o-xylene

*Toxicology*, 280, 109-117

Schettgen, T.; Ochsmann, E.; Alt, A.; Kraus, T. (2010)

A biomarker approach to estimate the daily intake of benzene in non-smoking and smoking individuals in Germany

*Journal of Exposure Science and Environmental Epidemiology*, 20, 427-433

Schnatter, A.R.; Armstrong, T.W.; Nicolich, M.J.; Thompson, F.S.; Katz, A.M.; Huebner, W.W.; Pearlman, E.D. (1996a)

Lymphohaematopoietic malignancies and quantitative estimates of exposure to benzene in Canadian petroleum distribution workers

*Occupational and Environmental Medicine*, 53, 773-781

Schnatter, A.R.; Armstrong, T.W.; Thompson, L.S.; Nicolich, M.J.; Katz, A.M.; Huebner, W.W.; Pearlman, E.D. (1996b)

The relationship between low-level benzene exposure and leukemia in Canadian petroleum distribution workers

*Environmental Health Perspectives*, 104, Suppl. 6, 1375-1379, zitiert nach Roller et al., 2006

Schnatter, A.R.; Kerzic, P.J.; Zhou, Y.; Chen, M.; Nicolich, M.J.; Lavelle, K.; Armstrong, T.W.; Bird, M.G.; Lin, L.; Fu, H.; Irons, R.D. (2010)

Peripheral blood effects in benzene-exposed workers

*Chemico-Biological Interactions*, 184, 174-181

Schnatter, A.R.; Rosamilia, K.; Wojcik, N.C. (2005)

Review of the literature on benzene exposure and leukemia subtypes

*Chemico-Biological Interactions*, 153-154, 9-21

Seniori Costantini, A.; Gorini, G.; Consonni, D.; Miligi, L.; Giovannetti, L.; Quinn, M. (2009)

Exposure to benzene and risk of breast cancer among shoe factory workers in Italy

*Tumori*, 95, 8-12

Seniori Costantini, A.; Quinn, M.; Consonni, D.; Zappa, M. (2003)

Exposure to benzene and risk of leukemia among shoe factory workers

*Scandinavian Journal of Work, Environment and Health*, 29, 51-59

Shen, M.; Lan, Q.; Zhang, L.; Chanock, S.; Li, G.; Vermeulen, R.; Rappaport, S.M.; Guo, W.; Hayes, R.B.; Linet, M.; Yin, S.; Yeager, M.; Welch, R.; Forrest, M.S.; Rothman, N.; Smith, M.T. (2006)

Polymorphisms in genes involved in DNA double-strand break repair pathway and susceptibility to benzene-induced hematotoxicity

*Carcinogenesis*, 27, 2083-2089

Shiga, T.; Suzuki, H.; Yamamoto, A.; Yamamoto, H.; Yamamoto, K. (2010)

Hydroquinone, a benzene metabolite, induces Hog1-dependent stress response signaling and causes aneuploidy in *Saccharomyces cerevisiae*

*Journal of Radiation Research*, 51, 405-415

Silver, S.R.; Rinsky, R.A.; Cooper, S.P.; Hornung, R.W.; Lai, D. (2002)

Effect of follow-up time on risk estimates: a longitudinal examination of the relative risks of leukemia and multiple myeloma in a rubber hydrochloride cohort

*American Journal of Industrial Medicine*, 42, 481-489

Smith, B.; Cadby, P.; DiNovi, M.; Setzer, R.W. (2010)

Application of the Margin of Exposure (MoE) approach to substances in food that are genotoxic and carcinogenic: Example: Benzene, CAS: 71-43-2

*Food and Chemical Toxicology*, 48, Suppl. 1, S49-S56

Smith, M.T. (2010)

Advances in understanding benzene health effects and susceptibility

*Annual Review of Public Health*, 31, 133-148

Smith, M.T.; Fanning, E.W. (1997)

Report on the workshop entitled: "Modeling chemically induced leukemia - implications for benzene risk assessment"

*Leukemia Research*, 21, 361-374

Smith, M.T.; Jones, R.M.; Smith, A.H. (2007)

Benzene exposure and risk of non-Hodgkin lymphoma

*Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention*, 16, 385-391

Snyder, R. (2007)

Benzene's toxicity: a consolidated short review of human and animal studies by HA Khan

*Human and Experimental Toxicology*, 26, 687-696

Sorahan, T.; Kinlen, L.J.; Doll, R. (2005)

Cancer risks in a historical UK cohort of benzene exposed workers

*Occupational and Environmental Medicine*, 62, 231-236

Srbová, J.; Teisinger, J.; Skramovsky, S. (1950)

Absorption and elimination of inhaled benzene in man

*Archives of Industrial Hygiene and Occupational Medicine*, 2, 1-8

Steffen, C.; Auclerc, M.F.; Auvrignon, A.; Baruchel, A.; Kebaili, K.; Lambilliotte, A.; Leverger, G.; Sommelet, D.; Vilmer, E.; Hémon, D.; Clavel, J. (2004)

Acute childhood leukaemia and environmental exposure to potential sources of benzene and other hydrocarbons. A case-control study  
*Occupational and Environmental Medicine*, 61, 773-778

Steinmaus, C.; Smith, A.H.; Jones, R.M.; Smith, M.T. (2008)

Meta-analysis of benzene exposure and non-Hodgkin lymphoma: biases could mask an important association  
*Occupational and Environmental Medicine*, 65, 371-378

Stokstad, E. (2004)

Toxicology. Factory study shows low levels of benzene reduce blood cell counts  
*Science*, 306, 1665

Sul, D.; Lee, E.; Lee, M.Y.; Oh, E.; Im, H.; Lee, J.; Jung, W.W. (2005)

DNA damage in lymphocytes of benzene exposed workers correlates with trans,trans-muconic acids and breath benzene levels  
*Mutation Research - Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 582, 61-70

Sun, P.; Qian, J.; Zhang, Z.; Wan, J.; Wu, F.; Jin, X.; Fan, W.; Lu, D.; Zhao, N.; Christiani, D.C.; Xia, Z. (2008)

Polymorphisms in phase I and phase II metabolism genes and risk of chronic benzene poisoning in a Chinese occupational population  
*Carcinogenesis*, 29, 2325-2329

Swaen, G.M.; Scheffers, T.; de Cock, J.; Slangen, J.; Drooge, H. (2005)

Leukemia risk in caprolactam workers exposed to benzene  
*Annals of Epidemiology*, 15, 21-28

Swaen, G.M.H.; Tsai, S.P.; Burns, C.G. (2010a)

Meta-analysis on benzene exposure and non-Hodgkin's lymphoma  
*Occupational and Environmental Medicine*, 67, 286-287

Swaen, G.M.H.; van Amelsvoort, L.; Twisk, J.J.; Verstraeten, E.; Slootweg, R.; Collins, J.J.; Burns, C.J. (2010b)

Low level occupational benzene exposure and hematological parameters  
*Chemico-Biological Interactions*, 184, 94-100

Tompa, A.; Jakab, M.G.; Major, J. (2005)

Risk management among benzene-exposed oil refinery workers  
*International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 208, 509-516



Tsai, S.P.; Fox, E.E.; Ransdell, J.D.; Wendt, J.K.; Waddell, L.C.; Donnelly, R.P. (2004)

A hematology surveillance study of petrochemical workers exposed to benzene  
*Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 40, 67-73

Uzma, N.; Kumar, B.S.; Hazari, M.A.H. (2010)

Exposure to benzene induces oxidative stress, alters the immune response and expression of p53 in gasoline filling workers  
*American Journal of Industrial Medicine*, 53, 1264-1270

Vermeulen, R.; Li, G.; Lan, O.; Dosemici, M.; Rappaport, S.M.; Bohong, X.; Smith, M.T.; Zhang, L.; Hayes R.B.; Linet, M.; Mu, R.; Wang, L.; Xu, J.; Yin, S.; Rothman N. (2004)

Detailed exposure assessment for a molecular epidemiology study of benzene in two shoe factories in China  
*Annals in occupational Hygiene*, 48, 105-116

Vlaanderen, J.; Lan, Q.; Kromhout, H.; Rothman, N.; Vermeulen, R. (2011)

Occupational benzene exposure and the risk of lymphoma subtypes: a meta-analysis of cohort studies incorporating three study quality dimensions  
*Environmental Health Perspectives*, 119, 159-167

Vlaanderen, J.; Portengen, L.; Rothman, N.; Lan, Q.; Kromhout, H.; Vermeulen, R. (2010)

Flexible meta-regression to assess the shape of the benzene leukemia exposure response curve  
*Environmental Health Perspectives*, 118, 526-532

Vlaanderen, J.; Vermeulen, R.; Heederik, D.; Kromhout, H. (2008)

Guidelines to evaluate human observational studies for quantitative risk assessment  
*Environmental Health Perspectives*, 116, 1700-1705

Wahrendorf, J.; Becher, H. (1990)

Quantitative Risikoabschätzung für ausgewählte Umweltkanzerogene. UBA-Berichte 1/1990  
Umweltbundesamt Berlin

Wan, J.; Winn, L.M. (2008)

In utero exposure to benzene increases embryonic c-Myb and Pim-1 protein levels in CD-1 mice  
*Toxicology and Applied Pharmacology*, 228, 326-333

Wan, J.X.; Zhang, Z.B.; Guan, J.R.; Cao, D.Z.; Ye, R.; Jin, X.P.; Xia, Z.L. (2006)

Genetic polymorphism of toxicant-metabolizing enzymes and prognosis of Chinese workers with chronic benzene poisoning

*Annals of the New York Academy of Sciences*, 1076, 129-136

Ward, J.B.; Ammenheuser, M.M.; Ramanujam, V.M.; Morris, D.L.; Whorton, E.B.; Legator, M.S. (1992)

The mutagenic effects of low level sub-acute inhalation exposure to benzene in CD-1 mice

*Mutation Research - Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 268, 49-57

Weisel, C.P. (2010)

Benzene exposure: An overview of monitoring methods and their findings

*Chemico-Biological Interactions*, 184, 58-66

Westphal, G.A.; Bünger, J.; Lichey, N.; Taeger, D.; Mönnich, A.; Hallier, E. (2009)

The benzene metabolite *para*-benzoquinone is genotoxic in human, phorbol-12-acetate-13-myristate induced, peripheral blood mononuclear cells at low concentrations

*Archives of Toxicology*, 83, 721-729

Wetmore, B.A.; Struve, M.F.; Gao, P.; Sharma, S.; Allison, N.; Roberts, K.C.; Letinski, D.J.; Nicolich, M.J.; Bird, M.G.; Dorman, D.C. (2008)

Genotoxicity of intermittent co-exposure to benzene and toluene in male CD-1 mice

*Chemico-Biological Interactions*, 173, 166-178

WHO, World Health Organization (2000)

Air Quality Guidelines for Europe

WHO Regional Publications European Series No. 91 2nd ed. Copenhagen

Whysner, J.; Reddy, M.V.; Ross, P.M.; Mohan, M.; Lax, E.A. (2004)

Genotoxicity of benzene and its metabolites

*Mutation Research - Reviews in Mutation Research*, 566, 99-130

Williams, P.R.; Sahmel, J.; Knutsen, J.; Spencer, J.; Bunge, A.L. (2011)

Dermal absorption of benzene in occupational settings: Estimating flux and applications for risk assessment

*Critical Reviews in Toxicology*, 41, 111-142

Wong, O. (1987a)

An industry wide mortality study of chemical workers occupationally exposed to benzene. I. General results

*British Journal of Industrial Medicine*, 44, 365-381, zitiert nach Roller et al., 2006

Wong, O. (1987b)

An industry wide mortality study of chemical workers occupationally exposed to benzene. II. Dose response analyses

*British Journal of Industrial Medicine*, 44, 382-395, zitiert nach Roller et al., 2006

Wong, O. (1995)

Risk of acute myeloid leukaemia and multiple myeloma in workers exposed to benzene

*Occupational and Environmental Medicine*, 52, 380-384

Wong, O.; Fu, H. (2005)

Exposure to benzene and non-Hodgkin lymphoma, an epidemiologic overview and an ongoing case-control study in Shanghai

*Chemico-Biological Interactions*, 153-154, 33-41

Wong, O.; Harris, F.; Armstrong, T.W.; Hua, F. (2010a)

A hospital-based case-control study of acute myeloid leukemia in Shanghai: analysis of environmental and occupational risk factors by subtypes of the WHO classification

*Chemico-Biological Interactions*, 184, 112-128

Wong, O.; Harris, F.; Wang, Y.; Fu, H. (2010b)

A hospital-based case-control study of Non-Hodgkin lymphoid neoplasms in Shanghai: analysis of personal characteristics, lifestyle, and environmental risk factors by subtypes of the WHO classification

*Journal of Occupational and Environmental Medicine*, 52, 39-53

Wong, O.; Harris, F.; Yiying, W.; Hua, F. (2009)

A hospital-based case-control study of acute myeloid leukemia in Shanghai: Analysis of personal characteristics, lifestyle and environmental risk factors by subtypes of the WHO classification

*Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 55, 340-352

Wong, O.; Raabe, G.K. (2000)

Non-Hodgkin's lymphoma and exposure to benzene in a multinational cohort of more than 308,000 petroleum workers, 1937 to 1996

*Journal of Occupational and Environmental Medicine*, 42, 554-568, zitiert nach Brüning und Henry, 2006

Xing, C.; Marchetti, F.; Li, G.; Weldon, R.H.; Kurtovich, E.; Young, S.; Schmid, T.E.; Zhang, L.; Rappaport, S.; Waidyanatha, S.; Wyrobek, A.J.; Eskenazi, B. (2010)

Benzene exposure near the US permissible limit is associated with sperm aneuploidy

*Environmental Health Perspectives*, 18, 833-839

Zhang, J.; Liang, G.Y.; Fan, K.H.; Yin, L.H.; Pu, Y.P. (2010)

Chronic Hematologic Toxicity with Inhalation Exposure to Low Concentration of Benzene in BALB/C Mice

In: 4th International Conference on Bioinformatics and Biomedical Engineering (iCBBE), 2010, 18 - 20 June 2010, Chengdu, China IEEE, 1-4

Zhang, L.; Lan, Q.; Guo, W.; Hubbard, A.E.; Li, G.; Rappaport, S.M.; McHale, C.M.; Shen, M.; Ji, Z.; Vermeulen, R.; Yin, S.; Rothman, N.; Smith, M.T. (2011)

Chromosome-wide aneuploidy study (CWAS) in workers exposed to an established leukemogen, benzene

*Carcinogenesis*, 32, 605-612

Zhang, L.; Lan, Q.; Guo, W.; Li, G.; Yang, W.; Hubbard, A.E.; Vermeulen, R.; Rappaport, S.M.; Yin, S.; Rothman, N.; Smith, M.T. (2005a)

Use of OctoChrome fluorescence in situ hybridization to detect specific aneuploidy among all 24 chromosomes in benzene-exposed workers

*Chemico-Biological Interactions*, 153-154, 117-122

Zhang, L.; Rothman, N.; Li, G.; Guo, W.; Yang, W.; Hubbard, A.E.; Hayes, R.B.Y.S.; Lu, W.; Smith, M.T. (2007)

Aberrations in chromosomes associated with lymphoma and therapy-related leukemia in benzene-exposed workers

*Environmental and Molecular Mutagenesis*, 48, 467-474

Zhang, L.; Rothman, N.; Wang, Y.; Hayes, R.B.; Bechtold, W.; Venkatesh, P.; Yin, S.; Dosemeci, M.; Li, G.; Lu, W.; Smith, M.T. (1996)

Interphase cytogenetics of workers exposed to benzene

*Environmental Health Perspectives*, 104, Suppl. 6, 1325-1329

Zhang, Z.; Wan, J.; Jin, X.; Jin, T.; Shen, H.; Lu, D.; Xia, Z. (2005b)

Genetic polymorphisms in XRCC1, APE1, ADPRT, XRCC2, and XRCC3 and risk of chronic benzene poisoning in a Chinese occupational population

*Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention*, 14, 2614-2619