

Forschung, Wissenschaft

Essay

Toxikologische Prüfung – Mythen und Fakten *

Robert Hess**

Universität Basel und Ciba-Geigy AG, CH-4002 Basel

Abstract

Toxicology provides the basic mechanism to evaluate the health hazards of chemicals to which man is exposed purposely or unknowingly to significant levels. Implicit is the role of toxicology in defining the limits and conditions of the safe use of chemical products. It is assumed that reliable experimental procedures are available to arrive at a definition of the probable risk and its magnitude. The evaluative and predictive process always relates to the biological effects observed, the nature of which may differ considerably between the various types of toxicity studies. It follows that a meaningful safety assessment necessitates the understanding of the interpretative value of the data on which it is based.

1. Einleitung

Die Bedeutung der Toxikologie hat sich in den letzten drei Jahrzehnten verändert und erweitert in dem Masse, wie dieses Fachgebiet in den Blickpunkt des allgemeinen Interesses gerückt ist. Die Aufgabe besteht nicht allein in der Untersuchung der schädlichen Wirkung, der «Toxizität», von chemischen Substanzen auf Lebewesen, sondern zusätzlich wird das Ziel verfolgt, die Bedingungen und Grenzen der Schadstoffwirkungen zu erkennen, um eine Risikoabschätzung vorzunehmen. Die Frage nach der Menge eines Stoffes, die als unbedenklich gelten kann, beinhaltet somit die Voraussage der wahrscheinlich zu erwartenden qualitativen und quantitativen Folgen der Einwirkungen dieser Substanz unter den praktischen Bedingungen ihrer Anwendung. Nicht nur das sichtbare «Vergiftungsbild» steht dabei im Vordergrund, sondern in zunehmendem Masse wird nach der Verträglichkeit von langfristig einwirkenden, relativ geringen Mengen von Fremdstoffen gefragt, nach möglicherweise erst spät auftretenden und schwer erkennbaren Schädigungen der Gesundheit des betroffenen Individuums oder seiner Nachkommenschaft.

* Vortrag gehalten am 10. Dezember 1981 vor der Basler Chemischen Gesellschaft

** Prof. R. Hess, Zentrale Funktion Gesundheits- und Umweltschutz, Ciba-Geigy AG, CH-4002 Basel

2. Die Beurteilung toxischer Wirkungen

Eine naive Art der Apperzeption toxischer Wirkungen besteht einerseits in der Annahme, dass es genügt, eine Serie von etablierten Testverfahren anzuwenden, um die Risikobeurteilung schlüssig durchführen zu können. Diese Vorstellung kommt der Bequemlichkeit entgegen und hat, da sie administrativ leicht zu handhaben ist, ihren Niederschlag in zahlreichen behördlichen Auflagen gefunden. Andererseits hat die moderne analytische Technologie dem weiteren Mythos Vorschub geleistet, komplexe Wirkungsspektren liessen sich anhand einfacher Modellvorstellungen, z. B. der makromolekularen Bindung elektrophiler Metabolite, zwanglos erklären. Weitere Hoffnungen gehen in die Voraussage von Konstitutions-Wirkungsbeziehungen mittels moderner mathematischer Korrelationsverfahren. Eine Arbeitsgruppe der IUPAC für «Quantitative Structure – Activity Relationship» (QSAR) hat sich speziell mit toxikologischen Daten beschäftigt. Sie kommt zum Schluss, dass die hochkomplexen Interaktionen, die im biologischen System möglich sind, es verbieten, selbst einen «einfachen» LD₅₀-Wert vorauszusagen. Mathematische Modelle können Tierversuche nicht ersetzen, und es wird eindringlich davor gewarnt, sich auf Korrelationen zu verlassen [1].

Die klassischen Verfahren des akuten, subchronischen und chronischen Tierversuchs, zumeist an kleinen Laboratoriumsnagern, werden bei der Untersuchung von Medikamenten, Arbeitsstoffen und Nahrungsmittelzusätzen gleichartig angewendet. Die daraus gewonnenen Erkenntnisse vermögen in der Regel Vorhersagen über die mögliche Gefährdung des Menschen zu machen. Was bei der Beurteilung der Resultate im einzelnen jedoch oft zu wenig in Rechnung gestellt wird, sind die Grenzen der Interpretationsmöglichkeiten und der prädiktiven Aussage des Tierexperimentes.

Die meisten chemischen Substanzen, seien es Naturstoffe, synthetische Produkte, Lösungsmittel oder Gase, können, als biologisch aktive Prinzipien, als Schadstoffe in Erscheinung treten. Ob dies geschieht, hängt ganz wesentlich von den Bedingungen der Exposition ab und

vom Ausmass der Bioverfügbarkeit in den Körperflüssigkeiten, Organen und Geweben des betroffenen Organismus. Die für den Menschen relevante Exposition lässt sich im Tierversuch einigermaßen simulieren; die Bio-transformation bzw. die Toxikokinetik hingegen kann erhebliche Speziesunterschiede aufweisen. Steroidfreie Antiphlogistica beispielsweise können, als wesentliche Nebenwirkung, zu gastrointestinalen Ulzerationen führen. Diese Art von Toxizität tritt in übersteigertem Ausmass bei Tierarten auf, die, im Gegensatz zum Menschen, der die renale Exkretion bevorzugt, aktive Wirksubstanz oder Metabolite vorrangig mit der Galle ausscheiden [2].

Das in der Toxikologie grundlegende Experiment ist dazu bestimmt, einen unschädlichen von einem schädlichen Dosisbereich zu unterscheiden und innerhalb dieser Toxizitätsgrenzen die Art der schädigenden Wirkung darzulegen. Die mit ansteigender Dosis sich einstellende toxische Wirkung ist jedoch ein statistisches Phänomen und keine fixe Grösse. Die dem System inhärente Variabilität verlangt die Anwendung eines mathematischen Probabilitätsmodells mit Angabe der Vertrauensgrenzen [3]. Auf diesem Algorithmus beruht die für den klassifizierenden Vergleich der relativen Giftigkeit von Industriechemikalien gebräuchliche Bestimmung der akuten Toxizität mit der Angabe der Letaldosis als LD_{50} oder LC_{50} . Die Bedeutung der akuten Toxizitätsprüfung wird heute von verschiedener Seite relativiert [4]. Man sollte sich jedoch vor Augen halten, dass der Umfang des Versuches einerseits vom gewählten Endpunkt abhängt (der verschiedene toxische Wirkungen und nicht notwendigerweise nur die Mortalität betrifft) und andererseits davon, mit welcher Genauigkeit das Resultat statistisch gesichert sein soll. Auf die akute Prüfung als orientierende und vergleichende Massnahme oder als «hazard-test» kann jedenfalls nicht verzichtet werden [5].

Die weitere Bedeutung gewinnt die akute Toxizität als Basis für den Nachweis einer additiven oder kumulativen Wirkung bei wiederholter Gabe einer Substanz im subchronischen Versuch. In traditioneller Weise wird in dieser Versuchsanordnung die Frage nach der ineffektiven, der minimaleffektiven und der toxischen Dosis gestellt. Die generelle Schwierigkeit mit diesem Drei-Stufenmodell besteht in der Unmöglichkeit mit Datengruppen aus lediglich 3 Dosissschritten eine obere ineffektive Grenz-dosis abzusichern. Deshalb haftet dem «no effect level», dem u.a. bei der Festlegung der duldbaren Höchstmengen von Lebensmittelzusätzen [6] oder von gesundheitsschädlichen Arbeitsstoffen eine durchaus dezisive Bedeutung zukommt, mitunter eine Zufälligkeit an, die im wesentlichen eine Funktion der Variabilität der zum Vergleich herangezogenen Kontrolle darstellt. Die statistische Unzulänglichkeit des Modells wird in der Regel mit einem arbiträren Sicherheitsfaktor überbrückt. Dieses Verfahren ist beschränkt auf systemische, nicht-stochastische Wirkungen, die als toxikodynamische Effekte erfassbar sind und für die eine Schwellendosis postuliert werden kann.

3. Spezifische Toxizität

Eine eingehendere Betrachtungsweise bezüglich der Humanrelevanz kommt Schadstoffwirkungen zu, die eine Organ-bezogene Toxizität aufweisen, Immunmechanismen betreffen, oder die phasenspezifisch ablaufen. Auf das Schädigungsmuster von spezifischen Neuropathien, z. B. nach Einwirkung von Tri-o-Kresylphosphat, *n*-Hexan oder Hexachlorophen, kann aus dem Tierversuch verlässlich gefolgert werden [7].

Ein Beispiel im zweiten Fall stellt die Prüfung auf Kontaktallergenität an der Meerschweinchenhaut dar. Durch Optimierung der verzögerten Immunantwort mit Hilfe der Adjuvansmethode gelingt es selbst sogenannte schwache Allergene im Rahmen einer dermalen Prüfung schlüssig nachzuweisen. Der Optimierungstest [8] erfasst Allergene, die in der Klinik in einer Häufigkeit von ca. 1% zu Krankheitserscheinungen führen. Der prädiktive Wert des Tierversuches ist in diesem Fall höher zu veranschlagen als die übliche klinische Reihenuntersuchung [9].

Phasenspezifische Effekte finden wir in der Teratogenese. Zell-schädigende Einwirkungen über den mütterlichen Organismus auf das hochdynamische System der embryonalen Entwicklung können in die rasch ablaufenden kritischen Stadien der Organogenese eingreifen und zu Störungen der entsprechenden Organanlagen und zu Missbildungen führen. Das sprechendste Beispiel für die Existenz derartiger Zusammenhänge ist die Thalidomid-Katastrophe von 1961, die für sich in Anspruch nehmen kann, das neue Zeitalter der Toxikologie schlagartig eingeleitet zu haben. Nicht nur war damals das Auftreten eines Human-Teratogens ein gänzlich unerwartetes Ereignis, auch ist die teratogene Wirkung von Thalidomid in ihrem Mechanismus bis heute ungeklärt. Im Gegensatz zu den Nagetieren konnten beim Kaninchen mit Thalidomid nach oraler Gabe embryotoxische *und* teratogene (missbildungserzeugende) Effekte ausgelöst werden; neben dem Racemat schien nach ersten Untersuchungen das *d*-Isomere eine fruchtschädigende Wirkung zu besitzen [10]. Nach Zerlegung in die Enantiomeren erwies sich neuerdings S(-)-Thalidomid nach intraperitonealer Injektion beim Nager als embryotoxisch [11]. Andererseits weisen neue, systematische Untersuchungen mit Analogon, die sich vom Thalidomid im Phthalimid- oder 2,6-Dioxopiperidin-Teil des Moleküls unterscheiden, auf die Bedeutung des Phthalimid- oder Phthalimidin-Anteils für die Teratogenität hin [12]. Die Abhängigkeit der Wirkung von der molekularen Struktur ist somit eindeutig. Im Gegensatz zum Thalidomid selbst, das sich nach systemischer Verabreichung über das Muttertier im Keimling anzureichern scheint, erwiesen sich seine Metaboliten in der empfindlichen Spezies, dem Kaninchen, als nicht teratogen [13]. In weiterem Sinne ist die Abklärung des Mechanismus der Thalidomid-Wirkung [14], nach nahezu 20jährigen Bemühungen, über das Stadium der unbewiesenen Hypothese nicht hinausgekommen. Dem Mythos muss somit entgegengetreten

werden, eine embryopathische Wirkung liesse sich in behelfsmässigen «versuchstierfreien» Systemen simulieren. Das Beispiel von Thalidomid, dem klassischen Teratogen, zeigt deutlich, dass nur die Prüfung am intakten Versuchstier geeignet ist, die teratogene Wirkung nachzuweisen.

Der prädiktive Wert des teratologischen Tierversuchs wurde 1974 von einer Kommission der Schweizerischen Akademie der Medizinischen Wissenschaften bestätigt [15]. Um die Relevanz der experimentellen Ergebnisse für den Menschen schlüssig beurteilen zu können, sind jedoch klinisch-epidemiologische Untersuchungen notwendig; so erwies sich die im Tierversuch an den gebräuchlichen Spezies Ratte, Maus und Kaninchen mit Aminopterin gefundene teratogene Wirkung als relevant für den Menschen, diejenige von Salicylaten und Glucocorticoiden jedoch nicht.

4. Mutagene Wirkungen

Neben derartigen exogenen Einflüssen sind Veränderungen des Erbgutes für kongenitale Erkrankungen von ursächlicher Bedeutung. So finden sich Chromosomenveränderungen bei 0.5% der lebensfähigen Neugeborenen und bei mehr als 50% der spontan abortierten Schwangerschaften. Seit dem Nachweis der mutagenen Wirkung alkylierender Substanzen durch Auerbach und Robson [16], ist mit der Mutagenitätsprüfung die «genetische Toxikologie» als neues Element in die Betrachtung eingetreten. Mutationen, d. h. ereignishaft Änderungen der Erbinformationen der Gene, können an Keimzellen oder an somatischen Zellen chemisch induziert werden. Im letzteren Fall bestehen Beziehungen zur Kanzerogenese und es sind die Korrelationen Mutagenese-Kanzerogenese, die den Resultaten der Mutagenitätsprüfung eine besonderes Gewicht verleihen:

Die Mutationshypothese der Tumorentstehung (wonach kanzerogene Einflüsse imstande sind, Mutationen in wachstumsregulierenden Anteilen des Genoms auszulösen) hat heute jeden mythischen Anstrich verloren. Mutationen haben die gleichen Kennzeichen einer irreversiblen und hereditär übertragbaren Zellveränderung wie die neoplastischen Umwandlungen; an der Beziehung zwischen den beiden Phänomenen kann kein Zweifel bestehen. Dennoch muss die Prüfung auf ein mutagenes Potential von der Kanzerogenität getrennt werden.

Es stehen zum Zwecke der Mutagenitätsprüfung derzeit eine Reihe von validierten Testanordnungen zur Verfügung, die mit verschiedenen Organismen, Aktivierungssystemen und Endpunkten arbeiten, und die es erlauben, die wichtigsten Typen von Genmutationen, chromosomalen Schädigungen und numerischen Genomveränderungen auseinanderzuhalten. [17] Zum Nachweis von Genmutationen ist der bakterielle Screening-Test von Ames [18] am gebräuchlichsten, in dem speziell mutierte Stämme von *Salmonella typhi-murium* einer Substanz mit und ohne Einwirkung eines metabolisierenden Systems (Leberhomogenat) ausgesetzt und auf die Entste-

hung von Rückwärtsmutanten geprüft werden. Aus der Erfahrung heraus, dass zahlreiche erwiesenermassen karzinogene Substanzen Mutagene sein können, hat Ames sein bakterielles System als Indikator-test für DNS-Interaktion aufgefasst und als Kurzzeit-Karzinogentest propagiert. Ein Vergleich der Resultate von mikrobiellen Mutagenitätstests mit Ergebnissen aus Langzeit-Kanzerogenitätsprüfungen an Nagern zeigt nach 8 Jahren Erfahrungen mit dem Ames-Test, dass bakterielle Systeme imstande sein können, mit mehr als 80% der geprüften Kanzerogene positive Resultate zu liefern. Das Ausmass der Übereinstimmung ist jedoch entscheidend von der chemischen Substanzklasse abhängig [19].

Für ausgewählte Substanzen ist die Übereinstimmung derart, dass Meselson und Russell [20] versucht haben, aus einer Relation zwischen der zur Tumorentstehung im Langzeitversuch erforderlichen Dosis und der Konzentration, die imstande ist *Salmonella-Revertanten in vitro* zu erzeugen, ein Mass für das kanzerogene Potential abzuleiten.

Einige Kanzerogene sind dagegen nur mittels spezieller Methodik in bestimmten bakteriellen Systemen als Mutagene zu erkennen [21]. Beispiele sind aromatische Amine und polyzyklische Kohlenwasserstoffe. Weitere Kanzerogene sind in den etablierten (bakteriellen) Mutagenitätstests inaktiv. Beispiele sind: Aminotriazol, 3-wertige Arsenverbindungen, Asbest, Benzol, Beryllium, Cadmium, Blei, Nickel und Salze, Tetrachlorkohlenstoff, Diethylstilbestrol.

Andererseits gibt es Substanzen, die durchaus mutagene Eigenschaften im mikrobiellen System zeigen, jedoch nicht oder nicht schlüssig als Kanzerogene ausgewiesen sind. Als Beispiele seien genannt: Aminoacridine, bestimmte Epoxydharze, Epichlorhydrin, Dichlorvos, Hydroxylamin und Nitrit. Zur Erklärung für solche Unterschiede werden die besonderen Bedingungen der Interaktion mit bakterieller DNS angeführt oder eine effiziente Inaktivierung der Substanz im Säugerorganismus angenommen.

Es wäre sicher ein entscheidender Fehler, bei der Prüfung von Chemikalien auf mutagene und potentiell kanzerogene Eigenschaften allein auf die heute verfügbaren und bestimmte Substanzklassen bevorzugenden Prüfsysteme für Genmutationen abzustellen. Weitere Entwicklungen auf diesen Gebieten sind mit Bestimmtheit zu erwarten.

5. Prolegomena zur chemischen Kanzerogenese

Aus der vorliegenden Sachlage heraus muss man die chemische Kanzerogenese differenzierter betrachten als dies aus der Sicht eines behelfsmässigen bakteriellen Systems möglich ist. Die Kanzerogenese unterscheidet sich wesentlich von andersartigen toxischen Auswirkungen darin, dass sie auf einer Reihe von hochspezifischen Zellveränderungen beruht, die mit Latenzperioden schrittweise aufeinander folgen. Somit können der Krebsentstehung stochastische Prozesse zugrunde gelegt werden [22]. Dabei wird angenommen, dass eine Zelle

eine Vielzahl von Treffern («multi-hits») erhalten muss, um sich nach und nach («multi-stage») in eine Tumorzelle zu transformieren. Die Trefferwahrscheinlichkeit ist im einfachsten Fall proportional zur Dosis. Das Stadium der Tumorentstehung, das als Folge der Auslösung einer Mutation zu derartigen Zustandsänderungen Anlass gibt, beruht auf der Interaktion einer reaktiven Molekül-Spezies mit «kritischen» Biopolymeren, vorwiegend mit der DNS [23].

Die kovalente Bindung einer chemisch reaktiven Substanz oder von elektrophilen Metaboliten an die DNS im Organismus kann für mutagen wirkende Karzinogene in zunehmend zahlreichen Fällen angenommen werden [24]. Allerdings ist die Gesamtmenge der an die DNS gebundenen Substanz nicht notwendigerweise mit der mutagenen, bzw. kanzerogenen Wirkung korreliert. Von mehreren möglichen Reaktionsprodukten ist eventuell nur eines für die genotoxische Wirkung massgebend. Dies gilt besonders für alkylierende Substanzen. Das hauptsächliche DNS-Alkylierungsprodukt ist N-7-Methylguanin; für einen kanzerogenen Effekt ist jedoch eher O-6-Alkylguanin als wesentlich anzusehen, das DNS-Fehlkodierung zur Folge hat [25].

Es bestehen Mechanismen nicht nur für die metabolische Aktivierung vom Prokarzinogen zum «ultimaten» Karzinogen, sondern auch für die Desaktivierung, die zur Entgiftung und/oder Ausscheidung eines Schadstoffes führen. Die Reaktionsfolgen sind erst für wenige Mutagene, bzw. Kanzerogene, z. B. Benz(a)pyren und 2-Acetylaminofluoren, im Detail untersucht worden [26].

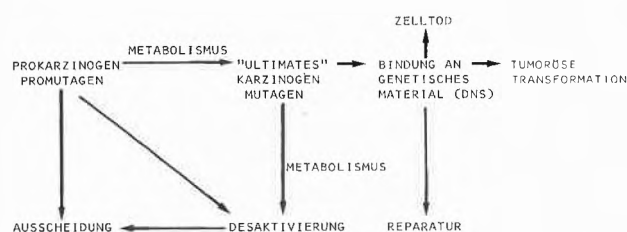


Abb. 1: Schematische Darstellung der Reaktionsfolgen bei metabolischer Aktivierung und Desaktivierung im Organismus.

Durch kompetitive Prozesse (Abb. 1) wird letztlich die steady-state Konzentration des «ultimalen» Produktes bestimmt, die dem Ausmass der elektrophilen Interaktion mit der DNS proportional ist. Dieses Ausmass braucht keineswegs in einem konstanten Verhältnis zu der verabreichten Dosis des «Promutagens» oder »Prokarzinogens» zu stehen. So können Desaktivierungsvorgänge, z. B. die Glutathion-Bindung, durch hohe Konzentrationen eines systemisch zugeführten, reaktiven Fremdstoffes überlastet werden.

Umgekehrt sind die Fremdstoff-metabolisierenden Enzyme im Sinne adaptiver Reaktionen induzierbar. Dies gilt in besonderem Masse für die an Zellmembranen gebundenen oxydierenden Systeme der Cytochrom P-450-abhängigen Monooxygenasen. Das Ausmass der Enzyminduktion ist von der induzierenden Substanz

abhängig; das hervorgerufene Enzymmuster wird hingegen durch die genetische Konstellation bestimmt [27, 28]. Ähnliches gilt für desaktivierende Systeme, wie die reduktive Epoxydhydrolase. Der Blick auf derartige, im lebenden Organismus äusserst komplexe Prozesse lässt erkennen, dass relativ simple in vitro-Systeme, wie z. B. der Ames-Test, die Situationen, die sich in vivo ergeben, nur ganz annähernd simulieren können. Mit teilweise stark karzinogenen Benz(a)anthracenen, beispielsweise, ist es auch mit mancherlei Modifikationen der aktivierenden Systeme nicht gelungen, eine gute Korrelation zwischen Mutagenität im Salmonellentest und Karzinogenität zu erhalten [29].

Von Bedeutung als bestimmende Faktoren einer genotoxischen Wirkung sind weiterhin die enzymatischen DNS-Reparaturmechanismen anzusehen. Genetische Defekte der Reparatur einer UV-induzierten DNS-Schädigung beim Erbleiden des Xeroderma pigmentosum führen zu hoher Tumoranfälligkeit [30]. Normalerweise vorkommende Aktivitäts-Unterschiede der Reparaturkapazität in den verschiedenen Geweben können die Organspezifität von Kanzerogenen teilweise erklären. So beruht die Anfälligkeit des Nervengewebes gegenüber der karzinogenen Wirkung von Nitrosoharnstoff auf dem Fehlen der in den anderen Geweben vorhandenen O-6-Alkylguanin-Exzision [31, 32].

Neben der Möglichkeit, dass gleichzeitig mit einem genotoxischen Kanzerogen einwirkende Faktoren, sogenannte Cokarzinogene, die Tumorbildung fördern können, ist die gestaffelt wirkende Tumorpromotion ein weiteres, modifizierendes Prinzip, das zunehmende Beachtung findet. Entsprechend dem von *Berenblum* vor mehr als 30 Jahren [33] ausgearbeiteten 2-Stufenmodell der Kanzerogenese lassen sich initiiierende von promovierenden Faktoren unterscheiden. Promoter sind unspezifisch wachstumsfördernde, meist mitogene Substanzen, die im Gegensatz zu initiiierenden und «kompletten» Kanzerogenen keine DNS-Interaktion zeigen und keine mutagenen Eigenschaften besitzen. Ihre Wirkung ist reversibel und streng dosis- und zeitabhängig [34]. Beispiele sind Phorbolster, freie Gallensäuren, Steroidhormone, Phenobarbital, halogenierte Kohlenwasserstoffe und andere Substanzen, die Fremdstoff-metabolisierende Enzyme induzieren. – Experimentell hat das Promotionsmodell als Kronbeispiel eines nicht-genetischen oder epigenetischen Mechanismus vor allem für die Entstehungsweise von Haut- und Lebertumoren beim Nagetier Bedeutung erlangt und wird für das Studium transformativer und proliferativer Vorgänge eingesetzt [35].

Ein epigenetischer Wirkungsmechanismus bedarf einer genügend hohen (Schwellen-)Dosis und ist mit Bezug auf eine Risikobeurteilung anders einzustufen, als ein genotoxisch wirkendes Prinzip.

6. Beurteilung kanzerogener Risiken

Aufgrund derartiger Überlegungen lassen sich die Kanzerogene ätiologisch in zwei Hauptgruppen – genotoxi-

sche und epigenetische – einteilen [36]. Mit Bezug auf die Risikoabschätzung für den Menschen hilft jedoch die Betrachtung derartiger ursächlicher Mechanismen zunächst wenig. Die gesamthafte kanzerogene Wirkung einer Substanz wird prinzipiell im Langzeitversuch am Nager nachgewiesen, dessen prädiktiver Wert insofern begründet ist, als sich (mit der gegenwärtigen Ausnahme von Asbeststaub und Arsenitrioxid) mit diesem Modell alle 18 erwiesenermassen und die 18 weiteren, wahrscheinlich human-karzinogenen Stoffe haben nachweisen lassen [37].

Der praktische Nutzen des Langzeitversuches an Nagetieren scheint demnach unbestritten [38]. Es ist deshalb erstaunlich, dass man sich über die wirkliche Relevanz des Tiermodells lange keine klaren Vorstellungen gemacht hat. Dies ist um so bedeutsamer, als in den aufwendigen, besonders in den USA durchgeführten Prüfprogrammen, je nach Stoffklasse und den angewandten Kriterien, sich immer mehr positive Ergebnisse einstellen. Es ist wohl nicht unrealistisch eine Inzidenz von nahezu 50% «kanzerogene Signale» aus derzeit laufenden Langzeitversuchen zu erwarten und anzunehmen, ihre Beurteilung erfolge unbeschrieben aufgrund der Mythologie, die vor 20 Jahren etabliert wurde. Nach diesen Vorstellungen ist die (nicht-standardisierte) Tumorzinzenz allein massgebend, die Resultate aus dem Tierversuch sind direkt auf den Menschen übertragbar, die Wirkung hoher Dosen im Tierversuch entspricht der Wirkung niedriger Dosen im praktisch relevanten Expositionsbereich, und Schwellenwerte sind abzulehnen. Sämtliche dieser Ansichten müssen nach den heutigen Kenntnissen revidiert werden.

Wie lassen sich aber die Ergebnisse der vorhandenen Untersuchungen für die realistische Abschätzung eines Krebsrisikos verwenden? Der bequemste Weg, eine Einstufung nach arbiträren Kriterien, wurde für krebserzeugende Arbeitsstoffe verschiedentlich gewählt, z. B. in der Verordnung über gefährliche Arbeitsstoffe in der BRD, die 3 Gefahrengruppen vorsieht und technische Richtkonzentrationen angibt. Ein Klassierungsschema dieser Art bietet eine erste regulative Handhabe für Stoffe, die ermittelt und in ihrer Anwendung kontrolliert werden können. In anderen Fällen, beispielsweise bei natürlich vorkommenden Mutagenen und Karzinogenen, exemplifiziert mit den aktivierten Glycosiden der Nahrung, z. B. Quercetin [39], sind derartige Einteilungsschemata nicht brauchbar. Bemühungen um eine generelle, wissenschaftlich haltbare Definition des kanzerogenen Potentials, das Unterschiede in Grössenordnungen bis zu 1:1 Million umfassen kann, war bislang kein Erfolg beschieden. Darunter fallen Vorschläge, die von der Berechnung einer einfachen Wahrscheinlichkeitsverteilung [40] reichen, bis zum «scoring» anhand einer Notengebung, hergeleitet aus einer arbiträren Kriterienliste mit entsprechender Punktzahl [41].

Es verbleibt jedoch die Möglichkeit, aufgrund der im Langzeitversuch *experimentell* bestimmten Dosis-Wirkungsbeziehungen in diejenigen Inzidenzbereiche zu

extrapolieren, die mehrere Grössenordnungen tiefer liegen und sich der experimentellen Feststellung entziehen. Dazu werden mathematische Funktionen (Inzidenz als Funktion der Dosis) herangezogen, um Punkte im niederen Dosisbereich zu simulieren [42]. Diese Art der Betrachtung scheint derzeit die beste Möglichkeit zu bieten, die experimentellen Daten einer quantitativen Risikoabschätzung zuzuführen. Das Ziel ist dabei nicht die Angabe von Toleranz-Werten, sondern die Bestimmung eines so gut wie unbedenklichen («virtually safe») Dosisbereiches, der dann in Beziehung zur aktuellen, gemessenen Exposition gesetzt werden kann. Ein zusätzliches Tumorrisiko von 10^{-6} wird von der US Food and Drug Administration als akzeptabel betrachtet.

Modelle dieser Art verzichten bewusst auf die Betrachtung eines Schwellenwertes [43]. Aufgrund der experimentell erarbeiteten Dosis-Wirkungsbeziehung und zusätzlicher Daten (genetischer oder epigenetischer Wirkungsmechanismus) ist man berechtigt, ein konservatives, stochastisches Modell (one-hit, multi-hit) oder ein statistisches Verfahren (Probit-Analyse) anzuwenden. Die Funktionen können dabei mehrere Zehnerpotenzen auseinanderliegen bei gleichartigem «fit» der experimentellen Daten. Dass derartige Berechnungen nicht nur theoretisches Interesse beanspruchen, zeigen die Beispiele von Vinylchlorid und Aflatoxin. In beiden Fällen deckt sich die mit einem Probitverfahren vorgenommene Extrapolation der tierexperimentellen Daten mit den epidemiologisch beobachteten Inzidenzen bei exponierten Menschen [44, 45].

7. Paralipomena zur Bedeutung der Toxikologie

Die chemische Kanzerogenese, die als das scheinbar bedrohlichste Phänomen die derzeitige Toxikologie weitgehend beherrscht, bedarf noch einer weitergehenden Betrachtung. Nach objektiven Kriterien entbehrt die einseitig ausgerufene Proklamation einer drohenden Krebsepidemie als Folge des Wachstums der chemischen Industrie *jeder* Grundlage. Mit Ausnahme des weitgehend auf die Rauchergewohnheit zurückzuführenden Bronchialkarzinoms ist in westlichen Ländern keine Zunahme der nach Alter und Geschlecht standardisierten Krebsinzidenz während der letzten Dezennien festzustellen [46].

Über den wahren Anteil von Industriechemikalien an der Entstehung menschlicher Tumoren bestehen verschiedene Mutmassungen. Gegenüber anderen Ursachen, einschliesslich der kanzerogenen Naturstoffe und Nahrungsbestandteile, dürfte der Anteil von Industrieprodukten, mit der früheren Ausnahme einzelner hoch-exponierter Gruppen, verschwindend klein sein. Als Erfolg des grossangelegten Erkennungsdienstes auf den Gebieten der Analytik, der Toxikologie und Epidemiologie sowie mit der Einführung geeigneter Präventivmassnahmen, dürfte der auch geringe Anteil sich noch weiter vermindern.

Zum Schluss bleibt die Feststellung, dass sich die Toxiko-

logie aus einem ursprünglich anthropomorphen Mystizismus (man hat die bestehenden experimentellen Modelle etwas unbedeutend human-medizinisch relevanten Parametern untergeordnet), über empirische Erfahrungen, sich eben beginnt zu einer respektablen Wissenschaft zu entwickeln. Die Hilfe dazu bezieht sie vor allem aus der analytischen Chemie, der Zell- und Molekularbiologie, der Genetik und der Statistik.

Aufgefordert, bindende prädiktive Aussagen mit ihren behelfsmässigen Daten zu machen, gerät die Toxikologie jedoch unvermeidlich in das Umfeld des Wunschdenkens oder der lähmenden Regulative. Ihrem essentiellen Anspruch auf eine wissenschaftlich vertretbare Arbeitsweise wird im Extremfall mit dem Verlangen nach «versuchstierfreier Forschung» entgegengetreten, oder mit ungeeigneten Vorschriften über die anzuwendende Methodik wird ihr wesentlicher Grund entzogen. Jede Risikoanalyse ist soviel wert wie die Information, auf der sie basiert; die gewissenhafte Abschätzung der gesundheitlichen Gefährdung bedarf der möglichst vollständigen Abklärung der toxischen Wirkung in den dazu am besten geeigneten Versuchsanordnungen.

Literatur

- 1 R. F. Rekker: Trends in Pharmacological Sciences 383 (1980).
- 2 R. Hess: AMI Berichte, Institut für Arzneimittel des Bundesgesundheitsamtes, 1, 136 (1980).
- 3 J. T. Litchfield, Jr. and F. Wilcoxon: J. Pharmacol. exp. Therap. 96, 99 (1949).
- 4 G. Zbinden and M. Flury-Roversi: Arch. Toxicol. 47, 77 (1981).
- 5 A. N. Rowan: Pharmaceutical Technology 65 (1981).
- 6 G. Vettorazzi: Handbook of International Food Regulatory Toxicology, Vol. 1: Evaluations. MTP Press, Lancaster, England, 1980.
- 7 G. Krinke, P. Thomann and R. Hess: In Animal Models of Neurologic Disease, Eds. F. Clifford Rose and P. O. Rohan, Pitman Med. Ltd., Tunbridge Wells, England 110 (1980).
- 8 Th. Maurer, E. G. Weirich and R. Hess: Toxicology 15, 163 (1980).
- 9 F. N. Marzulli and H. I. Maibach (Eds.): Dermatotoxicology and Pharmacology, Hemisphere Publ. Co., 1977.
- 10 R. L. Smith, S. Fabro, H. Schumacher and R. T. Williams: In Embryopathic activity of drugs, Ed. J. M. Robson et al., J. & A. Churchill, London 194 (1965).
- 11 G. Blaschke, H. P. Kraft, K. Fickentscher und F. Köhler: Arzneim.-Forsch./Drug Res. 29, 1640 (1979).
- 12 F.-Ch. Helm, E. Frankus, E. Friderichs, I. Graudums und L. Flohé: Arzneim.-Forsch./Drug Res. 31, 941 (1981).
- 13 H. Keberle, J. W. Faigle, H. Fritz, P. Loustalot, F. Knüsel and K. Schmid: In Embryopathic activity of drugs, Ed. J. M. Robson et al., J. & A. Churchill, London 210 (1965).
- 14 H. Koch: Sci. Pharm. 49, 67 (1981).
- 15 Bull. Schweiz. Akad. med. Wiss. 30 (1974) Supplementum.
- 16 Chr. Auerbach and J. M. Robson: Proc. roy. Soc., Edinb. B 62, 271 (1947).
- 17 Department of Health and Social Security. Report on Health and Social Subjects No. 24: Guidelines for the testing of chemicals for mutagenicity, HMSO, London, 1981.
- 18 B. N. Ames, J. McCann and E. Yamasaki: Mutation Res. 31, 347 (1975).
- 19 Letter to the Editor: Cancer Res. 41, 4192 (1981).
- 20 M. Meselson and K. Russell: In Origins of Human Cancer, Book C, Ed. H. H. Hiatt et al., Cold Spring Harbor Laboratory 1473 (1977).
- 21 G. R. Mohn: Mutation Res. 87, 191 (1981).
- 22 E. Scherrer and P. Emmelot: In Carcinogens: Identification and Mechanisms of Action, Ed. A. C. Griffin and C. R. Shaw, Raven Press, New York 337 (1979).
- 23 E. C. Miller: Cancer Res. 38, 1479 (1978).
- 24 W. K. Lutz: Mutation Res. 65, 289 (1979).
- 25 P. J. Abbott and R. Saffhill: Brit. J. Cancer 36, 404 (1977).
- 26 T. M. Guenther and F. Oesch: Trends in Pharmacological Sciences 129 (1981).
- 27 D. W. Nebert: Mol. Cell Biochem. 27, 27 (1979).
- 28 D. W. Nebert, H. J. Eisen, M. Negishi, M. A. Lang and L. M. Hjelmeland: Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol. 21, 431 (1981).
- 29 H. Glatt, K. Vogel, P. Bentley, P. Sims and F. Oesch: Carcinogenesis 2, 813 (1981).
- 30 M. Swift and C. Chase: J. Natl. Cancer Inst. 62, 1415 (1979).
- 31 R. Goth and M. F. Rajewsky: Proc. Natl. Acad. Sci. USA 71, 639 (1974).
- 32 P. Kleihues and G. P. Margison: J. Natl. Cancer Inst. 53, 1839 (1974).
- 33 I. Berenblum: Adv. Cancer Res. 2, 129 (1954).
- 34 I. B. Weinstein, L.-S. Lee, P. B. Fisher, A. Mufson and H. Yamasaki: In Environmental Carcinogenesis, Eds. P. Emmelot and E. Kriek, Elsevier/North Holland, Biomedical Press, Amsterdam 265 (1979).
- 35 R. Schulte-Hermann, G. Ohde, J. Schuppler and I. Timmermann-Trosiener: Cancer Res. 41, 2556 (1981).
- 36 J. H. Weisburger and G. M. Williams: Science 214, 401 (1981).
- 37 Report of an IARC Working Group: Cancer Res. 40, 1 (1980).
- 38 L. Tomatis: Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol. 19, 511 (1979).
- 39 G. Tamura, C. Gold, A. Ferro-Luzzi and B. N. Ames: Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77, 4961 (1980).
- 40 E. Crouch and R. Wilson: Risk Analysis 1, 47 (1981).
- 41 R. A. Squire: Science 214, 877 (1981).
- 42 Quantitative Risk Assessment: Fd. Cosmet. Toxicol. 18, 711 (1980).
- 43 R. Hess, F. Waechter and P. Bentley: AMI-Berichte, Institut für Arzneimittel des Bundesgesundheitsamtes, 2, 219 (1981).
- 44 P. J. Gehring, P. G. Watanabe and C. N. Park: Toxicol. Appl. Pharmacol. 49, 15 (1979).
- 45 F. W. Carlborg: Fd. Cosmet. Toxicol. 17, 159 (1979).
- 46 R. Doll and R. Peto: J. Natl. Cancer Inst. 66, 1192 (1981).