

Arbeiten mit Styrol

*Rainer Frentzel-Beyme
Boris Oberheitmann*

Arbeiten mit Styrol

**Neuropsychologische Störungen
bei niedriger Dosierung**

edition der Hans-Böckler-Stiftung 105

Prof. Dr. med. Frentzel-Beyme war bis Mai 2004 an der Universität Bremen und leitete dort die Abteilungen Epidemiologie des Zentrums für Umweltforschung und Umwelttechnologie (UFT) sowie die Abteilung Epidemiologie der Umwelt und des Arbeitslebens des Bremer Instituts für Präventionsforschung und Sozialmedizin (BIPS). Seine wissenschaftlichen Arbeiten gelten dem Studium der Krankheitsempfänglichkeit, der individuellen Regulation der Abwehr pathogener Prozesse und Reparatur chromosomaler Schädigungen sowie den Risikofaktoren für andauernde Gesundheit.

Dr. Boris Oberheitmann ist Geschäftsführer der Fa. Q-Bioanalytic GmbH, Bremerhaven. Davor arbeitete er als Wissenschaftler in der Abteilung Epidemiologie des Zentrums für Umweltforschung und Umwelttechnologie (UFT).

© Copyright 2005 by Hans-Böckler-Stiftung
Hans-Böckler-Straße 39, 40476 Düsseldorf
Buchgestaltung: Horst F. Neumann Kommunikationsdesign, Wuppertal
Produktion: Der Setzkasten GmbH, Düsseldorf
Printed in Germany 2005
ISBN 3-935145-82-9
Bestellnummer: 13105

Alle Rechte vorbehalten, insbesondere die des öffentlichen Vortrages,
der Rundfunksendung, der Fernsehausstrahlung,
der fotomechanischen Wiedergabe, auch einzelner Teile.

INHALTSVERZEICHNIS

VORWORT	5
TOXISCHES POTENTIAL UND NEUROTOXIZITÄT VON STYROL UND MODIFIKATIONEN VON EFFEKTEN DURCH GENPOLYMORPHISMEN FREMDSTOFF- METABOLISIERENDER ENZYME	7
<i>Prof. Dr. Ernst Hallier</i>	
CHRONOLOGIE DER EPIDEMIOLOGISCHEN ANSÄTZE ZUR STYROLFORSCHUNG IN DER BUNDESREPUBLIK BZW. IN DEN ALTEN BUNDESLÄNDERN	13
<i>Prof. Dr. med. R. Frentzel-Beyme</i>	
NEUROPSYCHOLOGISCHE BEFUNDE BEI STYROLEXPONIERTEEN BOOTSBAUERN	21
<i>Priv.-Doz. Dr. Dietmar Heubrock</i> <i>Prof. Dr. Rainer Frentzel-Beyme</i>	
PILOTSTUDIE ZUR DNA – REPARATURFÄHIGKEIT BEI STYROLEXPONIERTEEN BOOTSBAUERN MIT DEM CHALLENGE ASSAY	33
<i>Boris Oberheitmann</i>	
BEZIEHUNG ZWISCHEN EXPOSITIONS- UND SCREENING- PARAMETERN BEI STYROL-EXPONIERTEEN DER KUNST- STOFFVERARBEITENDEN INDUSTRIE	39
<i>Dr. Elke Brinkmann</i> <i>H.-J. Zeller</i>	
KONSEQUENZEN NEUROTOXISCHER EFFEKTE VON STYROLEXPOSITIONEN UNTERHALB DER GESETZLICHEN GRENZWERTE	47
<i>Dr. med. Michael Nasterlack</i>	

EXPOSITIONSHÖHE AN EINZELNEN STYROLARBEITS- PLÄTZEN UND DIE ZAHL DER BERUFSEKRANKUNGEN	51
---	-----------

Dr. Wolfgang Huber

AN APPLICATION OF THE CHALLENGE ASSAY IN BOAT BUILDERS EXPOSED TO LOW LEVELS OF STYRENE – A FEASIBILITY STUDY OF A POSSIBLE BIOMARKER FOR ACQUIRED SUSCEPTIBILITY	53
--	-----------

Boris Oberheitmann

Rainer Frentzel-Beyme^{ab}

Wolfgang Hoffmann^{ab}

ANHANG I EPIDEMIOLOGISCHE STUDIE ZUR »KREBSINZIDENZ UND -MORTALITÄT BEI DER VERWENDUNG VON STYROL IN DER HERSTELLUNG VON VERSTÄRKTEN KUNSTSTOFFEN«	65
---	-----------

Dr. med. R. Frentzel-Beyme

SELBSTDARSTELLUNG DER HANS-BÖCKLER-STIFTUNG	73
--	-----------

Nach inzwischen 3 Jahren wird der Inhalt einer wissenschaftlichen Tagung dargelegt, da sich unvorhersehbare Verzögerungen ergaben, obwohl sich auch darin bereits die Schwierigkeiten erweisen, wirklich unabhängige Forschung in Deutschland zu betreiben und der Öffentlichkeit zu vermitteln.

Auf diese Schwierigkeiten wird nach einer Vorstellung der toxischen Potentiale des Lösungsmittels Styrol durch Professor Dr. med. E. Hallier in der Chronologie hingewiesen. Hierbei kommt es besonders darauf an, die hartnäckige Behinderung der epidemiologisch geplanten Untersuchungen an Bootsbauern durch die BG der chemischen Industrie herauszuarbeiten. Verwundern muss dann, wenn Dr. med. M. Nasterlack mit teilweise berechtigten Kritikpunkten genau die Richtung anspricht, die eben wegen der genannten Behinderungen nicht gefördert wurde, so dass mit einer vergleichsweise geringen Förderung durch die Hans-Böckler-Stiftung auch nur ein viel geringerer Ansatz gewählt werden konnte. Einige andere Kritikpunkte sind nicht fundiert, wie z.B. die Annahme, nur eine Kontrollgruppe würde die Ergebnisse ausreichend interpretierbar machen, da es die perfekte Kontrollgruppe auch bei noch so intensivem Bemühen nicht gibt. Daher bleiben die altersspezifischen Referenzwerte aus der Bevölkerung, die von Heubrock und Frentzel-Beyme im zentralen Teil dieses Berichts angewendet wurden, die geeignete Vergleichsbasis. Gleichzeitig ist die von den Autoren geäußerte Kritik an der bisher in der deutsche Arbeitsmedizin noch immer hoch eingeschätzten Brauchbarkeit des Q 16/Q 18 bedenkenswert, die nicht nur von Smargiassi et al., sondern auch von Dr. med. Elke Brinkmann in diesem Band besonders anschaulich belegt wird. »Nur wer nichts finden will, bedient sich des Q 18« ist sicher nicht berechtigt als Schlussfolgerung, doch sollte man sich auf dieses Instrument als einziger Informationsquelle nicht verlassen.

Dies gilt besonders für die Beurteilung von Berufskrankheiten nach Styroleinwirkung. Hier sollte auch darauf verwiesen werden, dass der G 45-Grundsatz ausdrücklich die neuropsychologische Untersuchung noch vor der Bestimmung von Leberbefunden vorschreibt, was sich jedoch in der Realität nicht durchsetzen ließ, da die einschlägig befassten Berufsgenossenschaften die hohen Kosten und möglicherweise auch die Untersuchungsergebnisse scheuen.

Aus den genannten Gründen ist das Erscheinen dieses Berichts selbst nach einer langen Entstehungszeit insbesondere wegen der Diskussion um die BK 1317

zu begrüßen, da auch hier die gleichen und stereotyp wiederholten Argumente vorgebracht werden wie bisher zu Styrol. Entweder wird das Fehlen epidemiologischer Untersuchungsergebnisse beklagt, ohne dass für Abhilfe gesorgt wird, oder die Ergebnisse solcher Untersuchungen werden in verdächtig einseitiger Weise abgewertet, anstatt den Wert für zukünftige Prävention der schwächsten Glieder unter den Mitarbeitern gegenüber zu hohen, bisher als angeblich niedrig eingestuften Einwirkungen, zu intensivieren.

Hierzu sei der Leserschaft aus dem Bereich der Arbeitshygiene, des Arbeitsschutzes und auch der medizinischen Fächer eine aufschlussreiche Lektüre gewünscht.

Einige der Autoren haben leider im Laufe der verstrichenen Zeit, in der eigentlich eine Ausweitung der Forschung aufgrund der hier vorgestellten vorläufigen Ergebnisse angestrebt worden war, diesen Arbeitsbereich verlassen und sich neuen Themen zugewandt. Auch dieser Effekt trägt zur weiteren Verzögerung dringlich notwendiger quantifizierender Forschung bei, so dass auch zukünftig die verlässlichsten Ergebnisse aus dem Ausland übernommen werden müssen, wo sich Förderung unabhängiger Forschung noch an Problemen der möglichst effektiven und dadurch kostensparenden Prävention orientiert.

Rainer Frentzel-Beyme

TOXISCHES POTENTIAL UND NEUROTOXIZITÄT VON STYROL UND MODIFIKATIONEN VON EFFEKTEN DURCH GEN- POLYMORPHISMEN FREMD- STOFFMETABOLISIERENDER ENZYME

Prof. Dr. Ernst Hallier¹

Styrol (Vinylbenzol) wird in großen Mengen als Monomer für die Kunststoffherstellung verwendet. Es dient zudem als Lösemittel und zur Herstellung von Gummi, Latex und Fiberglas. Die Dämpfe von Styrol sind schwerer als Luft. Die Substanz wirkt augen- und schleimhautreizend; bei direktem Kontakt mit der Haut verursacht sie ein Erythem (Hautrötung), bei längerer Einwirkung entzündliche Erscheinungen. In Bezug auf die akute Toxizität stehen neurologische Störungen wie Schwindel, Übelkeit, Kopfschmerzen und Konzentrationsschwäche, bei höheren Belastungen auch EEG-Veränderungen und eine Verlängerung der Reaktionszeiten im Vordergrund. Chronisch-toxische Wirkungen sind neben neurologischen Schäden auch Veränderungen im Blutbild sowie Schädigungen der Leber und der Bronchialschleimhaut. Styrol erwies sich in Testsystemen *in vitro*, bei denen Bakterienstämme oder Hefepilze verwendet werden, als nicht mutagen. Bei Zugabe eines aktivierenden Systems, also von Zusätzen mit enzymatischer Wirkung, ergaben sich jedoch z.T. auch positive Befunde. Diese deuteten auf eine mutagene Wirkung des Styrol-7,8-Oxid hin, welches metabolisch aus Styrol entsteht. Im menschlichen Blut bewirkt Styrol *in vitro* DNA-Addukte (VODICKA et al. 2002), chromosomale Abberationen (JANTUNEN et al. 1986) sowie eine Vermehrung des Schwester-Chromatid-Austausches (NORPPA et al. 1980). Solche Veränderungen zeigten sich auch im Blut von Arbeitern, die beruflich gegen Styrol exponiert waren (MERETOJA et al. 1978, BRENNER et al. 1991, HALLIER et al. 1994, BIRO et al. 2002, LAFFON et al. 2002). In Anbetracht dieser Befunde und widersprüchlicher Ergebnisse tierexperimenteller Kanzerogenitätsuntersuchungen hat die Senatskommission der Deutschen Forschungsgemeinschaft (DFG) zur Prüfung

1 Institut für Arbeits- und Sozialmedizin der Universität Göttingen.

gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe (sogenannte MAK-Kommission) Styrol in die Gruppe 5 der Bewertung krebserzeugender Arbeitsstoffe eingestuft. Hierbei handelt es sich um Stoffe mit krebserzeugender und gentoxischer Wirkung, deren Wirkungsstärke jedoch als so gering erachtet wird, dass unter Einhaltung des MAK- und BAT-Wertes kein nennenswerter Beitrag zum Krebsrisiko für den Menschen zu erwarten ist.

Obwohl die schwache gentoxische und evtl. krebserzeugende Wirkung von Styrol nicht außer Acht gelassen werden sollte, steht in Bezug auf die Gesundheitsgefährdung styrolexponierter Beschäftigter die Neurotoxizität des Stoffes eindeutig im Vordergrund. Neben den klassischen, bereits beschriebenen neurologischen Störungen werden in den letzten Jahren auch zunehmend verhaltens-toxikologische Störungen (KISHI et al. 2000), psychische Störungen (CHALLENGER und WRIGHT 2000) und eine Beeinträchtigung der Funktion der Sinnesorgane, insbesondere der Hörfunktion (CAMPO et al. 2001, MORATA et al. 2002, MAKKITTIE et al. 2002) und des Farbsehens (CASTILIO et al. 2001, GONG et al. 2002) berichtet.

Gene, die die Enzyme des Fremdstoffmetabolismus kodieren, können die Reaktion des Organismus auf toxische Einflüsse modulieren. Eine aktuelle Herausforderung ist das Verständnis der genetischen Prädisposition für interindividuelle Unterschiede in der Reaktion auf Fremdstoffexposition. Im Allgemeinen führt eine steigende Dosis einer Chemikalie zu einer stärkeren Wirkung oder zu einer erhöhten Häufigkeit toxischer Reaktionen in einer gegebenen Bevölkerung. Infolge der genetisch bedingten individuellen Stoffwechselaktivitäten kann es dabei jedoch Personen mit einer gesteigerten Reaktion auf eine relativ niedrige Dosis eines bestimmten Agens (empfindliche Personen) sowie Personen mit einer geringen oder vernachlässigbaren Reaktion gegenüber hohen Dosen (resistente Personen) geben. Die arbeitsmedizinisch-toxikologische Relevanz eines Enzympolymorphismus kann durch eine Kasuistik verdeutlicht werden. Zwei Arbeiter, die sich akzidentell mit Methylbromid vergifteten, zeigten – bei gleicher Exposition – eine sehr unterschiedliche Symptomatik. Der Patient mit negativem GSTT1-Genotyp litt lediglich unter vorübergehenden Symptomen wie Übelkeit, während der Patient mit positivem GSTT1-Genotyp schwere dauernde neurotoxische Manifestationen zeigte und seit dem Vorfall einen Rollstuhl benutzen muss. Hierfür wird eine von dem Enzym GSTT1 abhängige Metabolisierung des Methylbromids zu einem neurotoxischen Metaboliten verantwortlich gemacht (GARNIER et al. 1996).

Obwohl solche krasse Auswirkungen eines Enzympolymorphismus eher selten sein dürften, kann die Kenntnis über genetische Polymorphismen helfen, die unterschiedliche Erkrankungsneigung von Personen zu verstehen. Allerdings sind

die bisherigen Befunde noch sehr bruchstückhaft und wenig aussagekräftig; hier besteht noch ein erheblicher Forschungsbedarf.

Der Arbeitsstoff Styrol unterliegt einem recht komplexen Stoffwechsel. Durch Cytochrom P450-abhängige Monooxygenasen wird der Ausgangsstoff zu Styrol-7,8-Oxid metabolisiert, welches als Epoxid für die genotoxischen Effekte der Styrol-exposition verantwortlich gemacht wird. Dieser Stoffwechselschritt ist stereoselektiv, d.h. dass Styroloxid und weitere Metabolite in jeweils 2 Formen vorliegen, die polarisiertes Licht unterschiedlich drehen, sogenannte Enantiomere. In verschiedenen in-vitro-Testsystemen hat sich die rechtsdrehende Form (R-Styroloxid) stärker mutagen wirksam gezeigt als die linksdrehende (S-Styroloxid). Das Styroloxid wird größtenteils über die Epoxidhydrolase zu den Haupt-Ausscheidungsprodukten Mandelsäure und Phenylglyoxylsäure metabolisiert, die mit dem Harn ausgeschieden und in der Arbeitsmedizin als Biomarker quantifiziert werden. Ein alternativer Stoffwechselweg führt über Glutathion-S-Transferasen zur Bildung von Mercaptursäuren. Sowohl die Cytochrom P450-abhängigen Monooxygenase CYP2E1, die für die »Giftung« von Styrol zu Styroloxid verantwortlich ist, als auch die »entgiftenden« Enzyme Epoxidhydrolase, GSTM1, GSTT1 und GSTP1 (Glutathiontransferasen) weisen Enzym polymorphismen auf. Diese führen bei gleicher Expositionshöhe zu einer individuell unterschiedlichen Ausscheidung der Styrol-metabolite im Harn (DE PALMA et al. 2001, WENKER et al. 2001, SYMANSKI et al. 2001, HAUFROID et al. 2002, MANINI et al. 2002).

In jüngster Zeit zeigen Forschungsuntersuchungen in vitro und an styrolexponierten Personen in vivo, dass Enzym polymorphismen die Induktion von DNA-Schädigungen, Schwester-Chromatid-Austausch, Mikrokernbildung und andere cytogenetische Effektmarker beeinflussen (SHIELD und SANDERSON 2001, BERNARDI et al. 2002, BUSCHINI et al. 2003, LAFFON et al. 2003 a und b). Dabei sind sowohl die Glutathion-Transferasen M1 und T1 als auch die Epoxidhydrolase und das Cytochrom P450-System involviert. VIAENE et al. zeigten 2001 einen Einfluss des Polymorphismus der Epoxidhydrolase auf die Ausprägung neurotoxischer Effekte bei Arbeitern im Bootsbau, die beruflich gegen Styrol exponiert waren. In Anbetracht der unterschiedlichen Gentoxizität der beiden Enantiomere des Styrol-oxids sei ergänzend hinzugefügt, dass die rechtsdrehende und die linksdrehende Form von verschiedenen Personen in einem unterschiedlichen Verhältnis gebildet werden. Dies könnte bei Bevorzugung der R-Form zu einer erhöhten individuellen Gefährdung führen (WENKER et al. 2001 a und b, LINHART 2001).

Zusammenfassend wird es in Zukunft geboten sein, bei der Durchführung arbeitsmedizinisch-toxikologischer Untersuchungen über die toxische, insbeson-

dere neurotoxische Wirkung der beruflichen Styrolexposition den Aspekt der Enzym polymorphismen einzubeziehen.

LITERATUR

- Bernardini, S., A. Hirvonen, H. Jarventaus, H. Norppa: Influence of GSTM1 and GSTT1 genotypes on sister chromatid exchange induction by styrene in cultured human lymphocytes. *Carcinogenesis* **23** (2002) 893 - 897.
- Biro, A., E. Pallinger, J. Major, M.G. Jakab, T. Klupp, A. Falus, A. Tompa: Lymphocyte phenotype analysis and chromosome aberration frequency of workers occupationally exposed to styrene, benzene, polycyclic aromatic hydrocarbons or mixed solvents. *Immunol. Lett.* **81** (2002) 133 - 140.
- Buschini, A., G. De Palma, P. Poli, A. Martino, C. Rossi, P. Mozzoni, E. Scotti, L. Buzio, E. Bergamaschi, A. Mutti: Genetic polymorphism of drug-metabolizing enzymes and styrene-induced DNA damage. *Environ. Mol. Mutagen* **41** (2003) 243 - 252.
- Campo, P., R. Lataye, G. Loquet, P. Bonnet: Styrene-induced hearing loss : a membrane insult. *Hear. Res.* **154** (2001) 170 - 180.
- Castillo, L., M. Baldwin, M.P. Sassine, D. Mergler: Cumulative exposure to styrene and visual functions. *Am. J. Ind. Med.* **39** (2001) 351 - 360.
- De Palma, G., P. Manini, P. Mozzoni, R. Andreoli, E. Bergamaschi, S. Cavazzini, I. Franchini, A. Mutti: Polymorphism of xenobiotic-metabolizing enzymes and excretion of styrene-specific mercapturic acids. *Chem. Res. Toxicol.* **14** (2001) 1393 - 1400.
- Challenger, J, D. Wright: Aggression in boat builders: a search for altered mood states in boat builders exposed to styrene. *Occup. Med. (Lond.)* **50** (2000) 185 - 192.
- Gong, Y.Y., R. Kishi, Y. Katakura, E. Tsukishima, K. Fujiwara, S. Kasai, T. Satoh, F. Sata, T. Kawai: Relation between color vision loss and occupational styrene exposure level. *Occup. Environ. Med.* **59** (2002) 824 - 829.
- Haufroid, V., M. Jakubowski, B. Janasik, D. Ligocka, J.P. Buchet, E. Bergamaschi, P. Manini, A. Mutti, S. Ghittori, M. Arand, N. Hangen, F. Oesch, A. Hirvonen, D. Lison: Interest of genotyping and phenotyping of drug-metabolizing enzymes for the interpretation of biological monitoring of exposure to styrene. *Pharmacogenetics* **12** (2002) 691 - 702.

- Kishi, R., S. Tozaki, Y.Y. Gong: Impairment of neurobehavioral function and color vision loss among workers exposed to low concentration of styrene – a review of literatures. *Ind. Health* **38** (2000) 120 - 126.
- Laffon, B., E. Pasaro, J. Mendez: Evaluation of genotoxic effects in a group of workers exposed to low levels of styrene. *Toxicology* **171** (2002) 175 – 186
- Laffon, B, B. Perez-Cadahia, E. Pasaro, J. Mendez: Effect of epoxide hydrolase and glutathione S-transferase genotypes on the induction of micronuclei and DNA damage by styrene-7,8-oxide in vitro. *Mutat. Res.* **536** (2003) 49 – 59.
- Laffon, B, B. Perez-Cadahia, E. Pasaro, J. Mendez: Individual sensitivity to DNA damage induced by styrene in vitro: influence of cytochrome p450, epoxide hydrolase and glutathione S-transferase genotypes. *Toxicology* **186** (2003) 131 – 141.
- Linhart, I.: Stereochemistry of styrene biotransformation. *Drug Metab. Rev.* **33** (2001) 353 - 367.
- Makitie, A., U. Pirvola, I. Pyykko, H. Sakakibara, V. Riihimaki, J. Ylikosk: Functional and morphological effects of styrene on the auditory system of the rat. *Arch. Toxicol.* **76** (2002) 40 – 47.
- Manini, O., G. De Palma, P. Mozzoni, R. Andreoli, D. Poli, E. Bergamaschi, I. Franchini, A. Mutti: GSTM1 polymorphism and styrene metabolism: insights from an acute accidental exposure. *Toxicol. Lett.* **134** (2002) 201 - 208.
- Morata, T.C., A.C. Johnson, P. Nylen, E.B. Svensson, J. Cheng, E.F. Krieg, A.C. Lindblad, L. Ernstgard, J. Franks: Audiometric findings in workers exposed to low levels of styrene and noise. *J. Occup. Environ. Med.* **44** (2002) 806 – 814.
- Shield, A.J., B.J. Sanderson: Role of glutathione S-transferase mu (GSTM1) in styrene-7.8-oxide toxicity and mutagenicity. *Environ. Mol. Mutagen* **37** (2001) 285 - 289.
- Symanski, E., E. Bergamaschi, A. Mutti: Inter- and intra-individual sources of variation in levels of urinary styrene metabolites. *Int. Arch. Occup. Environ. Health* **74** (2001) 336 – 344.
- Viaene, M.K., W. Pauwels, H. Veulemans, H.A. Roels, R. Masschelein: Neurobehavioral changes and persistence of complaints in workers exposed to styrene in a polyester boat building plant: influence of exposure characteristics and microsomal epoxide hydrolase phenotype. *Occup. Environ. Med.* **58** (2001) 103 - 112.
- Vodicka, P., M. Koskinen, M. Arand, F. Oesch, K. Hemminki: Spectrum of styrene-induced DNA adducts: the relationship to other biomarkers and prospects in human biomonitoring. *Mutat. Res.* **511** (2002) 239 – 254.

- Wenker, M.A., S. Kezic, A.C. Monster, F.A. de Wolff: Metabolism of styrene in the human liver in vitro: interindividual variation and enantioselectivity. *Xenobiotica* **31** (2001) 61 - 72.
- Wenker, M.A., S. Kezic, A.C. Monster, F.A. de Wolff: Metabolic capacity and interindividual variation in toxicokinetics of styrene in volunteers. *Hum. Exp. Toxicol.* **20** (2001) 221 – 228.
- Wenker, M.A., S. Kezic, A.C. Monster, F.A. de Wolff: Stereochemical metabolism of styrene in volunteers. *Int. Arch. Occup. Environ. Health* **74** (2001) 359 – 365.

CHRONOLOGIE DER EPIDEMIOLOGISCHEN ANSÄTZE ZUR STYROLFORSCHUNG IN DER BUNDESREPUBLIK BZW. IN DEN ALTEN BUNDESLÄNDERN

Prof. Dr. med. R. Frentzel-Beyme¹

Aufgrund der verschiedenen Veröffentlichungen aus Skandinavien wurde monomeres Styrol zunehmend einer toxischen und eventuell auch karzinogenen Potenz verdächtig, so dass von der IARC der WHO ab 1987 eine multizentrische Studie zum beruflichen Risiko von Personen in der Herstellung von Styrol geplant wurde.

Parallel zu dieser Planung wurde März/April 1989 in der IARC eine *Working Group on Potential Carcinogenic Risk from Exposure to Styrene* gebildet und ein Vertreter von an der in Deutschland durchgeführten Kohortenstudie der BASF, Ludwigshafen, beteiligten Institutionen zur Teilnahme aufgefordert. Nach dem Muster einer Mortalitätsstudie, die im *Scandinavian Journal for Work, Environment and Health* 1978 publiziert worden war (Abb. 1), war die Planung des deutschen Beitrags nun als multizentrische Studie unter Einbeziehung weiterer Betriebe und auch der Personen in der Weiterverarbeitung von Styrol im damaligen Westdeutschland vorgesehen. Für die Identifizierung von Betrieben mit Expositionen an Arbeitsplätzen sollte auch die Datenbank MEGA/OMEGA des BIA, St. Augustin, herangezogen werden. Hierzu wiederum parallel wurde mit dem Team *Joint assessment of styrene exposure in six European countries among workers in the reinforced plastics industry* die Erfassung der Exposition in denjenigen Ländern geplant, in denen einschlägige Daten zu beschaffen sein würden.

Gemeinsam mit dem Hauptverband der Berufsgenossenschaften wurde die Organisation der »EPIDEMIOLOGISCHE STUDIE STYROL« angestrebt, nachdem der Ausschuss für Gefahrstoffe (AGS) schriftlich ausdrücklich an das BIA verwiesen hatte. Eine Finanzierung durch den HVBG wurde trotz mehrfach modifizierter Anträge und dem von drei Berufsgenossenschaften bestätigten übergreifenden Interesse nicht genehmigt, da seitens der BG der chemischen Industrie gegen eine deutsche Beteiligung an der internationalen Studie opponiert wurde.

1 Universität Bremen

Abb. 1:

Scand. j. work environ. & health 4 (1978): suppl. 2, 231—239

Survey of mortality among employees engaged in the manufacture of styrene and polystyrene at the BASF Ludwigshafen works

by R. FRENTZEL-BEYME,¹ A. M. THIESS² and R. WIELAND²

FRENTZEL-BEYME, R., THIESS, A. M. and WIELAND, R. Survey of mortality among employees engaged in the manufacture of styrene and polystyrene at the BASF Ludwigshafen works. *Scand. j. work environ. & health* 4 (1978): suppl. 2, 231—239. A mortality survey of 1,960 employees currently or previously exposed to styrene at work has shown that the observed number of deaths from cancer or other causes is no higher than the number expected in the German population or in a group of BASF employees. Analyses of deaths occurring after a minimum period of five years in groups exposed for different durations (5 years, 10 years, 15 years, more than 15 years) indicated no increase in mortality with exposure time. This latter observation also applied to malignant tumors; therefore it may be inferred that prolonged exposure to styrene is not a cancer hazard.

Key words: cancer, chemical industrial workers, mortality, prospective study, styrene.

Die Zielrichtung änderte sich aufgrund der jahrelangen Diskussionen in Richtung Morbidität und von der Herstellung in Richtung Weiterverarbeitung, weil einerseits geschlossene Systeme in der herstellenden Industrie eine Exposition unwahrscheinlich machten, während andererseits die Weiterverarbeitung bis heute deutliche Expositionen mit sich bringt.

Auf der Basis der gemeinsam mit drei BGs betriebenen Vorbereitungen lagen Listen der Mitarbeiter von 12 Firmen einschl. der persönlichen Erfassungsbögen jedes ehemaligen und noch beschäftigten Mitarbeiters vor. So waren die Bootsbauer in Norddeutschland von der Bau-BG erfasst worden, der Beginn der Untersuchungen war mangels Finanzierung jedoch immer noch nicht möglich.

Anlässlich der von der BAfAM, Berlin, veranstalteten Tagung zu den Themen Styrol, Dioxin und Mineralfasern im Mai 1993 wurde ein Überblick zum Stand des Wissens über die epidemiologische Evidenz zum Krebsrisiko in der Styrolherstellung und -weiterverarbeitung gegeben (Frentzel-Beyme, 1993).

Inzwischen war von der Europäischen Kommission die Concerted Action EUNEUTOX (1994-1997) mit Projektleitung im Deutschen Krebsforschungszentrum Heidelberg zur Finanzierung gekommen und im Zusammenhang mit die-

sem internationalen Projekt wurde ein Antrag an den Projektträger DLR zur Durchführung des nationalen Teils gestellt. Aufgrund der negativen Beurteilung der Priorität durch das begutachtende Gremium erfolgte keine Bewilligung der Mittel für den nationalen Beitrag.

Einziges Argument war, dass die Genotoxizität des Styrol aufgeklärt sei und daher weitere Forschung nicht erforderlich wäre (Prof Angerer, Erlangen). Obwohl die Concerted Action EUNEUTOX ausdrücklich auch neurotoxische Einflüsse einbezog, wurde aufgrund dieser Einschätzung die Förderung nicht gewährt.

Damit wurde eine erneute Antragsstellung an den HVBG erforderlich. Nach mehrjähriger Bearbeitungszeit und nach zwei Modifikationen wurde trotz Bereitschaft von drei BGen zur Zusammenarbeit keine Finanzierung gewährt (Anhang I).

Mit Universitätsmitteln der Universität Bremen wurde 1995 der Einstieg in die Studie bei einer Bootsbauerfirma möglich, wobei von Vorteil war, dass die Erfassung der exponierten Bevölkerung bereits in der Vorbereitungsphase erfolgt war. Das inzwischen abgeschlossene internationale Projekt EUNEUTOX, für das dieser Beitrag jedoch nicht mehr zeitgerecht abgeschlossen werden konnte, ergab allerdings wertvolle Hinweise aus anderen Forschungszentren in Belgien, Dänemark, Italien und Schweden.

Abb. 2: Aus »Occupational cancer risk to irreversible central nervous effects after neurotoxic solvent exposure«, Final Report EUNEUTOX, 1997

<p>Italy – Parma (04-041)</p> <p>Prof. Dr. Antonio Mutti, MD <i>Instituto di Clinica Medica e Nefrologia</i> <i>Universita degli Parma</i></p> <p>„Predictive validity of the Q16 questionnaire: a comparison between reported symptoms and neurobehavioral tests“ <i>A Smargiassi, A. Mutti, E. Bergamaschi, M. T. Cella</i></p>	
--	--

Ein Beitrag der Concerted Action EUNEUTOX, der später in der Zeitschrift *Neurotoxicology international* publiziert wurde (Smargiassi et al., 1998), war zuvor im Final Report 1997 veröffentlicht worden (Abb. 2). In diesem Beitrag wurde die man-

gelnde Sensitivität des skandinavischen Fragebogens Q 16 zur Erfassung der wichtigsten Symptome und Zeichen für bereits bestehende neurotoxische Effekte im Bereich der kognitiven Leistungsfähigkeit nachgewiesen, da die Perzeption der Betroffenen ungenügend oder nicht adäquat abgebildet wird bzw. wegen der sehr geringen Sensitivität zu häufig nicht erkannt wird.

Verglichen mit den Ergebnissen neuropsychologischer Testungen der gleichen Probanden als Referenzangaben ergab sich eine hohe Rate falsch negative Angaben, die unakzeptabel war (positiver Prädiktionwert < 30 %). Damit ergab sich, dass eine positive Antwort im Q16 keineswegs prädiktiv für einen niedrigen Wert im neuropsychologischen Test war. Andererseits sagte eine negative Antwort eine gutes Ergebnis im neuropsychologischen Test in 80 % voraus.

Ebenso war wegen des niedrigen Korrelationskoeffizienten ($r = 0.23$, $p = 0.05$) die Summe positiver Antworten im Q16 mit Bezug auf Erinnerungsvermögen und Leistungsfähigkeit im Langzeiterinnerungstest (LM) kein Prädiktor der psychometrischen Performance (Abb. 3, Tab. 5, 6 aus Final Report 1997). Obwohl hoch auf dem psychometrischen Score, konnten nur eine, aber auch zwei, drei oder vier Fragen mit Bezug auf die Merkfähigkeit beantwortet sein. Ähnliche Erfahrungen wurden auch von Heubrock und Frentzel-Beyme (in diesem Band) gemacht. Insgesamt wurde eine Inkonsistenz zwischen perzipierter Störung und objektiven Messergebnissen relevanter Funktionen gefunden, die eher auf eine gewisse Adaptation und Abwehrmechanismen hindeuten, während die Schwere der Störungen auch dazu führen kann, dass bei Styrolexponierten die Wahrnehmung der Symptome sogar verhindert wird und deren Expression schwindet (Smargiassi et al., 1997).

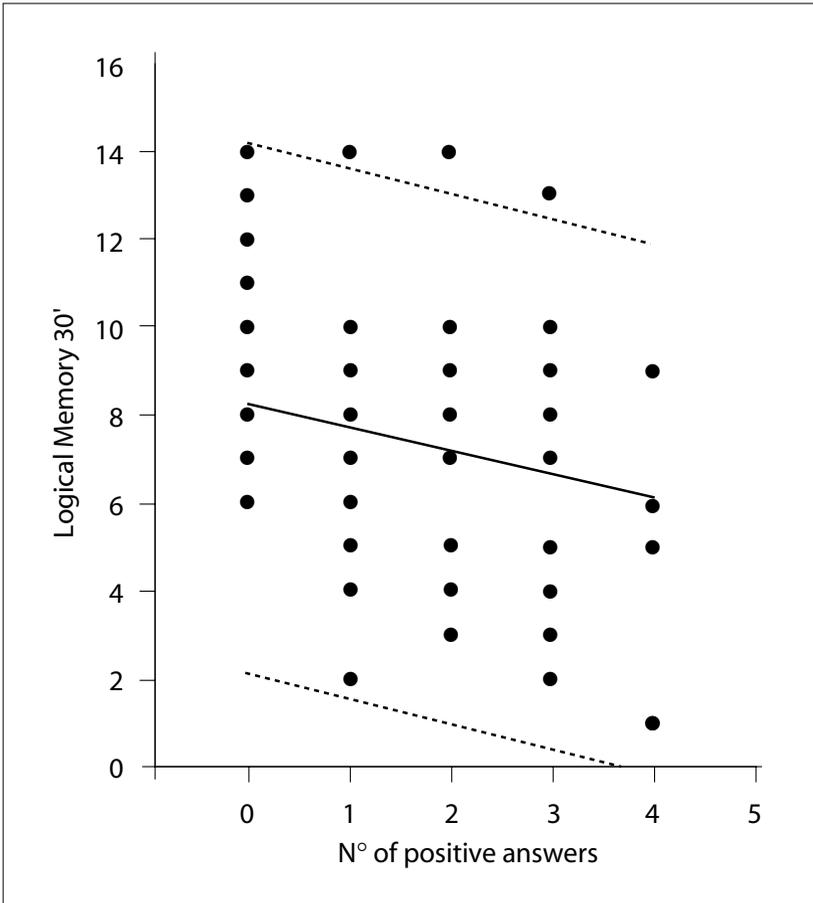
Trotz dieser geringen Validität ist der Fragebogen für die Verwendung in der deutschen Arbeitsmedizin durch Triebig übersetzt und empfohlen worden (deutsche Version Q 18).

Weitere Veröffentlichungen zu neurotoxischen Störungen hatten auch bereits bei niedrigen Expositionen, d.h. unterhalb der bis dahin geltenden MAK-Werte, schwere Störungen beschrieben.

- Fallas et al. (1992) stellten bei *60 Schiffsbauern* mit durchschnittlich 24 ppm Styrolexposition visuelle Beeinträchtigungen im Bereich des Farbsehens fest.
- Yokoyama et al. (1992) fanden ebenfalls bei nur *12 Bootsbauern*, die gegenüber 26 ppm Styrol exponiert waren, eine verminderte psychologische Leistungsfähigkeit.
- Edling et al. (1985) wiesen bei *20 Arbeitern*, die gegenüber weniger als 20 ppm exponiert waren, neuropsychiatrische Symptome nach.
- Murata et al. (1991) beobachteten bei *11 Bootsbauern*, die gegenüber 22 ppm Styrol exponiert waren, Schädigungen der myelinisierten Nervenfasern.

Abb. 3:

Fig. 6: Relationship between the sum of positive answer to questions relevant to memory and the long term logical memory performance



Wenn sich bereits bei kleinen Gruppen und geringen Einwirkungsintensitäten gesicherte Befunde ergeben, ist eine erweiterte Fragestellung nach vorhersagbaren Gründen für eventuelle Spätfolgen und nach weiteren Einflussfaktoren, wie Sensitivitätsunterschiede und Suszeptibilität, dringend angezeigt. Dies gilt vor allem für vergleichsweise niedrige, aber dafür konstante und über viele Jahre andauernde Einwirkungsintensitäten in der Weiterverarbeitung von Styrol.

Tab. 5: Neurobehavioral test scoring

Neurobehavioral test	Mean (sd)
Verbal Learning (VL)	7,12 (1,28)
Verbal Learning at 30'(VL30)	7,25 (1,62)
Logical Memory (LM)	7,20 (3,01)
Logical Memory at 30'(LM30)	7,52 (3,08)
Simple Reaction Time (SRT)	251,4 (33,8)

Tab. 6: Neurobehavioral test scores in function of the Q16 answer

Test / Q16 Answer	yes	no	p
Do you have a short memory?			
LM	6,67 (2,92)	7,82 (3,05)	0,10
LM30'	6,72 (3,00)	8,47 (2,94)	0,014
Have your relatives told you that you have a short memory?			
LM	6,88 (2,82)	7,20 (3,02)	0,69
LM30'	6,94 (3,03)	7,63 (3,07)	0,41
Do you often have to make notes about what you must remember?			
LM	6,12 (2,39)	7,56 (3,11)	0,092
LM30'	5,87 (2,63)	8,05 (3,04)	0,009
Do you often have to go back and check things you have done?			
LM	6,44 (2,81)	7,63 (3,06)	0,095
LM30'	7,11 (3,35)	7,76 (2,92)	0,40

Während sich für hohe Expositionen durch Experimente mit Freiwilligen in Expositions-kammern die z.T. heftigen Reaktionen der Binde- und Schleimhäute sowie der peripheren Nerven, wie auch von zentralnervösen (Depression) und sensorischen Leistungen gezeigt haben, fehlen oft bei den noch an den Arbeitsplätzen beschäftigten Personen, die der berufsgenossenschaftlichen Überwachung unterliegen zwar die akuten Beeinträchtigungen und Symptome, doch bedeutet dies nicht, dass sich keinerlei Effekte nachweisen ließen.

Schon bei Konzentrationen um 15 mg/m³ waren sowohl gesundheitliche als auch molekulargenetische Effekte nachweisbar (skandinavische Autoren).

Aber auch gentoxische Effekte, wie

- Erhöhung der Chromosomenaberrationsrate
- Mikrokernbildung
- Erhöhung der Schwester-Chromatid-Austauschrate

wurden in Lymphozyten von Arbeitern gefunden, die sehr hohen Styrolkonzentrationen (z. B. in der Polyesterproduktion) ausgesetzt waren.

Spezifische DNA-Addukte ließen sich in Lymphozyten von Laminierern nachweisen; Styrol wird im Körper u. a. zu Styroloxid metabolisiert. Dies erwies sich *in vitro* in Lymphozyten eindeutig als gentoxisch sowie mutagen und im Tierversuch als kanzerogen.

Scot (1993) bezweifelt eine direkte clastogene Wirkung von Styrol. Zur krebserzeugenden Wirkung von Styrol liegen für den Menschen unterschiedliche Befunde vor (Kolstad et al., 1993, Kogevinas et al., 1993).

Gentoxische Effekte von Styrol vor und nach der Absenkung der Werte am Arbeitsplatz untersucht (Hallier et al., 1994). Nach Verminderung der Expositionshöhe von 40 auf 20 ppm war die Rate der Sister chromatid exchanges (SCE) signifikant vermindert.

Neurotoxische Effekte wurden in Schweden auch noch bei niedriger Styrolexposition von 12 ppm gefunden, so dass wegen der hohen Rate neuropsychologischer Befunde die Autoren eine erneute Überprüfung des niedrigen schwedischen Standards von 25 ppm (110 mg/m³) empfehlen (Flodin et al., 1989).

Bisher wurde die Interaktion neurotoxischer Schäden bzw. Effekte und Chromosomenbefunde nicht untersucht.

Obwohl ungesättigte Polyesterkunststoffe auf der Basis von Styrol schon viele Dekaden verarbeitet werden, sind die Auswirkungen der beruflichen Einwirkung von dem Lösungsmittel und Komponenten verstärkter Glasfibrermaterialien auf die Gesundheit noch ungeklärt.

Die Diskussion um eine Einstufung bezüglich der Karzinogenität hat noch einmal verdeutlicht, dass auch für die Definition des Begriffs »nennenswerte Exposition« weder Kriterien noch Langzeit-Effektstudien vorliegen.

Die spezifischen neurotoxischen Effekte an oft sehr kleinen Untersuchungsgruppen machen weitere Forschungsbedarf unmittelbar deutlich.

LITERATUR

- Edling, C., Ekberg, K.: No acute behavioural effects of exposure to styrene: A safe level of exposure? *Brit. J. Ind. Med.* 42, 301-304, 1985.
- Fallas, C., Fallas, J., Maslard, P., Dally, S.: Subclinical impairment of colour vision among workers exposed to styrene. *Brit. J. Ind. Med.* 49, 679-682, 1992.
- Flodin, U.; Ekberg; K., Andersson, L.: Neuropsychiatric effects of low exposure to styrene. *Brit. J. Ind. Med.* 46, 805-808, 1989.
- Hallier, E., Goergens, H.W., Hallier, K., Bolt, H.M.: Intervention study on the influence of reduction of occupational exposure to styrene on sister chromatid exchanges in lymphocytes. *Int. Arch. Occup. Environ. Health* 66, 167-172, 1994.
- Kogevinas, M., Ferro, G., Sarracci, R. et al.: Cancer mortality in an international cohort of workers exposed to styrene. In: Sorsa, M., Peltonen, K., Vainio, H., Hemminki, K. (Hsg.): Health Hazards of Butadiene and Styrene IARC Scientific publications No. 127, Lyon, 1993
- Kolstad, H.A., Lynge, E., Olsen, J., Breum, N.: Incidence of lympho-hematopoietic malignancies among styrene-exposed workers of the reinforced plastics industry. *Scand. J. Work Environ. Health* 20, 272-278, 1994.
- Kolstad, H.A., Pedersen, B., Olsen, J., et al.: Clonal chromosome aberrations in myeloid leukemia after styrene exposure. *Scand. J. Work Environ. Health* 22, 58-61, 1996.
- Murata, K., Araki, S., Yokoyama, K.: Assessment of the peripheral, central and autonomous nervous system function in styrene workers. *Amer. J. Ind. Med.* 20, 775-784, 1991.
- Scott, D.: Cytogenetic studies of workers exposed to styrene: A review. *IARC Scientific publication No. 127, Lyon, 1993, pp. 275-286.*
- Smargiassi A, Bergamaschi E, Mutti A, Cella MT: Predictive validity of the Q16 questionnaire: a comparison between reported symptoms and neurobehavioral tests. *Neurotoxicology* 19(4-5):703-8, 1998.
- Yokoyama, K., Araki, S., Murata, K.: Effects of low level styrene exposure on psychological performance in FRP boat laminating workers. *Neurotoxicology* 13, 551-556, 1992.

NEUROPSYCHOLOGISCHE BEFUNDE BEI STYROL- EXPONIERTEN BOOTSBAUERN

Priv.-Doz. Dr. Dietmar Heubrock¹

Prof. Dr. Rainer Frentzel-Beyme²

HINTERGRUND

Styrol, ein nicht-chloriertes Lösemittel, weist neben dem karzinogenen auch ein neurotoxisches Potential auf. In Finnland waren bei exponierten Plastikarbeitern im Vergleich zu Betonmischern schlechtere psychomotorische Leistungen bereits bei einer Arbeitsplatzkonzentration von um 100 ppm gefunden worden (Lindström et al, 1976). Selbst nach deutlicher Absenkung des MAK-Wertes wurden Effekte bei ca. 15 ppm berichtet (Edling et al., 1993). Auch in Deutschland fanden Zeller et al. (2000) neurotoxische Wirkungen einer Styrolexposition unterhalb des MAK-Wertes. Auch Brinkmann et al. (2000) fanden neurologische und psychovegetative Beschwerden unterhalb des Wertes von 20 ppm (85mg/m³).

Der Abbau des Styrols erfolgt über Styroloxid, das als Ursache einer catecholaminergen Dysfunktion angesehen wird, wobei das tuberoinfundibuläre System und die Regulationsfunktion der Hypophyse als Angriffspunkt gelten. Befunde zum genetischen Polymorphismus der GST M1 (Glutathion-S-Transferase M1) lassen vermuten, dass individuelle Suszeptibilität ein möglicher Faktor für Langzeitschädigung bis hin zur inzipienten Enzephalopathie sein könnte (Söderkvistel et al., 1996).

Bei der vorliegenden Pilotstudie ging es um die Ermittlung von neuropsychologischen Langzeitfolgen nach niedrigdosierter Arbeitsplatzkonzentration im Zusammenhang mit der Dauer der Tätigkeit und individuellen Faktoren (host factors).

1 Neuropsychologische Ambulanz der Universität Bremen

2 Bremer Institut für Präventionsforschung und Sozialmedizin der Universität Bremen

ZIELE

1. Ermittlung von möglichen neuropsychologischen Langzeitfolgen nach niedrigdosierter Belastung am Arbeitsplatz in Abhängigkeit von der Dauer der Tätigkeit (arbeitsmedizinischer Aspekt).
2. Ermittlung sensibler neuropsychologischer Parameter zur Entwicklung eines geeigneten Screening-Verfahrens (methodologischer Aspekt).

HYPOTHESEN

1. Eine Styrolexposition führt zu neuropsychologischen Störungen (hierzu liegen erste Hinweise aus der internationalen Literatur vor).
2. Eine sehr lange Expositionsdauer führt zu stärkeren neuropsychologischen Störungen.
3. Die Störungsstärke wird durch den Genotyp (GSTT1 bzw. GSTM1) beeinflusst.

METHODEN

Stichprobe

Untersucht wurden die neurokognitiven Langzeitfolgen nach niedrigdosierter Belastung von Bootsbauern im Zusammenhang mit der Dauer der Tätigkeit und weiteren individuellen Faktoren (host factors). Die Tabelle 1 gibt Auskunft über die Expositionsdauer, die Lebensarbeitszeit, den Status Raucher versus Nichtraucher sowie das Alter der untersuchten Bootsbauer. Das Durchschnittsalter betrug 49 Jahre, die mittlere Styrolexpositionszeit lag bei 18 Jahren. Außerdem handelte es sich bei 5 von 17 Bootsbauern um Raucher. Es wurden bei einer unter betriebsärztlicher Überwachung stehenden Gruppe von Bootsbauern neben psychosozialen und berufsbiografischen Angaben biologische und neuropsychologische Parameter bestimmt. Hierzu gehörten:

- die Berufsanamnese,
- Lebensstil einschließlich psychosozialer Faktoren,
- Zytogenetik (Chromosomenaberrationen, DNA und Reparaturfähigkeit; siehe den Beitrag von Oberheitmann in diesem Band),

- Genetische Polymorphismen (Glutathion-S-Transferase M1, T1, Epoxidhydro-lase; siehe den Beitrag von Oberheitmann in diesem Band),
- Neuropsychologische Diagnostik.

Tabelle 1:

Probanden der neuropsychologischen Untersuchung (N = 17).

<i>Proband</i>	<i>Alter</i>	<i>Raucher</i>	<i>Lebensarbeitszeit (in Jahren)</i>
1	43	Nein	22,5
4	39	Nein	12,88
8	29	Nein	8,5
10	47	Nein	15,86
15	70	Nein	29
16	70	Nein	23
17	64	Nein	32
18	69	Nein	21
19	68	Ja	30
21	29	Ja	3
23	60	Nein	34
26	29	Ja	3
27	41	ja	5,66
28	32	Nein	4,04
34	63	nein	47,75
47	32	?	1,25
48	42	ja	7,4

Anmerkung: Mittleres Alter = 49 Jahre, mittlere Styrolexpositionszeit = 18 Jahre

Neuropsychologische Diagnostik

Bei der neuropsychologischen Untersuchung wurden die vier in Tabelle 2 aufgeführten Funktionsbereiche unterschieden. Für alle angewandten Testverfahren liegen altersbezogene Normen vor, so dass eine alters- und bildungsstandunabhängige Beurteilung der Untersuchungsergebnisse möglich ist.

Tabelle 2:**Neurokognitive Funktionen und angewandte neuropsychologische Testverfahren.**

<i>Funktionsbereich</i>	<i>Neuropsychologische Testverfahren</i>
Aufmerksamkeit	Testbatterie zur Aufmerksamkeitsprüfung (TAP): <ul style="list-style-type: none">• Untertest »Alertness«,• Untertest »geteilte Aufmerksamkeit«,• Untertest »Go/NoGo«
Visuelle Wahrnehmung	Testbatterie zur Aufmerksamkeitsprüfung (TAP): <ul style="list-style-type: none">• Untertest »Visuelles Scanning« Hamburg-Wechsler Intelligenztest für Erwachsene (HAWIE-R): <ul style="list-style-type: none">• Untertest »Bilderergänzen«,• Untertest »Mosaik-Test«,• Untertest »Figuren legen«,• Untertest »Zahlen-Symbol-Test«
Merkfähigkeit und Gedächtnis	Testbatterie zur Aufmerksamkeitsprüfung (TAP): <ul style="list-style-type: none">• Untertest »Arbeitsgedächtnis« Hamburg-Wechsler Intelligenztest für Erwachsene (HAWIE-R): <ul style="list-style-type: none">• Untertest »Zahlen nachsprechen« Diagnostikum für Cerebralschädigung (DCS) Auditiv-Verbaler Lerntest (AVLT)
Sprache	Hamburg-Wechsler Intelligenztest für Erwachsene (HAWIE-R): <ul style="list-style-type: none">• Untertest »Wortschatz-Test«• Untertest »Allgemeines Verständnis«• Untertest »Allgemeines Wissen«• Untertest »Gemeinsamkeiten finden«

Zusätzlich wurde eine Selbsteinschätzung über den Grad der Beeinträchtigung durch die Probanden mit Hilfe des aus 16 Fragen bestehenden Fragebogens Q16 durchgeführt. Dieser Fragebogen soll zum Screening von Funktionsbeeinträchtigungen eingesetzt werden.

ERGEBNISSE

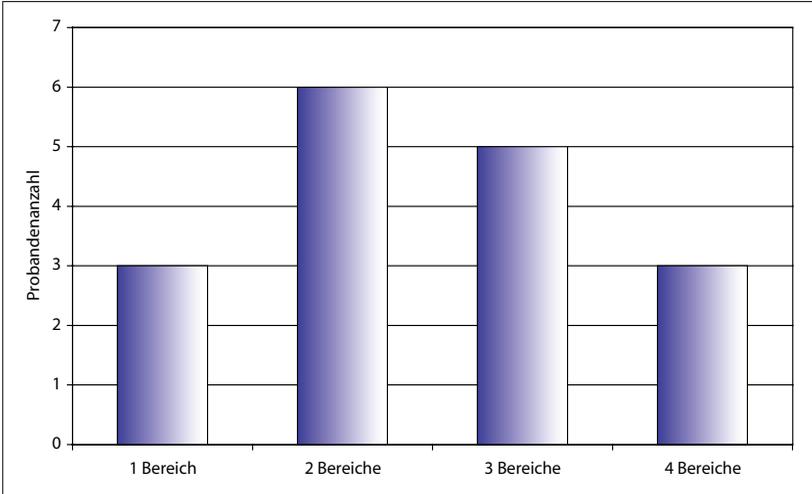
Ausmaß neuropsychologischer Störungen (Anzahl gestörter Funktionen)

Wie in Abbildung 1 zu sehen ist, waren von den 17 getesteten Probanden 3 in einem, 6 in zwei, 5 in drei und sogar 3 in allen vier Funktionsbereichen beeinträchtigt. Keiner der Probanden zeigte sich als in allen erhobenen Funktionsbereichen unauffällig. Als auffällig in einem Funktionsbereich wurde ein Proband eingestuft, wenn er in mindestens einem der oben genannten Testverfahren einen Prozentrang unterhalb von 16 erzielte. Im Vergleich dazu erbrachte die Selbsteinschätzung mit Hilfe des den Fragebogens Q16 lediglich in 3 von 17 Fällen einen auffälligen Score, so dass davon ausgegangen werden kann, dass auch neuropsychologisch gestörte Probanden das eigene Leistungsvermögen als nicht beeinträchtigt einschätzen, dass heißt, dass ihre Einschätzung nicht mehr ausreichend realitätsbezogen vorgenommen werden kann. Eine weitere Analyse ergab, dass von den 3 Probanden mit einem auffälligen Q 16-Score jeweils eine Person in zwei, drei oder vier neuropsychologischen Funktionsbereichen beeinträchtigt war. Dieses Ergebnis bedeutet, dass die drei im Q16 auffälligen Probanden nicht durchgängig zu den tatsächlich am schwersten beeinträchtigten Personen gehörten, oder dass umgekehrt sich das tatsächliche Ausmaß der neuropsychologischen Störungen nicht in der Selbsteinschätzung des Q16 widerspiegelt. Daraus kann gefolgert werden, dass selbst die nachweislich am schwersten gestörten Probanden mit diesem Selbsteinschätzungsinstrument nicht zuverlässig identifiziert werden können. Ein Screening möglicher Funktionsbeeinträchtigungen mit dem Q 16 ist daher wenig aussagekräftig.

Aufgrund der Erfahrungen in Italien haben Smargiassi et al. (1998) ebenfalls einen mangelnden prädiktiven Wert des Q 16 festgestellt.

Abbildung 1:

Anzahl der Probanden nach beeinträchtigten Funktionsbereichen



Art der neuropsychologischen Funktionsstörungen

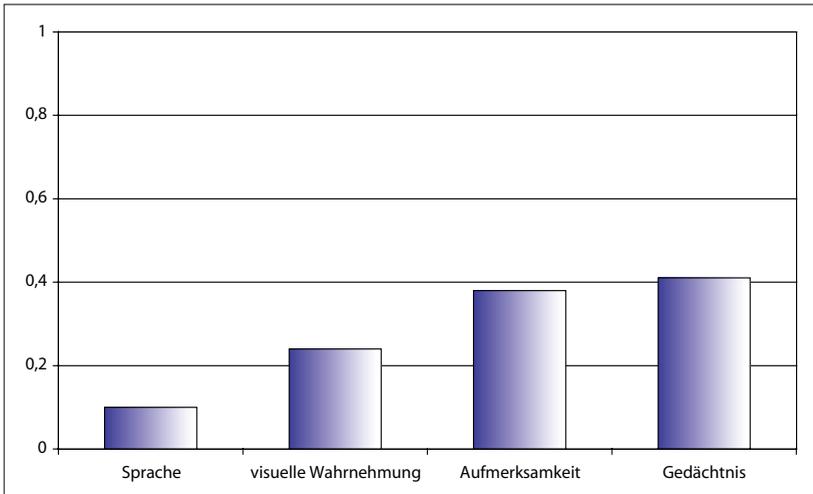
Um die Stärke der neuropsychologischen Störungen je Funktionsbereich zu bestimmen, wurde die Anzahl der auffälligen Testergebnisse ($PR < 16$) je Funktionsbereich ermittelt und mit der Gesamtzahl der angewandten Testverfahren je Funktionsbereich gewichtet.

Wie aus Abbildung 2 zu entnehmen ist, konnten für die untersuchten Funktionsbereiche folgende Ergebnisse ermittelt werden:

- Die höchste Störungsstärke zeigte sich im Bereich der *Merkfähigkeit*,
- die zweithöchste Störungsstärke wurde im Bereich der *Aufmerksamkeit* gefunden,
- als Bereich mit der drithöchsten Störungsstärke erwies sich die *visuelle Wahrnehmung*.

Die *sprachlichen Funktionen* erwiesen sich als weitgehend expositionsresistent.

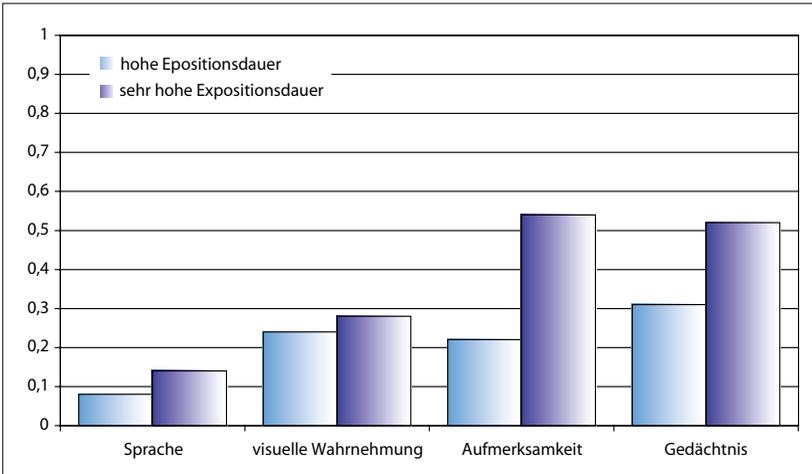
Abbildung 2:
Stärke der neuropsychologischen Störungen in den verschiedenen Funktionsbereichen



Abhängigkeit der neuropsychologischen Funktionsstörungen von der Dauer der Exposition

1. Es zeigte sich tendenziell für *alle* Funktionsbereiche eine stärkere Ausprägung neuropsychologischer Störungen für die länger exponierten Probanden.
2. Bei den länger exponierten Probanden zeigen sich besonders ausgeprägte Beeinträchtigungen in den Bereichen *Merkfähigkeit* und *Aufmerksamkeit* (siehe Abbildung 3).

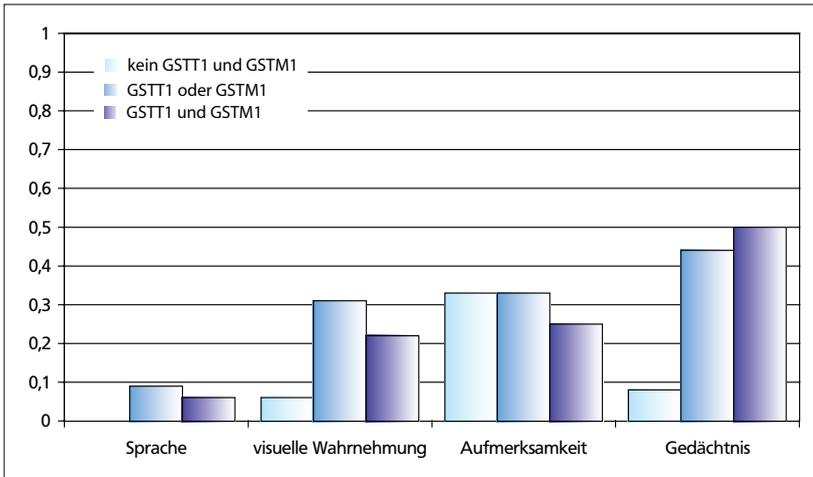
Abbildung 3:
Stärke der neuropsychologischen Störung je Funktionsbereich in Abhängigkeit von der Expositionsdauer



Abhängigkeit der Störungsstärke durch den Genotyp (GSTT1 bzw. GSTM1)

1. Träger von GSTT1 und/oder GSTM1 weisen stärkere neuropsychologische Störungen auf als Nicht-Träger.
2. Bei Trägern von GSTT1 und/oder GSTM1 zeigen sich die Beeinträchtigungen vor allem in den Bereichen *visuelle Wahrnehmung* und *Merkfähigkeit*.
3. Der Genotyp scheint auf die *Aufmerksamkeit* keinen Einfluss zu haben (siehe Abbildung 4).

Abbildung 4:
Stärke der neuropsychologischen Störung je Funktionsbereich in Abhängigkeit vom Genotyp



ZUSAMMENFASSUNG

Die Hypothese 1 konnte bestätigt werden: Nach Styrolexposition lassen sich deutlich und altersunabhängig neuropsychologische Störungen nachweisen. Die höchste Störungstärke zeigte sich für mnestiche Funktionen (Gedächtnis und Merkfähigkeit) und für Aufmerksamkeitsstörungen. Kein Pb. war neuropsychologisch ungestört. Im Vergleich zur Selbsteinschätzung (Fragebogen) erweisen sich psychometrische Untersuchungen in Bezug auf neuropsychologische Funktionsstörungen als aussagefähiger.

Die Hypothese 2 konnte ebenfalls bestätigt werden: Es zeigt sich tendenziell für alle Funktionsbereiche eine stärkere Störung für die länger exponierten Probanden, wobei hier die stärkere Beeinträchtigung der (altersunabhängigen) Gedächtnis- und Merkfähigkeitsleistungen besonders auffällig ist.

Auch die Hypothese 3 konnte bestätigt werden: Träger von GSTT1 und/oder GSTM1 weisen stärkere neuropsychologische Störungen auf als Nicht-Träger. Deutliche Unterschiede ergeben sich für die visuelle Wahrnehmung und die Merkfähigkeit. Dagegen scheint der Genotyp keinen Einfluss auf die Aufmerksamkeitsfunktionen zu haben.

In methodologischer Hinsicht lassen sich die Ergebnisse dieser Pilotstudie folgendermaßen zusammenfassen: Im Vergleich zur Selbsteinschätzung (Fragebogen) erweisen sich psychometrische Untersuchungen in Bezug auf neuropsychologische Funktionsstörungen als aussagefähiger (vgl. auch Smargiassi et al., 1998). Neuropsychologische Screening-Verfahren für dringend notwendige Folgeuntersuchungen an größeren Kollektiven sollten sich auf die Funktionsbereiche Merkfähigkeit, Aufmerksamkeit und visuelle Wahrnehmung konzentrieren.

DISKUSSION

Die Untersuchung von 17 unterschiedlich lange mit Styrol exponierten Bootsbauern zeigt, dass es bei *allen* Untersuchten zu neuropsychologischen Störungen gekommen ist. Die Störungsstärke ist abhängig von der Expositionsdauer. Eine längere Dauer führt zu einem ausgeprägteren neuropsychologischen Störungsbild. Bei fehlendem GSTT1- und GSTM1-Genotyp zeigen sich deutlich geringer ausgeprägte neuropsychologische Störungen.

Insgesamt ist jedoch die hier untersuchte Gruppe noch zu klein, um verlässliche Aussagen machen zu können. Weitere Untersuchungen sind dringend notwendig und sollen folgen, um die schwedischen Ergebnisse abzuklären (Söderkvist et al., 1996). Insbesondere wäre der sich im Vergleich mit den Daten von Oberheitmann (in diesem Band) abzeichnende Befund zu untersuchen, ob »schlechtere Metabolisierer« eher an Krebs erkranken und »bessere Metabolisierer« stattdessen eher an neurotoxisch hervorgerufenen neuropsychologischen Funktionsbeeinträchtigungen leiden. Wäre dies der Fall, so könnte davon ausgegangen werden, dass eine Exposition mit Styrol in nahezu allen Fällen eine Schädigung mit Krankheitswert hervorruft und die unterschiedlichen Krankheitsauswirkungen auf den jeweiligen Genotyp zurückzuführen sind. Dies könnte auch die Vielfalt der auftretenden Krebserkrankungen sowie der klinischen Symptomatik insgesamt erklären.

DANKSAGUNG

An dieser Stelle möchten wir den Mitarbeitern, insbesondere Herrn Claus Jacobs, für die Feldarbeiten bei der Durchführung der neuropsychologischen Testungen sowie für Datenaufbereitung und Auswertungen, danken.

LITERATUR

- Brinkmann, E, Gartzke, J, Kaul, G & Zeller, H-J (1999). Beziehung zwischen Expositions- und Screeningparametern bei Styrol-Exponierten der kunststoffverarbeitenden Industrie. *Dokumentationsband der 39. Jahrestagung der DGAM. Wiesbaden.*
- Edling, C, Anundi, H, Johanson, G, et al. (1993). Increase in neuropsychiatric symptoms after occupational exposure to low levels of styrene. *BrJIndMed, 50, 843-850.*
- Frentzel-Beyme, R, Heubrock, D, Hoffmann, W, Jacobs, C, Oberheitmann, B, Schnakenberg, E: Unterschiede der individuellen Gesundheitsgefährdung durch Lösungsmittel – eine neuropsychologische Pilotstudie bei styrolexponierten Bootsbauern. Poster, 2. Symposium Medizinische Forschung und Gesundheitswissenschaften, Bremen, 30.11.-1.12.2001
- Lindström, K, Kärkönen, H, Hernberg, S (1976). Disturbances in psychological functions of workers occupationally exposed to styrene. *ScandJWorkEnvironHealth, 3, 129-139.*
- Smargiassi, A, Bergamaschi, E, Mutti, A, Cella, MT (1998). Predictive value of the Q16 questionnaire: A comparison between reported symptoms and neurobehavioral tests. *Neurotoxicology, 19, 703-708.*
- Söderqvist, P, Ahmadi, A, Akerbäck, A et al. (1996). Glutathion-S-Transferase M1 null genotype as a risk modifier for solvent-induced chronic toxic encephalopathy. *ScandJWorkEnvironHealth, 22, 360-363.*
- Zeller, H-J, Brinkmann, E & Gartzke, J (2000). Styroleinflüsse auf Parameter der bioelektrischen Hirnaktivität (EEG, EP) bei Exponierten aus der kunststoffverarbeitenden Industrie. *Dokumentationsband der 40. Jahrestagung der DGAM. Berlin.*

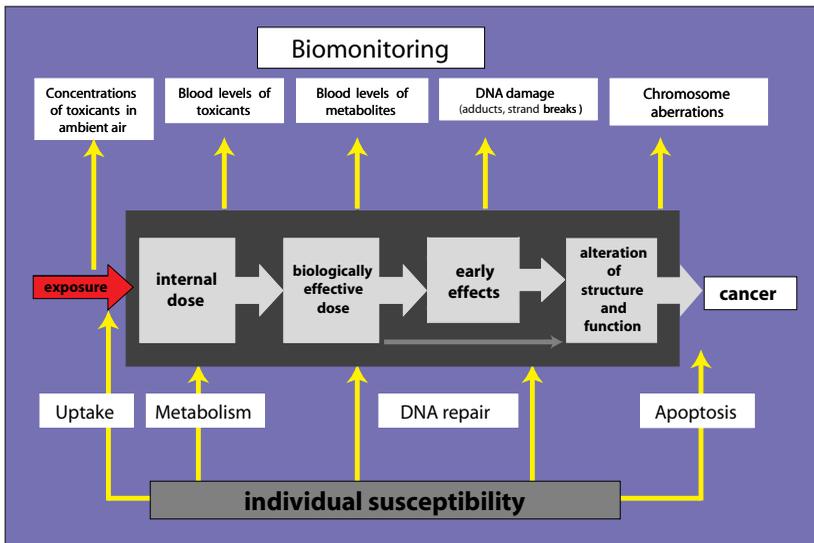


PILOTSTUDIE ZUR DNA REPARATURFÄHIGKEIT BEI STYROLEXPONIERTEEN BOOTSBAUERN MIT DEM CHALLENGE ASSAY

Boris Oberheitmann¹

Im folgenden werden die Ergebnisse einer Pilotstudie mit styrolexponierten Bootsbauern dargestellt, die, darauf muss hingewiesen werden, den Charakter vorläufiger Ergebnisse haben. Die Details der Studie und die Ergebnisse sind in einer Publikation (Oberheitmann *et al.*, 2001) dargestellt, die im Anhang zu diesem Reader zu finden ist.

Abbildung 1: Modell der expositionsbedingten Karzinogenese

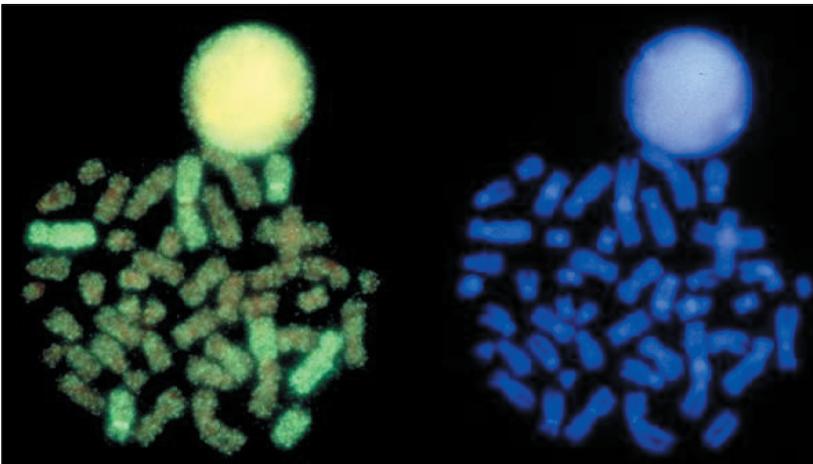


1 Zentrum für Umweltforschung und Umwelttechnologie (UFT), Universität Bremen

Die Abbildung beschreibt die Prozesse, die von einer Exposition zur Krebserkrankung führen können. Deutlich wird auch, an welcher Stelle die individuelle Suszeptibilität in diese Prozesse eingreifen kann. In der vorliegenden Pilotstudie wurde besonders die DNA Reparatur betrachtet. Darüber hinaus wurden die styrolmetabolisierenden Enzyme GST M1 und GSTT1 sowie zwei Mutationen der Epoxidhydrolase untersucht. Die Ergebnisse werden wegen der geringen Größe der untersuchten Gruppe aber hier nicht dargestellt und diskutiert.

Endpunkte für die Betrachtung der DNA Reparaturfähigkeit war die Chromosomenaberrationsanalyse mit der Fluoreszenz-*in-situ*-Hybridisierung (FISH) und einem sogenannten Challenge Assay mit FISH.

Abbildung 2: Fluoreszenzmikroskopische Aufnahme einer Metaphase menschlicher Lymphozyten mit einem dizentrischen Chromosom nach Fluoreszenz-*in-situ*-Hybridisierung mit Paintingsonden für die Chromosomen 1, 4 und 12 und Zentromerfärbung der gleichen Zelle mit dem DNA-Farbstoff DAPI



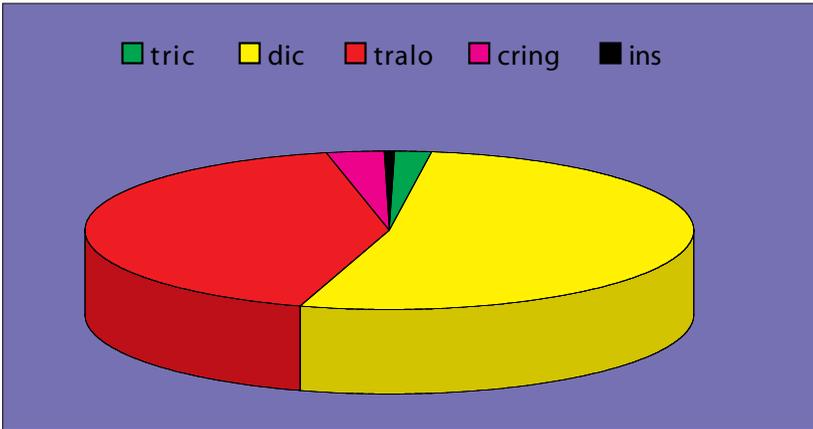
Für die Induktion von sog. stabilen Austauschaberrationen wird ein ähnlicher biophysikalischer Mechanismus angenommen wie für dizentrische Chromosomen. Sie persistieren sehr lange in den Lymphozyten. In den 90er Jahren konnten noch stabile Translokationen bei Überlebenden des Atombombenabwurfs über Hiroshima 1945 nachgewiesen werden (Lucas *et al.*, 1992). Die Analyse von Translokationen, die als Austauschaberrationen vom Chromosomen-Typ angesehen wer-

den können, war jedoch lange Zeit nur durch aufwendige Bänderungsanalysen realisierbar. Die schnelle Detektion von Translokationen, wie auch von unstabilen Chromosomenaberrationen, ist durch die Entwicklung von DNA-Bibliotheken möglich geworden, die Restriktionsfragmente von einzelnen Chromosomen enthalten, die durch Flow Cytometrie sortiert wurden (Pinkel et al., 1988; Collins et al., 1991).

Metaphasenpräparate aus Lymphozytenkulturen werden bei der FISH-Technik mit den gesamten markierten DNA-Bibliotheken hybridisiert und anschließend mit Hilfe von fluoreszenzmarkierten Antikörpern detektiert. So können einzelne Chromosomenpaare spezifisch angefärbt werden und eine Aberration, an der diese Chromosomen beteiligt sind, fluoreszenzmikroskopisch nachgewiesen werden (»chromosome painting«). Spezifisch gefärbte Chromosomen lassen sich im Fluoreszenzmikroskop von unmarkierten unterscheiden, indem letztere mit einem unspezifischen DNA-Fluoreszenzfarbstoff in einer anderen Farbe gegengefärbt werden (z.B. mit Propidium Iodid). Translozierte Abschnitte markierter Chromosomen werden anhand ihrer Farbe leicht auf den unspezifisch gefärbten Chromosomen erkennbar. Um mit den eingesetzten DNA-Sonden einen relevanten Teil des Genoms abzudecken, werden in der Regel mehrere große Chromosomen gleichzeitig angefärbt, so dass insgesamt ca. 20 % des Genoms repräsentiert werden. Die beobachtete Aberrationsfrequenz kann nach einer Formel von (Lucas et al. Lucas, Awa, Straume, Poggensee, Kodama, Nakano, Ohtaki, Weier, Pinkel, and Gray, 1992) einfach auf das gesamte Genom hochgerechnet werden.

Analysiert werden bei der FISH-Methode ausschließlich Metaphasen, die alle spezifisch markierten Chromosomen enthalten. Da mit FISH somit nicht mehr 46 Chromosomen pro Zelle begutachtet werden, sondern in der Regel höchstens sechs, verringert sich die Analysedauer im Vergleich zur konventionellen Aberrationsanalyse erheblich. Dies macht FISH für die Anwendung im Bereich des Biomonitorings in umfangreichen Kohorten grundsätzlich interessant. Durch den Einsatz der FISH Technik kann das Spektrum der zu beobachteten Chromosome-aberrationen erweitert werden.

Abbildung 3: Chromosomentyp Aberrationen, die mit FISH detektierbar sind
Translokationen (tralo), multizentrische Chromosomen(dic, tric), Ringchromosomen (cring) und Insertionen (ins).

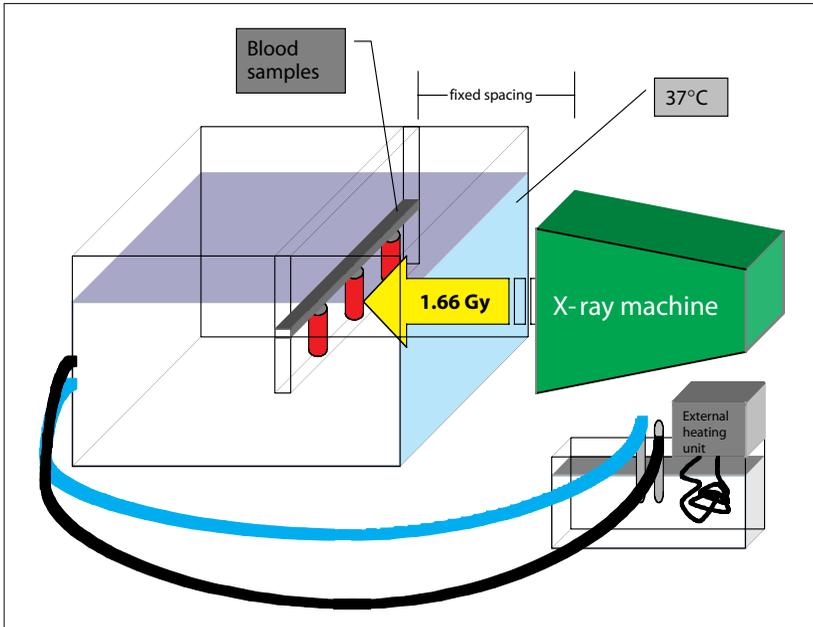


Da das Vorkommen von Chromosomenaberrationen mit einem erhöhten Risiko verbunden ist, an Krebs zu erkranken, stellen sie einen besonders interessanten »vorgezogenen Endpunkt« in epidemiologischen Studien dar (sog. prädiktiver Endpunkt); (Hagmar *et al.*, 1994; Bonassi *et al.*, 1995, Bonassi *et al.*, 2000) Nordische Kohorte (odds ratio, 2.35; 95% CI, 1.31-4.23), Italienische Kohorte (odds ratio, 2.66; 95% CI, 1.26-5.62).

Austauschaberrationen haben sich als noch stärker mit einem erhöhten Krebsrisiko verbunden gezeigt. Für eine Gruppe von Individuen mit mehr als 1 % Chromosomentypaberrationen in den beobachteten Zellen war das Risiko 12.0-fach höher (Liou *et al.*, 1999).

Die Ergebnisse der Chromosomenaberrationsanalyse sind in der Publikation im Anhang (Oberheitmann, B. et al., 2001) nachzulesen. Da Austauschaberrationen nahezu ausschließlich von ionisierender Strahlung induziert werden, sind die gefundenen Aberrationen nicht als direkte mutagene Effekte der Wirkung des Styrols zu sehen, sondern eher durch andere Mechanismen wie ein Einfluss auf die DNA-Reparatur bewirkt.

Abbildung 4: Schematische Darstellung der Bestrahlungsanordnung für die in vitro Bestrahlung



Noch deutlicher kann eine Beeinträchtigung der DNA Reparatur mit dem Challenge Assay beobachtet werden (Abb. 4). Menschlichen Lymphozyten wird hierbei eine Reparaturaufgabe gestellt (Röntgenbestrahlung) und die Reparaturfähigkeit anhand der Chromosomenaberrationsrate bestimmt.

Der Challenge Assay misst nicht, wie z.B. der UDS-Assay, eine fehlende oder verminderte Reparatur, sondern eine fehlende oder verminderte Genauigkeit der Reparatur, da Chromosomenaberrationen das Resultat von aktiven Reparaturprozessen sind, bei denen jedoch falsche Enden der DNA Doppelhelix zusammengefügt werden.

Die Ergebnisse der Studie mit dem Challenge Assay sind ebenfalls in der Publikation nachzulesen.

LITERATUR

- Bonassi, S., Abbondandolo, A., Camurri, L., Dal Pra, L., De Ferrari, M., Degrassi, F., Forni, A., Lamberti, L., Lando, C., and Padovani, P. (1995). Are chromosome aberrations in circulating lymphocytes predictive of future cancer onset in humans? Preliminary results of an Italian cohort study. *Cancer Genet Cytogenet* **79**, 133-135.
- Bonassi, S., Hagmar, L., Stromberg, U., Montagud, A. H., Tinnerberg, H., Forni, A., Heikkila, P., Wanders, S., Wilhardt, P., Hansteen, I. L., Knudsen, L. E., and Norppa, H. (2000). Chromosomal aberrations in lymphocytes predict human cancer independently of exposure to carcinogens. European Study Group on Cytogenetic Biomarkers and Health. *Cancer Res* **60**, 1619-1625.
- Collins, C., Kuo, W. L., Segraves, R., Fuscoe, J., Pinkel, D., and Gray, J. W. (1991). Construction and characterization of plasmid libraries enriched in sequences from single human chromosomes. *Genomics* **11**, 997-1006.
- Hagmar, L., Brogger, A., Hansteen, I. L., Heim, S., Hogstedt, B., Knudsen, L., Lambert, B., Linnainmaa, K., Mitelman, F., and Nordenson, I. (1994). Cancer risk in humans predicted by increased levels of chromosomal aberrations in lymphocytes: Nordic study group on the health risk of chromosome damage. *Cancer Res* **54**, 2919-2922.
- Liou, S. H., Lung, J. C., Chen, Y. H., Yang, T., Hsieh, L. L., Chen, C. J., and Wu, T. N. (1999). Increased chromosome-type chromosome aberration frequencies as biomarkers of cancer risk in a blackfoot endemic area. *Cancer Res* **59**, 1481-1484.
- Lucas, J. N., Awa, A., Straume, T., Poggensee, M., Kodama, Y., Nakano, M., Ohtaki, K., Weier, H. U., Pinkel, D., and Gray, J. (1992). Rapid translocation frequency analysis in humans decades after exposure to ionizing radiation. *Int J Radiat Biol* **62**, 53-63.
- Oberheitmann, B., Frentzel-Beyme, R., and Hoffmann, W. (2001). An application of the challenge assay in boat builders exposed to low levels of styrene – a feasibility study of a possible biomarker for acquired susceptibility. *Int J Hyg Environ Health* **204**, 23-29.
- Pinkel, D., Landegent, J., Collins, C., Fuscoe, J., Segraves, R., Lucas, J., and Gray, J. (1988). Fluorescence in situ hybridization with human chromosome-specific libraries: detection of trisomy 21 and translocations of chromosome 4. *Proc Natl Acad Sci U S A* **85**, 9138-9142.

BEZIEHUNG ZWISCHEN EXPOSITIONS- UND SCREENING- PARAMETERN BEI STYROL- EXPONIERTEN DER KUNSTSTOFFVERARBEITENDEN INDUSTRIE

Dr. Elke. Brinkmann¹

H.-J. Zeller²

EINLEITUNG

Ergebnisse von Screeninguntersuchungen mittels Fragebögen zu Wirkungen von Styrol-Expositionen unterhalb des MAK-Wert-Bereiches werden hinsichtlich der möglichen Spätwirkungen neurotoxischer Gefahrstoffe am Nervensystem, insbesondere am Gehirn vorgestellt. In der systematischen Erfassung neurotoxischer Effekte im Rahmen der arbeitsmedizinischen Vorsorgeuntersuchungen bestehen Defizite. Die kosten- und zeitintensive klinische und apparative Diagnostik kommt für ein Screeningverfahren nicht in Frage. In Anbetracht der Belastung der Beschäftigten unter Kosten-Nutzen Gesichtspunkten sollen Beschwerdefragebögen als Siebteste geprüft werden. Nur der Berufsgenossenschaftliche Grundsatz für arbeitsmedizinische Vorsorge G 45 Styrol empfiehlt die Anwendung von Screeningfragebögen. Ziel der Studie ist es gewesen, ein optimiertes Screening-Programm für die arbeitsmedizinische Vorsorgeuntersuchung bei Styrol-Exponierten zu schaffen.

MATERIAL UND METHODEN

Die 29 Probanden waren in der Weiterverarbeitung styrolhaltiger Polyesterharze exponiert. Die detaillierten Charakteristika gehen aus Tabelle 1 hervor.

1 Bundesministerium für Arbeit und Sozialordnung, Bonn

2 Bundesanstalt für Arbeitsschutz und Arbeitsmedizin, Berlin

Tab. 1: Stichprobencharakteristika

	<i>Gesamt- gruppe n = 29 Mittelwert ± SD</i>	<i>Hoch- Exponierte n = 17 Mittelwert ± SD</i>	<i>Niedrig- Exponierte n = 12 Mittelwert ± SD</i>	<i>Unterschied Signifikanz nach Mann- Whitney U-Test</i>
Expositionszeit (J)	23.8 ± 8.2	24.6 ± 7.6	22.7 ± 9.2	p = 0.563
Exposition (Styrol mg/m ³)	36.4 ± 20.6	52.2 ± 8 > 45	14.1 ± 8 < 45	
Alter (J)	44.6 ± 6.4	44.7 ± 6.1	44.4 ± 7.0	p = 0.911
Intelligenzquotient (MWT)	99 ± 15	102 ± 13	93 ± 15	p = 0.121
Alkohol (drinks/Tag)	1.25 ± 1.5	1.19 ± 1.4	1.33 ± 1.7	p = 0.874
Rauchstatus (Packungsjahre)	10.6 ± 10.5	8.2 ± 9.8	13.98 ± 10.99	p = 0.094

Alle 29 Beschäftigten der Polyesterharzverarbeitung wurden mit den Psychologisch-Neurologischen Screeningfragebögen PNF I (Berlin) [Seeber et al., 1978], PNF II (Dortmund) [Sietmann et al., 1996] und dem Q18 sowie zur Klärung einer neurotoxischen Schädigung mit einem Hintergrundprogramm untersucht. Letzteres bestand aus einer ausführlichen psychodiagnostischen, neurophysiologischen, neurologischen und internistischen Untersuchung.

ERGEBNISSE

Bei der Expositionsbeurteilung ergeben sich Schichtmittelwerte von 36 ± 20 mg/m³ Styrol (8 – 65 mg/m³), im durchgeführten Biomonitoring ist ein Summenwert für Mandelsäure und Phenylglyoxylsäure bei Schichtende von 395 ± 278 mg/g Kreatinin (35 – 1001 mg/g) gemessen worden.

Zwischen der aktuellen airmonitorischen Belastung – nicht jedoch der Gesamtexposition über die gesamte Arbeitszeit – und den mit dem den Fragebögen PNF beurteilten Funktionsbereichen: Antrieb, psycho-neurovegetative Beschwerden, neurologische Symptome, spezielle Symptome und Gesamtpunktwert findet sich eine signifikante Korrelation ($p < 0,05$) wie in Tabelle 2 aufgezeigt.

Mit dem Q 16 hat sich keine signifikante Korrelation zur Exposition nachweisen lassen.

Tab. 2 Beziehung PNF-Skalen-Airmonitoring

	Spearman Korre- lations- Koeffizient	p =	Vergleich Höher/ Niedrig- exponierte Mann- Whitney U-Test p =
<u>PNF I</u>			
Antrieb	0.453	0.014	0.031
Erregbarkeit	0.044	(0.820)	(0.650)
Konzentration	0.078	(0.687)	(0.150)
Neurologische Symptome	0.387	0.038	(0.063)
Psycho-neurovegetative Beschwerden	0.481	0.008	0.029
Gesamtpunktwert	0.456	0.013	0.013
<u>PNF II</u>			
Antrieb	0.318	(0.092)	(0.326)
Erregbarkeit	0.114	(0.557)	(0.449)
Konzentration	0.078	(0.687)	(0.150)
Neurologische Symptome	0.421	0.023	(0.076)
Psycho-neurovegetative Beschwerden	0.488	0.007	0.028
Spezielle Symptome	0.472	0.010	0.022
Gesamtpunktwert	0.550	0.002	0.009
Q16	0.161	0.403	0.370

Abb. 1: Beziehung PNF II Gesamtpunktwert zur Exposition

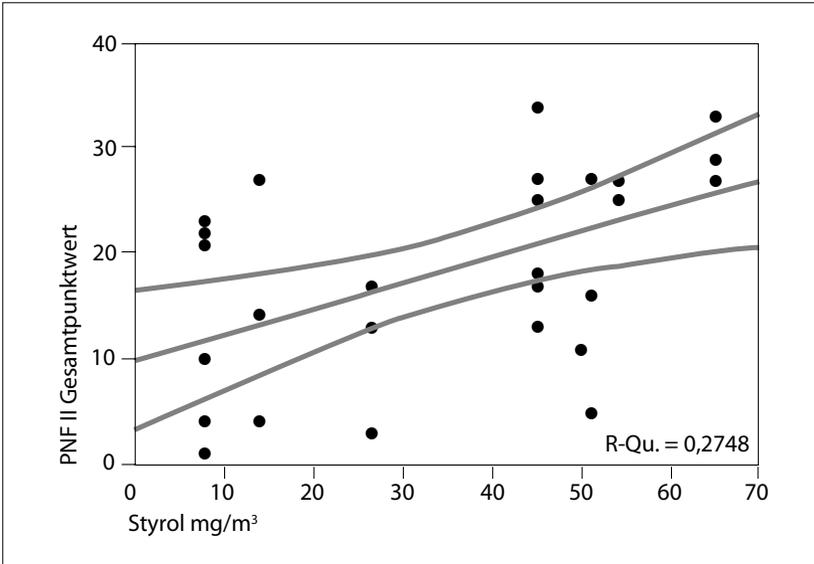
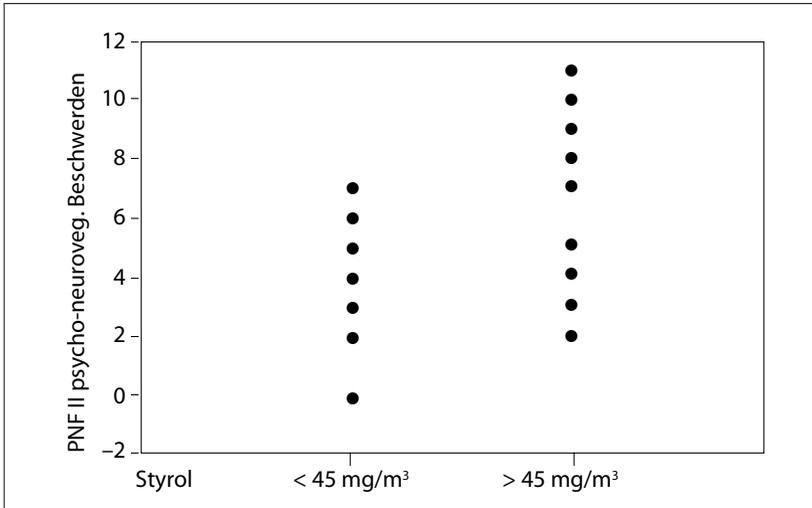


Abbildung 1 stellt die Korrelation von PNF II Gesamtpunktwert zur Exposition dar.

Diese Ergebnisse bestätigen sich auch im Vergleich der höher und niedriger exponierten Gruppe (Styrol < 45 mg und > 45 mg/m³ Luft) im Mann-Whitney U-Test bis auf die N-Skalen wie in Tabelle 2 zusammengefasst.

Abb. 2: Vergleich PNF II psycho-neurovegetative Beschwerden zu den Expositionsgruppen



Exemplarisch stellt Abbildung 2 den PNF II psycho-neurovegetative Beschwerden im Vergleich der beiden Expositionsgruppen dar. Die höher Exponierten haben signifikant erhöhte Werte.

Der durch die Fragebögen ausgewiesene Verdacht auf neurotoxische Störeinflüsse ist durch das Hintergrundprogramm überwiegend bestätigt worden. Die Vorhersage nach dem PNF I bietet eine Trefferquote von 72,4 % bei 3 Fehlklassifikationen und 5 Kontrollfällen. Beim PNF II liegt die Trefferquote bei 68,9 % mit 4 Fehlklassifikationen und 5 Kontrollfällen.

Tab. 3: Befunde des PNF I (PNF II) in Relation zu den psycho-neurovegetativen Untersuchungsbefunden

Psychodiagnostik	Nicht Auffällig	nicht entschieden (Kontrolle erforderlich)	Verdacht auf Erworbene Schädigung	Summe
PNF-I (PNF-II)				
Nicht auffällig	19 (18)	5 (4)	2 (3)	26 (25)
Auffällig	1 (1)	0 (1)	2 (2)	3 (4)
Summe	20(19)	5 (5)	4 (5)	29 (29)

Unter Berücksichtigung der bereits ausgewerteten neurologischen Zusatzuntersuchungen zeigen sich bei 9 Probanden keine Hinweise auf neurologisch-psychiatrische Erkrankungen oder subklinischen Veränderungen vor. Für 12 Untersuchte ergibt sich ein Hinweis auf eine styrolinduzierte Ursache der gefundenen subklinischen oder klinischen Polyneuropathie. Die gefundenen Veränderungen begründen jedoch in keinem Fall eine Berufskrankheit.

Diese Ergebnisse werden unterstützt durch biologisch plausible Beziehungen zwischen Expositionsdaten und neurophysiologischen Parametern und werden bestätigt durch Publikationen von Chekoway et al., 1992; Edling et al., 1992; Flodin et al., 1989; Mergler et al., 1996 oder Tsai und Chen, 1996.

SCHLUSSFOLGERUNGEN

- Auch unterhalb des derzeit gültigen Luftgrenzwertes von 85 mg/m² ist eine positive Korrelation zwischen der aktuellen Exposition und den in den Fragebögen PNF I und II erfassten Beschwerden und Befindlichkeitsstörungen nachweisbar.
- Die Psychologisch-Neurologischen Fragebögen eignen sich zur Erfassung neuro-toxischer Frühschäden.
- Die Fragebögen sollten Bestandteil der arbeitsmedizinischen Vorsorgeuntersuchungen sein.

LITERATUR

Checkoway, H.; Costa, L.G.; Camp, J.; Coccini, T.; Daniell, W.E.; Dills, R.L.: Peripheral markers of neurochemical function among workers exposed to styrene. Br. J. Ind. Med. 49 (1992) 560-565.

Edling, C.; Anundi, H.; Johanson, G.; Nilsson, K.: Increase in neuropsychiatric symptoms after occupational exposure to low levels of styrene. Br. J. Ind. Med. 50 (1993) 843-850.

Flodin, U.; Ekberg, K.; Andersson, L.: Neuropsychiatric effects of low exposure to styrene. Br. Ind. Med. 46 (1989) 805-808.

Mergler, D.; Huel, G. et al.: Surveillance of early neurotoxic dysfunction. Neuro Toxicology 17 (1996) 803-812.

- Sietmann, B.; Kiesswetter, E.; Zeller, H.J.; Seeber, A.: Untersuchung neurotoxisch verursachter Beschwerden: Die Standardisierung des Psychologisch-Neurologischen Fragebogens »PNF II«. Dtsch. Ges. Arbeitsmed. Umweltmed. 36 (1996) 365-366.
- Seeber, A.; Schneider, H.; Zeller, H.J.: Ein psychologisch-neurologischer Fragebogen (PNF) als Screeningmethode zur Beschwerdenerfassung bei neurotoxisch Exponierten. Probleme und Ergebnisse der Psychologie. 65 (1978) 23-43.
- Tsai, S.Y.; Chen, J.D.: Neurobehavioral effects of occupational to low-level styrene. Neurotoxicol. Teratol. 18 (1996) 464-469.

KONSEQUENZEN NEUROTOXISCHER EFFEKTE VON STYROL- EXPOSITIONEN UNTERHALB DER GESETZLICHEN GRENZWERTE

Dr. med. Michael Nasterlack¹

Auf der Veranstaltung sollten Ergebnissen aus Pilotstudien zur Neurotoxizität von Styrol präsentiert und Konsequenzen für die Praxis und für weiteren Forschungsbedarf abgeleitet werden.

Frau Dr. Brinkmann (BMA Bonn, BAuA Berlin) stellte vorläufige Ergebnisse aus einer Studie an styrolexponierten Arbeitern vor. Hier fanden sich Beziehungen zwischen der gemessenen Styrolexposition (somit Akuteffekte) und einigen Kategorien des psychologisch-neurologischen Fragebogens PNF. Der Fragebogen Q18 habe sich in dieser Untersuchung nicht als sensitiv erwiesen. Hierzu ist nach eigenen Untersuchungen mit diesem Instrument anzumerken, dass dieses auch nicht zu erwarten war. Der Q18 korreliert erfahrungsgemäß mit chronischer und nicht mit akuter Exposition gegenüber neurotoxischen Arbeitsstoffen (Nasterlack et al. 1997, Ihrig et al. 2001).

Herr PD Heubrock und Herr Prof. Frentzel-Beyme berichteten über Ergebnisse aus einer Pilotstudie (N = 17) an ehemals und weiterhin styrolexponierten Laminierern. Hier hätten sich in zunehmender Häufigkeit Effekte auf Sprachfähigkeit, visuelle Wahrnehmung, Aufmerksamkeit und Gedächtnis gezeigt. Kein einziger der Studienteilnehmer sei im Sinne der Referenzwerte der eingesetzten psychometrischen Testbatterie unauffällig gewesen. Eine Kontrollgruppe war nicht untersucht worden. Dazu ist kritisch anzumerken, dass, obwohl die eingesetzten Testverfahren altersstandardisiert sind, ein Effekt der langjährigen Styrolexposition nicht von einem Alterseffekt unterschieden werden kann. Bekanntlich korreliert gesundheitsförderlicher Lebensstil stark mit der soziokulturellen Schichtzugehörigkeit. Diese ist bei Laminierern erfahrungsgemäß nicht repräsentativ für die Gesamtbevölkerung. Es kann somit auch nicht davon ausgegangen werden, dass der Lebensstil von Laminierern mit dem der Referenzpopulation der Testkonstrukte vergleichbar war.

1 Arzt für Allgemein- und Arbeitsmedizin - Umweltmedizin

In der Diskussion dieser Ergebnisse wurde auch angesprochen, dass die beschriebenen Effekte, wenngleich mit subtilen neuropsychologischen Methoden messbar und quantifizierbar, wahrscheinlich nicht mit »Krankheit« gleichzusetzen sind (vgl. Nasterlack und Triebig 1994).

Herr Dr. Oberheitmann, Universität Bremen, berichtete ebenfalls über Ergebnisse aus dieser Pilotstudie (die untersuchten Personen waren allerdings nicht mit den erstgenannten identisch), bei denen die DNA-Reparaturkapazität, bestimmt in einem Challenge-Test, erniedrigt gefunden worden sei. Auch hier war nur ein Vergleich mit laboreigenen Referenzwerten möglich, über die Vergleichbarkeit der Probandengruppe mit der Referenzpopulation konnte keine Aussage getroffen werden.

Zusammenfassend ist festzustellen, dass die vorgestellten Pilotstudien sowohl aufgrund der sehr geringen Probandenzahlen als auch aufgrund der jeweils fehlenden Vergleichsgruppen nicht zuverlässig interpretierbar sind. Auch erlaubt die Auswahl der untersuchten Parameter keine Aussage über die klinische Relevanz der erhobenen Befunde für die untersuchten Personen. Die Art und das Ausmaß der vorgestellten Effekte liefert jedenfalls keinen Anlass, in den Betrieben der styrolverarbeitenden Industrie eine hohe Dunkelziffer von relevanten styrolbedingten Krankheitsfällen zu vermuten.

Weiterhin wurde der wissenschaftliche Kenntnisstand über die Auswirkungen einer langzeitigen arbeitsplatztypischen Styrolexposition kontrovers diskutiert.

Prof. Frentzel-Beyme gab einen summarischen Überblick über seine Interpretation des wissenschaftlichen Kenntnisstandes zu chronischen Styrolwirkungen. Hiernach seien neurotoxische Effekte bereits bei Expositionen um 12 ppm nachgewiesen (der MAK liegt derzeit bei 20 ppm). Die als Beleg hierfür zitierte Quelle Flodin et al. (1989) ist aber methodisch ausgesprochen schwach und kontrastiert in ihren Ergebnissen erheblich zu der restlichen Befundlage in der Literatur. Hiernach traten neuropsychologisch erfassbare Effekte überwiegend nach Styrolexpositionen über 30 bis 50 ppm oder höher auf. Eine Übersicht über die ältere Literatur findet sich bei Pethran (1993). Als neuere Arbeiten sei beispielsweise auf Viaene et al. (2001), Castillo et al. (2001) und Triebig et al. (2001) verwiesen.

Die weitere Diskussion machte deutlich, dass der derzeitige MAK-Wert von 20 ppm seit seiner Absenkung offenbar in weiten Bereichen der styrolverarbeitenden Industrie nicht eingehalten wird. Es bestand Einigkeit, dass vordringlich die Umsetzung technischer Maßnahmen zu fordern ist, die die Einhaltung der Luftgrenzwerte ermöglichen. Demgegenüber verliert die Frage, ob neurotoxische

oder andere Effekte einer Styrolbelastung bereits unterhalb des MAK-Wertes auftreten, an praktischer Bedeutung.

Zweifellos sind weitere Untersuchungen zu Effekten von Styrol auf das zentrale Nervensystem und modifizierende Einflüsse genetischer Polymorphismen auf diese Effekte von wissenschaftlichem Interesse. Eine dringliche Notwendigkeit, solche Untersuchungen wegen drohender erheblicher Gesundheitsgefahren vorrangig durchzuführen, ist jedoch nicht erkennbar. Solche Untersuchungen sollten außerdem künftig so geplant werden, dass sie durch Einbeziehung geeigneter Kontrollgruppen und ausreichend große Fallzahlen zu voraussichtlich validen Schlüssen führen können. Der Input weiterer Fachleute, die sich bereits früher mit der Styrolproblematik sowie neurotoxikologischen Fragestellungen besonders beschäftigt haben, ist bereits im Vorfeld einer solchen Studienplanung ratsam.

LITERATUR

- Castillo L, Baldwin M, Sassine M-P, Mergler D: Cumulative exposure to styrene and visual functions. *Am. J. Ind. Med.* 39 (2001), 351-360.
- Flodin U, Ekberg K, Andersson L: Neuropsychiatric effects of low exposure to styrene. *Br. J. Ind. Med.* 46 (1989), 805-808.
- Ihrig A, Triebig G, Dietz MC: Evaluation of a modified German version of the Q16 questionnaire for neurotoxic symptoms in workers exposed to solvents. *Occup. Environ. Med.* 58 (2001), 19-23.
- Nasterlack M, Triebig G: Increase in neuropsychiatric symptoms after occupational exposure to low levels of styrene. *Occup. Environ. Med.* 51 (1994), 286.
- Nasterlack M, Frank K-H, Hacke W, Scherg H, Schmittner H, Stelzer O, Zimmer A, Triebig G: Die Heidelberger Malerstudie der ARGE Bau. Multidisziplinäre Querschnittsstudie zu Wirkungen berufstypischer Arbeitsstoffbelastungen auf die Gesundheit langjährig tätiger Maler. *Arbeitsmed. Sozialmed. Umweltmed. Sonderheft 23* (1997), 1-79.
- Pethran A: Erkrankungen durch Styrol - eine neue Berufskrankheit. *Arbeitsmed. Sozialmed. Umweltmed.* 28 (1993), 534-540.
- Triebig G, Stark T, Ihrig A, Dietz MC: Intervention study on acquired color vision deficiencies in styrene-exposed workers. *J. Occup. Environ. Med.* 43 (2001), 494-500.

Viaene MK, Pauwels W, Veulemans H, Roels HA, Masschelein R: Neurobehavioural changes and persistence of complaints in workers exposed to styrene in a polyester boat building plant: influence of exposure characteristics and microsomal epoxide hydrolase phenotype. *Occup. Environ. Med.* 58 (2001), 103-112.

EXPOSITIONSHÖHE AN EINZELNEN STYROL- ARBEITSPLÄTZEN UND DIE ZAHL DER BERUFSEKRANKUNGEN

Dr. Wolfgang Huber¹

Im Zuständigkeitsbereich der Berufsgenossenschaft der chemischen Industrie sind zahlreiche styrolverarbeitende Betriebe mit Arbeitsplätzen, an denen Styrol beim Herstellen von Formteilen offen gehandhabt wird, versichert. Im Rahmen der Aufsichtstätigkeit werden bei begründetem Verdacht auf Grenzwertüberschreitungen orientierende Messungen der Styrolkonzentration in der Luft am Arbeitsplatz vom messtechnischen Dienst vorgenommen. An Arbeitsplätzen mit Laminierarbeiten von Hand können zeitweilig Grenzwertüberschreitungen festgestellt werden. Die Anzahl der anerkannten, auf eine Styrolexposition zurückzuführende Berufserkrankung, beläuft sich auf fünf Fälle im Zeitraum von 1995 bis 2001. Vier davon waren Erkrankungen an chemisch irritativen Asthma und eine Polyneuropathie.

1 Berufsgenossenschaft der chemischen Industrie Abt. Bereich Prävention

AN APPLICATION OF THE CHALLENGE ASSAY IN BOAT BUILDERS EXPOSED TO LOW LEVELS OF STYRENE – A FEASIBILITY STUDY OF A POSSIBLE BIOMARKER FOR ACQUIRED SUSCEPTIBILITY

*Boris Oberheitmann¹⁾, Rainer Frentzel-Beyme^{ab},
Wolfgang Hoffmann^{ab}*

INTRODUCTION

Biomarkers have become widely used in epidemiologic studies to assess possible biological/health effects of a given exposure (Hulka and Wilcosky, 1988; Collins, 1998). Chromosome aberrations additionally indicate a higher risk for cancer on a population basis (Bonassi et al., 1995, 2000; Hagmar et al., 1994, 1998; Liou et al., 1999). Recently, biomarkers of susceptibility were developed which can be used to identify individuals at higher risk with a given exposure (Au et al., 1998; Bartsch and Hietanen, 1996; Berwick and Vineis, 2000). Considering individual differences may contribute to a more effective prevention for susceptible individuals in the future. Biomarkers of susceptibility might also be instrumental in understanding the mechanisms of carcinogenesis and may possibly be used to predict a higher risk for cancer in the future.

Individual susceptibility to toxic effects can be caused by reduced DNA repair capacity which can either be due to genetic predisposition or to interference with the repair process by extraneous substances (Au et al., 2001). The latter phenomenon can be tested using the challenge assay (Au et al., 1991, 2001). The rationale for the assay is that cells from exposed individuals will have impaired DNA repair activities. When these cells are challenged by X rays *in vitro*, they will make mistakes in the repair of the X ray-induced DNA strand breaks, resulting in a significant increase of chromosome aberrations compared with cells from non-exposed individuals. Au et al. (1991, 2001) have been using the standard chromosome assay in

1) Corresponding author: Dr. Boris Oberheitmann, UFT-Centre for Environmental Research and Environmental Technology, Division of Epidemiology, University of Bremen, D-28334 Bremen, Germany, e-mail: boris@oberheitmann.de

their investigations. The goal of the present study was to establish the challenge assay based on the use of a new cytogenetic technique, the fluorescence-in-situ-hybridization (FISH) assay.

The challenge assay had previously been successfully applied in our lab in the context of *in vitro* experiments with cadmium-exposed human lymphocytes (Oberheitmann et al., 1999). These experiments revealed that cadmium reduced the DNA repair capacity already in very low doses, which were in the range of permissible blood concentrations for workers in Germany (BAT) a few years ago (before cadmium was considered a human carcinogen). The interference of cadmium with DNA repair was dose dependent. Exchange rates at all concentrations showed a highly significant difference from the control in a right sided Fisher's exact test (0.5 μM : $p = 0.0069$; 5 μM : $p = 0.0043$; 50 μM : $p = 5.21 \cdot 10^{-8}$). We found the results encouraging and decided to apply the assay in a field study on styrene-exposed boat builders exposed to low levels of styrene.

Genotoxic effects of styrene have been reported *in vitro* and in exposed workers (Somorovska et al., 1999; Mäki-Paakkanen et al., 1991; Norppa et al., 1988; Jantunen et al., 1986). Besides the considerable body of evidence for genotoxicity of styrene metabolites there are some conflicting results concerning the dose-response relationship of the genotoxic action of styrene exposure (Scott, 1993). Furthermore, the tumor spectrum is very heterogeneous in epidemiologic studies on styrene carcinogenicity (Boffetta et al., 1998; Welp et al., 1996a, b; Kogevinas et al., 1993, 1994; Sathiakumar et al., 1998). Whether or not genotoxicity is important in styrene carcinogenicity is presently not known. At occupational exposure levels, neurotoxicity is the most prominent toxicity of styrene (Bergamaschi et al., 1996; Mutti et al., 1984). The goal of the present study is to investigate exposure effects in styrene-exposed boat builders by the FISH challenge assay.

This feasibility study is part of a research program which focuses on systemic effects of modified response of an organism to chronic exposure. Further to the challenge assay assessment of neurotoxic effects is included as another endpoint, but the data are not yet evaluated and therefore not presented here.

MATERIALS AND METHODS

The set-up of the chromosome aberration (CA) analysis using FISH required the development of a protocol for the amplification of the chromosome-specific DNA probes. This was done by PCR (Oberheitmann, 1997). The details of the challenge

assay used, the irradiation procedure and CA analysis were described elsewhere (Oberheitmann et al., 1999). Briefly, human lymphocytes are challenged with 1.66 Gy of X ray, and the efficiency of the cells to cope with this task is measured by the resulting rate of exchange-type chromosomal aberrations.

Fourteen styrene-exposed boat builders (6419 cells scored) of a small shipyard and seven controls (3505 cells scored) from a training center for the wood manufacturing industry were investigated for CA. Two persons who did not work directly with styrene as laminators but worked in the same production hall of the plant and who had elevated blood levels of styrene were included in the exposed group but were assigned a cumulative lifetime exposure of 0 years according to their work history questionnaire. The challenge assay was used to measure interference with DNA repair in the exposed boat builders (4440 cells scored). Due to an experimental mistake a wrong irradiation time was chosen for the control samples. Hence, unfortunately, they could not be used for comparison with the exposed workers. Results were therefore compared between different exposure levels within the exposed group and stratified for lifetime exposure and age. A historical control consisting of two persons from our institute (573 cells scored) was available but for principal methodological reasons comparisons can only be exploratory. On average, the exposed group was 35 and the historical control 31 years of age. The microscopic examination was done on coded slides by four different scorers. Criteria for aberration and scoring were standardized by routine mutual spot checking of all evaluated samples.

Data of mean styrene concentrations in ambient air measured at different workplaces in the plant were provided by Employees Mutual Insurance Association (Bau-BG). The mean of the last 15 years was $< 100 \text{ mg/M}^3$ styrene in air and $\sim 70 \text{ Mg/M}^3$ since 1986. Individual blood levels of styrene were determined using headspace gas chromatography with mass spectrometry detection in an external laboratory. The lifelong work history of subjects and controls with respect to styrene was determined in personal face-to-face interviews based on a standardized questionnaire. In the interview, smoking habits and the history of diagnostic X-ray irradiation were addressed as well. The blood sampling was done in the context of an annual routine examination at scheduled days and times during one week.

RESULTS

Fourteen workers exposed to low levels of styrene ($< 100 \text{ mg/M}^3$ styrene in air; blood levels of styrene $35 \text{ }\mu\text{g/l}$ at time of analysis) and seven controls were investi-

gated for baseline structural chromosomal aberrations using FISH. A slightly higher rate of exchange-type aberrations/100 cells in exposed 0.22 (95 % CI, 0.13 – 0.36) compared to controls 0.14 (95 % CI, 0.05 – 0.31) was observed (Table 1). The difference between the rates was not statistically significant.

After X-ray challenge the rates of exchange-type aberrations were 13.26 (10.53 – 16.50) in the historical control and 16.19 (15.00 – 17.40) in the exposed group (Table 2). The difference was statistically significant ($p < 0.038$) in a right sided Fisher's exact test based on 719 exchanges in 4440 metaphases in the exposed group and 76 exchanges in 573 metaphases in the historical controls (Table 2). An analysis of the data of the exposed group in a weighted linear regression (weights = number of cells scored for individual subjects) revealed an increase in incorrect repair of chromosome damage (i. e. exchange-type aberrations after X-ray challenge) with the lifetime exposure to styrene. The rate of chromosome exchanges was found to increase significantly ($p = 0.015$) with the cumulative lifetime exposure to styrene ($R^2 = 0.4$) (Fig. 1). On the other hand, an acute exposure effect on the DNA repair processes was not evident as the effects were not correlated to the levels of styrene in blood which averaged 35 $\mu\text{g/l}$ (range 1.5 to 211 $\mu\text{g/l}$) and were measured immediately before setting up the cultures. No significant increase of the aberration rate was observed with the blood concentration ($R^2 = 0.0226$; $p = 0.700$).

Fig. 1: Exchange-type aberrations in X ray-challenged lymphocytes of styrene-exposed boat builders vs. cumulative exposure history.

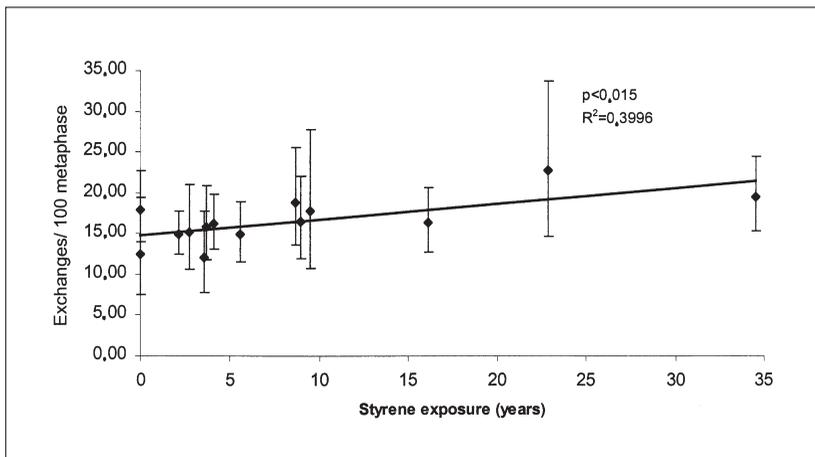


Table 1. Exchange-type aberrations in styrene-exposed boat builders and controls measured with FISH.

Subjects	Mean age	Mean years of exposure	Exchange-type aberration (%)	95 % CI
Exposed workers				
Smokers (N = 4)	33.5	1.6	0.25	0.10-0.55
Nonsmokers (N = 10)	35.6	11.6	0.23	0.12-0.40
Total (N = 14)	35	8.7	0.22	0.13-0.36
Controls				
Smokers (N = 3)	37	-	0.54	0.11-1.73
Nonsmokers (N = 4)	34.2	-	0.10	0.03-0.26
Total (N = 7)	35	-	0.14	0.05-0.31

Table 2. Exchange-type aberrations in styrene-exposed boat builders and controls after X-ray challenge measured with FISH

Subjects	Mean age	Mean years of exposure	Exchange-type aberration (%)	95 % CI
Exposed workers				
Smokers (N = 4)	33.5	1.6	15.98	13.66-18.58
Nonsmokers (N = 10)	35.6	11.6	16.26	14.95-17.65
Long-term exposure group*(N = 5)	41.4	18.4	17.90	15.64-20.39
Short-term exposure group (N = 9)	31.4	3.4	15.55	14.23-16.96
Total (N = 14)	35.0	8.7	16.19	15.00-17.40
Controls*				
Total (N = 2)	30.5	-	13.26	10.53-16.50

* no smokers present in this group

DISCUSSION

The baseline frequency of exchange-type aberrations was higher among styrene-exposed workers than among the controls as determined using the FISH assay. However, this difference was not statistically significant. Nevertheless, the observation is consistent with most other studies based mainly on chromatid-type aberrations (for review see (Barale, 1991)). Only a few of the more recent studies investigated chromosome-type exchanges (e. g. (Tomanin et al., 1992; Artuso et al., 1995)).

In this study, however, the emphasis was put on the results from the challenge assay, and therefore the data were analyzed in more detail. Among the workers, the overall increase of exchange type aberrations with the lifetime exposure was statistically significant (Fig. 1). The mean lifetime exposure to styrene was 8.7 years, and this value was therefore used as a cut-off point to dichotomize the group into short-term and long-term subgroups. The aberration rate in the long-term group was higher than in the short-term group. However, this difference was not statistically significant. The aberration rate of the two subjects used as a historical control was below those of the long-term and short-term exposure subgroups. This finding is consistent with the observations concerning the baseline aberration frequency using the matched controls. Other factors that could confound or modify the effects observed found in this study were also considered, e. g. age and smoking habits. It was not possible to clearly separate the effect of age from the effect of the cumulative lifetime exposure. However, a weighted linear regression analysis of the challenge assay data revealed no significant increase with the age of the subjects ($p = 0.076$) whilst the increase with the cumulative exposure was significant ($p = 0.015$; Fig. 1). The possible age effect will be addressed more appropriately in the ongoing analysis of an age-matched, non-exposed control group. Smokers have been shown to produce higher rates of chromosomal aberrations after gamma-ray challenge (Au et al., 1991). In the present study smokers were overrepresented in the group of short-term exposure. The possible effect of styrene exposure would therefore be underestimated in a direct comparison between the short- and long-term exposure subgroups. Based on the preliminary data from this ongoing study, the results are consistent with the hypothesis that longterm exposure to styrene can interfere with DNA repair processes. Conclusive evidence is, however, needed and shall be provided within our ongoing study.

Our results on styrene are in accordance with results reported by other authors for 1,3-butadiene (Hallberg et al., 1997) which has some structureactivity similarities to styrene. Pero et al. (1982) reported no effect on DNA repair synthesis as measured by unscheduled DNA synthesis (UDS) in styrene-exposed workers. UDS reflects DNA synthesis indicating DNA repair activities irrespective of the correctness of repair results. The exchange-type aberrations measured in the challenge assay actually reflect active repair processes – but incorrect rejoining of open double strand breaks. Hence, the negative UDS results are not contradictory to our findings.

In another study using the FISH-challenge assay on cadmium-exposed lymphocytes *in vitro*, the data demonstrated the interference with DNA repair without the expression of genotoxicity (Oberheitmann et al., 1999). These findings support other *in vitro* results using heavy metals like nickel and zinc in comparable assays which monitor DNA repair deficiencies (Snyder et al., 1989, Au et al., 1994, Dally and Hartwig, 1997).

The hypothesis for the mechanisms underlying the challenge assay (Au et al., 2000) is that long-term exposure to genotoxicants can cause DNA damage in a variety of genes in a large number of cells. Since the DNA repair machinery utilizes numerous genes and their products, this machinery becomes an enormous target for the induction of damage by extraneous exposure. Chronic exposure conditions probably increase the likelihood of inducing damage to this large target. Damage to any genes that generate abnormal repair enzymes, co-factors, etc. in a cell can produce abnormal repair responses as are observed in the challenge assay. The hypothesis is clearly consistent with our observation of a significant correlation with the cumulative exposure history but not with acute exposure as determined by the blood levels of styrene.

A link between effects on the central nervous system and repair disturbance was found in patients with neuro-degenerative diseases like Alzheimer's disease (Parshad et al., 1996; Tobi et al., 1990), Friedreich's ataxia (Evans et al., 1983) and Parkinson's disease (Robbins et al., 1985). In our ongoing study we will address a possible association between different measures of early styrene neurotoxicity and DNA repair fidelity, among other hypotheses.

The relevance of the endpoint »DNA repair« for both risk assessment and investigations of mechanisms of carcinogenesis is supported by the high prevalence of DNA repair deficiencies among cancer patients with different kinds of cancers (Au et al., 2001). Furthermore, several hereditary DNA repair deficiency syndromes are associated with a higher susceptibility for cancer. For certain expo-

tures the challenge assay has been shown to be a more sensitive biomarker than the traditional chromosome aberration assay (Au et al., 1991, 2001). Structural CA have been shown to be predictive for an increased cancer risk (Bonassi et al., 1995, 2000; Hagmar et al., 1994, 1998). Data from our preliminary study support the potential of the challenge assay to indicate an interaction of exposure with DNA repair. However, whether a positive challenge assay is able to predict a higher cancer risk remains to be evaluated.

REFERENCES

- Artuso, M., Angotzi, G., Bonassi, S., Bonatti, S., De Ferrari, M., Gargano, D., Lastrucci, L., Miligi, L., Sbrana, C., and Abbondandolo, A. Cytogenetic biomonitoring of styrene-exposed plastic boat builders. *Arch Environ Contam Toxicol* 29: 270, 1995.
- Au, W. W., Cajas-Salazar, N., and Salama, S. Factors contributing to discrepancies in population monitoring studies. *Mutat Res* 400:467, 1998.
- Au, W. W., Heo, M. Y., and Chiewchanwit, T. Toxicological interactions between nickel and radiation on chromosome damage and repair. *Environ Health Perspect* 102 Suppl 9:73, 1994.
- Au, W. W., Oberheitmann, B., Heo, M. Y., Hoffmann, W., and Oh, H. Y. Biomarker monitoring for health risk based on sensitivity to environmental mutagens. *Rev Environ Health* 16:41, 2001.
- Au, W. W., Walker, D. M., Ward, J. B. J., Whorton, E., Legator, M. S., and Singh, V. Factors contributing to chromosome damage in lymphocytes of cigarette smokers. *Mutat Res* 260:137, 1991.
- Barale, R. The genetic toxicology of styrene and styrene oxide. *Mutat Res* 257: 107, 1991.
- Bartsch, H. and Hietanen, E. The role of individual susceptibility in cancer burden related to environmental exposure. *Environ Health Perspect* 104 Suppl 3: 569, 1996.
- Bergamaschi, E., Mutti, A., Cavazzini, S., Vettori, M. V., Renzulli, F. S., and Franchini, I. Peripheral markers of neurochemical effects among styrene-exposed workers. *Neurotoxicology* 17:753, 1996.
- Berwick, M. and Vineis, P. Markers of DNA repair and susceptibility to cancer in humans: an epidemiologic review. *J Natl Cancer Inst* 92:874, 2000.

- Boffetta, P., Sali, D., Kolstad, H., Coggon, D., Olsen, J., Andersen, A., Spence, A., Pesatori, A. C., Lynge, E., Frentzel-Beyme, R., Chang-Claude, J., Lundberg, I., Biocca, M., Gennaro, V., Teppo, L., Partanen, T., Welp, E., Saracci, R., and Kogevinas, M. Mortality of short-term workers in two international cohorts. *J Occup Environ Med* 40: 1120, 1998.
- Bonassi, S., Abbondandolo, A., Camurri, L., Dal Pra, L., De Ferrari, M., Degrassi, F., Forni, A., Lamberti, L., Lando, C., and Padovani, P. Are chromosome aberrations in circulating lymphocytes predictive of future cancer onset in humans? Preliminary results of an Italian cohort study. *Cancer Genet Cytogenet* 79: 133, 1995.
- Bonassi, S., Hagmar, L., Stromberg, U., Montagud, A.H., Tinnerberg, H., Forni, A., Heikkila, P., Wanders, S., Wilhardt, P., Hansteen, I. L., Knudsen, L. E., and Norppa, H. Chromosomal aberrations in lymphocytes predict human cancer independently of exposure to carcinogens. European Study Group on Cytogenetic Biomarkers and Health. *Cancer Res* 60: 1619, 2000.
- Collins, A. R. Molecular epidemiology in cancer research. *Mol Aspects Med* 19: 359, 1998.
- Dally, H. and Hartwig, A. Induction and repair inhibition of oxidative DNA damage by nickel(II) and cadmium(II) in mammalian cells. *Carcinogenesis* 18: 1021, 1997.
- Evans, H. J., Vijayalaxmi, Pentland, B., and Newton, M.S. Mutagen hypersensitivity in Friedreich's ataxia. *Ann Hum Genet* 47 (Pt 3): 193, 1983.
- Hagmar, L., Bonassi, S., Stromberg, U., Mikoczy, Z., Lando, C., Hansteen, I. L., Montagud, A. H., Knudsen, L., Norppa, H., Reuterwall, C., Tinnerberg, H., Brogger, A., Forni, A., Hogstedt, B., Lambert, B., Mitelman, F., Nordenson, I., Salomaa, S., and Skerfving, S. Cancer predictive value of cytogenetic markers used in occupational health surveillance programs. *Recent Results Cancer Res* 154: 177, 1998.
- Hagmar, L., Brogger, A., Hansteen, I. L., Heim, S., Hogstedt, B., Knudsen, L., Lambert, B., Linnainmaa, K., Mitelman, F., and Nordenson, I. Cancer risk in humans predicted by increased levels of chromosomal aberrations in lymphocytes: Nordic study group on the health risk of chromosome damage. *Cancer Res* 54:2919, 1994.
- Hallberg, L. M., Bechtold, W. E., Grady, J., Legator, M. S., and Au, W. W. Abnormal DNA repair activities in lymphocytes of workers exposed to 1,3-butadiene. *Mutat Res* 383: 213, 1997.
- Hulka, B. S. and Wilcosky, T. Biological markers in epidemiologic research. *Arch Environ Health* 43: 83, 1988.

- Jantunen, K., Mäki-Paakkanen, J., and Norppa, H. Induction of chromosome aberrations by styrene and vinylacetate in cultured human lymphocytes: dependence on erythrocytes. *Mutat Res* 159: 109, 1986.
- Kogevinas, M., Ferro, G., Andersen, A., Bellander, T., Biocca, M., Coggon, D., Gennaro, V., Hutchings, S., Kolstad, H., and Lundberg, I. Cancer mortality in a historical cohort study of workers exposed to styrene. *Scand J Work Environ Health* 20: 251, 1994.
- Kogevinas, M., Ferro, G., Saracci, R., Andersen, A., Biocca, M., Coggon, D., Gennaro, V., Hutchings, S., Kolstad, H., and Lundberg, I. Cancer mortality in an international cohort of workers exposed to styrene. *IARC Sci Publ* 289, 1993.
- Liou, S. H., Lung, J. C., Chen, Y. H., Yang, T., Hsieh, L. L., Chen, C. J., and Wu, T. N. Increased chromosome-type chromosome aberration frequencies as biomarkers of cancer risk in a blackfoot endemic area. *Cancer Res* 59: 1481, 1999.
- Mäki-Paakkanen, J., Walles, S., Osterman-Golkar, S., and Norppa, H. Single-strand breaks, chromosome aberrations, sister-chromatid exchanges, and micronuclei in blood lymphocytes of workers exposed to styrene during the production of reinforced plastics. *Environ Mol Mutagen* 17: 27, 1991.
- Mutti, A., Vescovi, P. P., Falzoi, M., Arfini, G., Valenti, G., and Franchini, I. Neuroendocrine effects of styrene on occupationally exposed workers. *Scand J Work Environ Health* 10: 225, 1984.
- Norppa, H., Mäki-Paakkanen, J., Jantunen, K., Einisto, P., and Raty, R. Mutagenicity studies on styrene and vinyl acetate. *Ann N Y Acad Sci* 534: 671, 1988.
- Oberheitmann, B. Whole library-amplification and labelling of human chromosome-specific composite probes for fluorescence in situ hybridization (FISH) using PCR. *Int J Radiat Biol* 71: 515, 1997.
- Oberheitmann, B., Schäfer, J., Dally, H., Garms, A., Frentzel-Beyme, R., and Hoffmann, W. The chromosome-based challenge assay using fluorescence in situ hybridization: a possible test for increased cancer susceptibility. *Mutat Res* 428: 157, 1999.
- Parshad, R. P., Sanford, K. K., Price, F. M., Melnick, L. K., Nee, L. E., Schapiro, M. B., Tarone, R. E., and Robbins, J. H. Fluorescent light-induced chromatid breaks distinguish Alzheimer disease cells from normal cells in tissue culture. *Proc Natl Acad Sci USA* 93: 5146, 1996.
- Pero, R. W., Bryngelsson, T., Hogstedt, B., and Akesson, B. Occupational and in vitro exposure to styrene assessed by unscheduled DNA synthesis in resting human lymphocytes. *Carcinogenesis* 3: 681, 1982.

- Robbins, J. H., Otsuka, F., Tarone, R. E., Polinsky, R. J., Brumback, R. A., and Nee, L. E. Parkinson's disease and Alzheimer's disease: hypersensitivity to X rays in cultured cell lines. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 48:916, 1985.
- Sathiakumar, N., Delzell, E., Hovinga, M., Macaluso, M., Julian, J. A., Larson, R., Cole, P., and Muir, D. C. Mortality from cancer and other causes of death among synthetic rubber workers. *Occup Environ Med* 55:230, 1998.
- Scott, D. Cytogenetic studies of workers exposed to styrene: a review. IARC scientific publication No. 127 1993. pp. 275-286.
- Snyder, R. D., Davis, G. F., and Lachmann, P. j. Inhibition by metals of X-ray and ultraviolet-induced DNA repair in human cells. *Biol Trace Elem Res* 21: 389, 1989.
- Somorovska, M., Jahnova, E., Tulinska, J., Zamecnikova, M., Sarmanova, J., Terenova, A., Vodickova, L., Liskova, A., Vallova, B., Soucek, P., Hemminki, K., Norppa, H., Hirvonen, A., Bates, A. D., Fuortes, L., Dusinska, M., and Vodicka, P. Biomonitoring of occupational exposure to styrene in a plastics lamination plant. *Mutat Res* 428:255, 1999.
- Tobi, S. E., Moquet, J. E., Edwards, A. A., Lloyd, D. C., and Itzhaki, R. F. Chromosomal radiosensitivity of lymphocytes from Alzheimer's disease patients. *J Med Genet* 27: 437, 1990.
- Tomanin, R., Ballarin, C., Bartolucci, G. B., De Rosa, E., Sessa, G., Iannini, G., Cupiraggi, A. R., and Sarto, F. Chromosome aberrations and micronuclei in lymphocytes of workers exposed to low and medium levels of styrene. *Int Arch Occup Environ Health* 64: 209, 1992.
- Welp, E., Kogevinas, M., Andersen, A., Bellander, T., Biocca, M., Coggon, D., Esteve, J., Gennaro, V., Kolstad, H., Lundberg, I., Lynge, E., Partanen, T., Spence, A., Boffetta, P., Ferro, G., and Saracci, R. Exposure to styrene and mortality from nervous system diseases and mental disorders. *Am J Epidemiol* 144: 623, 1996a.
- Welp, E., Partanen, T., Kogevinas, M., Andersen, A., Bellander, T., Biocca, M., Coggon, D., Gennaro, V., Kolstad, H., Lundberg, I., Lynge, E., Spence, A., Ferro, G., Saracci, R., and Boffetta, P. Exposure to styrene and mortality from non-malignant respiratory diseases. *Occup Environ Med* 53: 499, 1996b.



ANHANG I

EPIDEMIOLOGISCHE STUDIE ZUR »KREBSINZIDENZ UND -MORTALITÄT BEI DER VERWENDUNG VON STYROL IN DER HERSTELLUNG VON VERSTÄRKTEN KUNSTSTOFFEN«

*Dr. med. R. Frentzel-Beyme, DKFZ Heidelberg,
Vortrag zum Erörterungstermin mit
arbeitsmedizinischen Experten am 15.09.1994,
Sitzungsraum des Berufsgenossenschaftlichen
Instituts für Arbeitsschutz (BIA), Hauptverband
der gewerblichen Berufsgenossenschaften, St. Augustin*

BEGRÜNDUNG DES FORSCHUNGSBEDARFS

Mit der Veröffentlichung der Befunde von Checkoway und Mitarbeitern (Seattle, USA), dass bei Fiberglasboot-Herstellern ein Indikator für die Dopaminabsenkung in Form des Bindungsverhaltens von Lymphozyten gefunden wurde (Spiperon-Bindungs-Kapazität) begann eine neue Ära in der Styrolforschung. Die untersuchten 28 Bootsbauer hatten eine leicht erhöhte Spiperon-Bindung bei Lymphozyten, wobei besonders der Trend mit Dosis der Exposition konsistent mit der Hypothese war, dass eine Beeinflussung durch Styroldosis stattfindet. Hiermit war nicht nur ein Monitoring in Form der Untersuchung des Biomarkers möglich, so dass nicht nur das sog. präanarkotische Syndrom sondern zentralnervöse Effekte auch unter 50 ppm Exposition festgestellt werden könnten, sondern auch ein Hinweis auf den Mechanismus der styrolinduzierten Neurotoxizität gefunden. Die Dopaminabsenkung wird durch einen Anstieg der Dopaminrezeptoren im Striatum in Verbindung gebracht (Tierversuche). Wenn die Dopaminmangelhypothese der Neurotoxizität von Styrol zutrifft, war vorauszusagen, dass das Spiperon-Bindungsverhalten bei exponierten Arbeitern ansteigt, und zwar unter der Annahme, dass das Lymphozytenverhalten zentralnervöse Effekte widerspiegelt.

Diese peripheren Marker der neurochemischen Funktion unter styrolexponierten Arbeitern wurden weiter in Bezug auf ihre Auswirkungen auf Symptome wie Schwindel, Müdigkeit, Irritierbarkeit, Gedächtnisverlust, Trunkenheitsgefühl und Kopfschmerzen untersucht. Dabei wurde deutlich, dass Monoaminoxidase Typ B ein nützlicher Marker für die Neurotoxizität durch Styrol ist. MAO-B ist ein mikrosomales Enzym, das Dopamin und andere Sympaticus-Amine katabolisiert. Dies macht man sich zunütze, indem man Thrombozyten-MAO-B Aktivität als pharmakologischen Marker für den Effekt für MAO-Inhibitoren (M. Parkinson) beobachtet.

Die generelle der MAO-B Aktivität besteht in einer gedämpften Hirnaktivität (Tierversuche). So wurde, eine erhöhte Serotoninaufnahme in Trombozyten, die auf einen oxydativen Stress hinweist, bei lösungsmittel-exponierten Malern gefunden. Serotonin ist ein Neurotransmitter mit einem weiten Bereich wichtiger Funktionen im Zentralnervensystem.¹

Somit wurde bestätigt, dass das als neurotoxisch wohlbekanntes Styrol spezifische Läsionen und Veränderungen von Biomarkern bewirkt. Die Frage der Persistenz, d.h. von möglichen Langzeitwirkungen ist weniger gut bearbeitet worden.

Die Zusammenhänge zwischen dem Dopaminmangel und Krebsrisiko legen eine Untersuchung der Folgen einer chronischen Styroleinwirkung auf das Krebsrisiko nahe. Dabei sollte von dem Querschnittsansatz bei den bisherigen Untersuchungen abgegangen werden und ein Längsschnitt-Design einer Follow-up-Studie für eine Kohorte von Bootsbauern erfolgen.² Bisherige Studien zum Krebsrisiko erlauben noch keine Beurteilung der Art und Stärke des Risikos für einige Krebsformen. Für die Einwirkung von Styrol wird ein potentiell karzinogenes Risiko nicht ausgeschlossen, wobei ein Wirkungsmechanismus nicht bekannt ist. Sollte es sich um eine Promotionswirkung handeln, die über die Dopamin-Absenkung erklärt werden kann, sind entsprechende Untersuchungen der Krebshäufigkeit in Abhängigkeit von Dosis und dem Vorliegen von persistierenden (irreversiblen) neurotoxischen Läsionen von besonderer Bedeutung.

Bis zum Vorliegen negativer Befunde bei nachweislich exponierten Bevölkerungsgruppen sollte daher eine Krebsgefährdung angenommen werden.

1 Checkoway et al., 1990: Monitoring styrene neurotoxicity with 3-H-spiroperone binding in lymphocytes, in: Sakurai, H. et al., eds.: Occupational epidemiology: proceedings of the 7th International Symposium on Epidemiology in Occupational Health, Tokyo 1989. Amsterdam: Excerpta Medica 889, 197-200; Checkoway et al., 1992: Peripheral markers of neurochemical function among workers exposed to styrene. *Brit. J. Ind. Med.* 49, 560-565.

2 Lam et al. 1985: Human platelet 5-hydroxytryptamine concentration as a tool in the prediction of solvent induced neurotoxic effects. *Acta Pharmacol. Toxicol.* 56, 233-238.

Vor dem Hintergrund der neurotoxischen und damit auch neuroendokrino-logischen Befunde aufgrund vieler einschlägiger Untersuchungen ist eine promo- vierende Wirkung so wahrscheinlich, dass diese als Arbeitshypothese zugrunde gelegt werden kann.

Gemäß der in Dänemark durchgeführten Studie von Astrup-Jensen et al., 1990 ist zu befürchten, dass 25 % einer Kohorte überhaupt keine Exposition gegenüber Styrol gehabt haben könnte. Aus diesem Grunde ist die Koppelung von Follow- up-Studien mit den Messwerten, die im BIA zusammengeführt worden sind, von besonderem Gewicht. Dabei ist zu beachten, dass Styroleinwirkungen bei Lamina- toren dreimal höher als in der Gruppe »andere exponierte Tätigkeiten« zu finden war.

Die Studie von Wong, Trend und Whorton (1994) ist eine durchaus verbesserte Follow-up-Studie von Bootsbauern, die eine frühere inadäquate Publikation (Wong, 1990) geeignet ergänzt. Die damals angeführte Kritik an der Publikation wurde beachtet, indem die noch bis 1977 eingestellten Personen inzwischen zu- mindest für weitere 12 Jahre beobachtet wurden (bis 1989).

Die Ergebnisse sind sehr aufschlussreich, da eine erhöhte Gesamtmortalität und eine erhöhte Krebsmortalität sowie für einzelne Organe gesichert erhöhte Mortalitätsraten gefunden wurden, was in der vorangegangenen Studie nicht der Fall gewesen war. Die Problematik wird allerdings von den Autoren ausführlich dargestellt, dass weder mit der Dauer der Beschäftigung als auch mit kumulativer Styrolexposition die Mortalitätsraten ansteigen, so dass keine Dosiswirkungen zu beobachten sind. Interessant ist jedoch die Art der Anstiege von einzelnen Krebs- formen, besonders von Lungenkrebs und Zervixkarzinom, die beide ja mit Le- bensstilfaktoren, wie Zigarettenrauchen und sozioökonomischen Faktoren, in Ver- bindung gebracht werden.

Die stärksten Anstiege der Mortalitätsraten fanden sich besonders für kurzfris- tig beschäftigte Personen, so dass dieser Befund durchaus mit der Promotorwir- kung des Styrol in Zusammenhang gebracht werden könnte.

Dabei wären die Schädigungen karzinogener Art im Sinne der Initiation bereits vorhanden (beispielsweise durch das Zigarettenrauchen) und durch die Styrolex- position würde die Manifestation der Krankheit beschleunigt und auch deren Letalität. Es ist direkt auffallend, dass die in der Mortalitätsstudie aufgetretenen Fälle besonders solche Krebsformen betreffen, die eine hohe Letalität haben (Öso- phaguskrebs, Lungenkrebs), andererseits aber auch die Tumorformen des Uterus, wie Uterushalskrebs, und auch für Nierenkrebs. Diese Beobachtungen sind teil- weise konsistent mit denen aus anderen Studien.

Die durchweg hohen Sterberaten an Unfällen und anderen unnatürlichen Todesursachen geben ebenfalls zu denken, da auch hier Ausdruck einer möglicherweise noch nachhaltigen präanarkotischen Wirkung von Styrol die Mitursache sein könnte. In vielen großen Kohortenstudien in der chemischen Industrie sind derartige Todesursachen meistens im Bereich der Erwartungswerte oder darunter gefunden worden.

Im Lichte der Ergebnisse der Studie von Kogevinas et al. sowie Wong et al. aus neuester Zeit ist die Untersuchung der Gründe für eine erhöhte Mortalität an Krebsformen durchaus von besonderer Relevanz. Dabei ist zu beachten, dass die biologischen Expositionsgrenzwerte schon seit 1983 auf 50 ppm zu senken gewesen wären, nachdem Droz und Guillemin mit Modellberechnungen über das biologische Monitoring derartige Empfehlungen gegeben haben.

Von Ng et al. (1990) wurde darauf hingewiesen, dass die »neurobehavioral test performance« (verhaltenspsychologische und neuropsychologische Leistungen) bei Lösungsmittel-exponierten in den angewandten Testverfahren signifikant schlechter waren als in den Vergleichsgruppen. Diese Befunde unterstreichen die Ansicht, dass sogar offensichtlich gesunde und aktiv beschäftigte Arbeiter, die gegenüber Lösungsmitteln exponiert sind, deutliche spezifische Minderleistungen und Defekte zeigen können. Diese Defekte können im Zusammenhang mit einer verminderten Abwehr gegenüber karzinogenen Einwirkungen stehen.

Bergamaschi et al. fanden unter 71 styrolexponierten Arbeitern im Vergleich zu 65 Kontrollpersonen immunologische Veränderungen auf dem zellulären Niveau. Natural killer (NK)-Zellen-Phänotypen waren um 30 % häufiger zu finden, doch war die lytische Aktivität dieser Zellen (gegenüber standardisierten Zielzellpopulationen) bei den Exponierten in Richtung niedriger Werte verschoben. Das weist auf eine Verbindung der veränderten Verteilung von Lymphozyten-Subpopulationen schon nach moderater Styrolexposition hin. Der herabgesetzte Anteil der T-Lymphozyten (helper inducer cells) führt zu beeinträchtigter Antigen-Erkennung und gestörten regulatorischen Funktionen. Somit findet sich eine negative Modulation der zellulären Abwehr durch Styrol, da das richtige Verhältnis zwischen Inununozyten-Gruppen wichtig für immunologische Antworten ist, und damit müssen die Veränderungen als gefährdende Auswirkungen des Styrols angesehen werden. Die von den Autoren diskutierten Hypothesen betreffend die zweiseitige Kommunikation zwischen ZNS und Immunozyten, und zwar die Frühreaktion (Frühwarnung!) auf eine veränderte neuro-endokrine Balance auf der Ebene der Hypothalamus-Hypophysen-Achse.

In der edition der Hans-Böckler-Stiftung sind bisher erschienen:

Nr.	Autor/Titel	€	Bestell-Nr.	ISBN-Nr.
50	<i>Peter Kalkowski/Matthias Helmer/ Otfried Mickler</i> Telekommunikation im Aufbruch	10,23	13050	3-935145-22-5
51	<i>Dunja M. Mohr</i> Lost in Space: Die eigene wissen- schaftliche Verortung in und außerhalb von Institutionen	14,32	13051	3-935145-23-3
53	<i>Wolfhard Kohte</i> Störfallrecht und Betriebsverfassung	10,23	13053	3-935145-25-X
54	<i>Manfred Deiß/Eckhard Heidling</i> Interessenvertretung und Expertenwissen	13,29	13054	3-935145-28-4
55	<i>Herbert Bassarak/Uwe Dieter Steppuhn (Hrsg.)</i> Angewandte Forschung und Entwicklung an Fachhochschulen in Bayern	15,00	13055	3-935145-29-2
56	<i>Herbert Bassarak/Uwe Dieter Steppuhn (Hrsg.)</i> Angewandte Forschung und Entwicklung an Fachhochschulen Sozialer Arbeit	23,00	13056	3-935145-30-6
57	<i>Heide Pfarr (Hrsg.)</i> Ein Gesetz zur Gleichstellung der Geschlechter in der Privatwirtschaft	12,00	13057	3-935145-31-4
58	<i>Stefan Eitenmüller</i> Reformoptionen für die gesetzliche Rentenversicherung	15,00	13058	3-935145-32-2
59	<i>Bernd Kriegesmann/Marcus Kottmann</i> Neue Wege für Personalanpassungen in der Chemischen Industrie	10,00	13059	3-935145-33-0
60	<i>Hans-Böckler-Stiftung/DGB-Bundesvorstand</i> Welthandelsorganisation und Sozialstandards	7,00	13060	3-935145-34-9
61	<i>Renate Büttner/Johannes Kirsch</i> Bündnisse für Arbeit im Betrieb	11,00	13061	3-935145-35-7
62	<i>Elke Ahlers/Gudrun Trautwein-Kalms</i> Entwicklung von Arbeit und Leistung in IT-Unternehmen	9,00	13062	3-935145-36-5
63	<i>Thomas Fritz/Christoph Scherrer</i> GATS 2000. Arbeitnehmerinteressen und die Liberalisierung des Dienstleistungshandels	12,00	13063	3-935145-37-3
64	<i>Achim Truger/Rudolf Welzmüller</i> Chancen der Währungsunion – koordinierte Politik für Beschäftigung und moderne Infrastruktur	13,00	13064	3-935145-38-1
65	<i>Martin Sacher/Wolfgang Rudolph</i> Innovation und Interessenvertretung in kleinen und mittleren Unternehmen	19,00	13065	3-935145-39-X

Nr.	Autor/Titel	€	Bestell-Nr.	ISBN-Nr.
66	Volker Meinhardt/Ellen Kirner/ Markus Grabka/Ulrich Lohmann/Erika Schulz Finanzielle Konsequenzen eines universellen Systems der gesetzlichen Alterssicherung	12,00	13066	3-935145-40-3
67	Thomas Ebert Langfrist-Arbeitszeitkonten und Sozialversicherung	12,00	13067	3-935145-41-1
68	Jan Priewe unter Mitarbeit von Christoph Scheuplein und Karsten Schuldt Ostdeutschland 2010 – Perspektiven der Innovationstätigkeit	23,00	13068	3-935145-42-X
69	Sylke Bartmann/Karin Gille/Sebastian Haunss Kollektives Handeln	30,00	13069	3-935145-43-8
70	Bernhard Nagel Mitbestimmung in öffentlichen Unter- nehmen mit privater Rechtsform und Demokratieprinzip	12,00	13070	3-935145-44-6
72	Eva Kocher Gesetzentwurf für eine Verbandsklage im Arbeitsrecht	12,00	13072	3-935145-46-2
73	Hans-Böckler-Foundation (ed.) Future Works	10,00	13073	3-935145-47-0
74	Reinhard Schüssler/Claudia Funke Vermögensbildung und Vermögensverteilung	16,00	13074	3-935145-48-9
75	Ingrid Ostermann (Hrsg.) Perspektive: GLOBAL! Inter-nationale Wissenschaftlerinnenkooperationen und Forschung	20,00	13075	3-935145-49-7
76	Christine Schön Betriebliche Gleichstellungspolitik	12,00	13076	3-935145-50-0
77	Volker Korthäuer/Marius Tritsch US-Cross-Border-Lease	8,00	13077	3-935145-51-9
78	Jörg Towara Tarifvertragliche Regelungen zur Teilzeitarbeit	8,50	13078	3-935145-52-7
79	Anja Riemann Auswertung und Darstellung gesetzlicher Bestimmungen zur Teilzeitarbeit	8,00	13079	3-935145-53-5
80	Heide Pfarr/Elisabeth Vogelheim Zur Chancengleichheit von Frauen und Männern im Bündnis für Arbeit, Ausbildung und Wettbewerbsfähigkeit	12,00	13080	3-935145-56-X
81	Wilfried Kruse/Daniel Tech/Detlev Ullenbohm Betriebliche Kompetenzentwicklung. 10 Fallstudien zu betrieblichen Vereinbarungen	12,00	13081	3-935145-57-8

Nr.	Autor/Titel	€	Bestell-Nr.	ISBN-Nr.
82	<i>Stefan Bach/Bernd Bartholmai</i> Perspektiven der Vermögensbesteuerung in Deutschland	12,00	13082	3-935145-58-6
83	<i>Charlotte Wahler (Hrsg.)</i> Forschen mit Geschlecht? Zwischen Macht und Ohnmacht: Frauen in der Wissenschaft	20,00	13083	3-935145-59-4
84	<i>Henry Schäfer</i> Sozial-ökologische Ratings am Kapitalmarkt	16,00	13084	3-935145-60-8
85	<i>Maliszewski/Neumann</i> Bündnisse für Arbeit – Best Practice aus Ländern und Regionen	14,00	13085	3-935145-61-1
86	<i>Matthias Müller</i> International Accounting Standards	9,00	13086	3-935145-62-4
87	<i>Arno Prangenberg</i> Grundzüge der Unternehmensbesteuerung	8,00	13087	3-935145-63-2
88	<i>Klaus Jacobs/Jürgen Wasem</i> Weiterentwicklung einer leistungsfähigen und solidarischen Krankenversicherung unter den Rahmenbedingungen der europäischen Integration	12,00	13088	3-935145-64-0
89	<i>Thomas Schönwälder</i> Begriffliche Konzeption und empirische Entwicklung der Lohnnebenkosten in der Bundesrepublik Deutschland – eine kritische Betrachtung	25,00	13089	3-935145-65-9
90	<i>Helene Mayerhofer</i> Handbuch Fusionsmanagement Personalpolitische Aufgaben im Rahmen von Fusionen	10,00	13090	3-935145-66-7
91	<i>Helene Mayerhofer</i> Handbuch Fusionsmanagement Fusionsbedingte Integration verschiedener Organisationen	10,00	13091	3-935145-67-5
92	<i>Hans-Erich Müller</i> Handbuch Fusionsmanagement Übernahme und Restrukturierung: Neuausrichtung der Unternehmensstrategie	8,00	13092	3-935145-68-3
93	<i>Christian Timmreck</i> Handbuch Fusionsmanagement Unternehmensbewertung bei Mergers & Acquisitions	10,00	13093	3-935145-69-1
94	<i>Volker Korthäuer, Manuela Aldenhoff</i> Handbuch Fusionsmanagement Steuerliche Triebfedern für Unternehmensumstrukturierungen	6,00	13094	3-935145-70-5
95	<i>Dieter Behrendt</i> Ökologische Modernisierung: Erneuerbare Energien in Niedersachsen	11,00	13095	3-935145-73-X

Nr.	Autor/Titel	€	Bestell-Nr.	ISBN-Nr.
96	Uwe Wilkesmann/Ingolf Rascher Wissensmanagement – Analyse und Handlungsempfehlungen	12,00	13096	3-935145-71-3
97	Tanja Klenk/Frank Nullmeier Public Governance als Reformstrategie	12,00	13097	3-935145-72-1
98	Reiner Hoffmann/Otto Jacobi/Berndt Keller/ Manfred Weiss (eds.) European Integration as a Social Experiment in a Globalized World	14,00	13098	3-935145-74-8
99	Angelika Bucerius Alterssicherung in der Europäischen Union	25,00	13099	3-935145-75-6
100	Werner Killian/Karsten Schneider Die Personalvertretung auf dem Prüfstand	12,00	13100	3-935145-76-4
102	Susanne Felger/Angela Paul-Kohlhoff Human Resource Management	15,00	13102	3-935145-78-0
103	Paul Elshof Zukunft der Brauwirtschaft	16,00	13103	3-935145-79-9
104	Henry Schäfer/Philipp Lindenmayer Sozialkriterien im Nachhaltigkeitsrating	19,00	13104	3-935145-80-2
107	Axel Olaf Kern/Ernst Kistler/Florian Mamberer/ Ric Rene Unteutsch/Bianka Martolock/ Daniela Wörner Die Bestimmung des Leistungskataloges in der gesetzlichen Krankenversicherung	18,00	13107	3-935145-84-5
108	Dea Niebuhr/Heinz Rothgang/Jürgen Wasem/ Stefan Greß Die Bestimmung des Leistungskataloges in der gesetzlichen Krankenversicherung	28,00	13108	3-935145-85-3
109	Yasmine Chahed/Malte Kaub/Hans-Erich Müller Konzernsteuerung börsennotierter Aktiengesellschaften in Deutschland	14,00	13109	3-935145-86-1
110	Klaus Löbbbe Die europäische Chemieindustrie	25,00	13110	3-935145-87-X
113	Uwe Fachinger, Anna Frankus Selbstständige im sozialen Abseits	13,00	13113	3-935145-90-X
114	Frank Havighorst Jahresabschluss von Krankenhäusern	14,00	13114	3-935145-91-8
115	Achim Sollanek Versicherungsbilanzen nach deutschem Handelsrecht	10,00	13115	3-935145-92-6
120	Andreas Boes, Michael Schwemmler unter Mitarbeit von Ellen Becker Herausforderung Offshoring	15,00	13120	3-935145-97-7

**Bestellungen
bitte unter
Angabe der
Bestell-Nr. an:**



Kreuzbergstraße 56
40489 Düsseldorf
Telefax: 02 11 / 408 00 90 40
E-Mail: mail@setzkasten.de

Hans-Böckler-Stiftung

Die Hans-Böckler-Stiftung ist das Mitbestimmungs-, Forschungs- und Studienförderungswerk des Deutschen Gewerkschaftsbundes. Gegründet wurde sie 1977 aus der Stiftung Mitbestimmung und der Hans-Böckler-Gesellschaft. Die Stiftung wirbt für Mitbestimmung als Gestaltungsprinzip einer demokratischen Gesellschaft und setzt sich dafür ein, die Möglichkeiten der Mitbestimmung zu erweitern.

Mitbestimmungsförderung und -beratung

Die Stiftung informiert und berät Mitglieder von Betriebs- und Personalräten sowie Vertreterinnen und Vertreter von Beschäftigten in Aufsichtsräten. Diese können sich mit Fragen zu Wirtschaft und Recht, Personal- und Sozialwesen, Aus- und Weiterbildung an die Stiftung wenden. Die Expertinnen und Experten beraten auch, wenn es um neue Techniken oder den betrieblichen Arbeits- und Umweltschutz geht.

Wirtschafts- und Sozialwissenschaftliches Institut (WSI)

Das Wirtschafts- und Sozialwissenschaftliche Institut (WSI) in der Hans-Böckler-Stiftung forscht zu Themen, die für Arbeitnehmerinnen und Arbeitnehmer von Bedeutung sind. Globalisierung, Beschäftigung und institutioneller Wandel, Arbeit, Verteilung und soziale Sicherung sowie Arbeitsbeziehungen und Tarifpolitik sind die Schwerpunkte. Das WSI-Tarifarchiv bietet umfangreiche Dokumentationen und fundierte Auswertungen zu allen Aspekten der Tarifpolitik.

Forschungsförderung

Die Stiftung vergibt Forschungsaufträge zu Strukturpolitik, Mitbestimmung, Erwerbsarbeit, Kooperativer Staat und Sozialpolitik. Im Mittelpunkt stehen Themen, die für Beschäftigte von Interesse sind.

Studienförderung

Als zweitgrößtes Studienförderungswerk der Bundesrepublik trägt die Stiftung dazu bei, soziale Ungleichheit im Bildungswesen zu überwinden. Sie fördert gewerkschaftlich und gesellschaftspolitisch engagierte Studierende und Promovierende mit Stipendien, Bildungsangeboten und der Vermittlung von Praktika. Insbesondere unterstützt sie Absolventinnen und Absolventen des zweiten Bildungsweges.

Öffentlichkeitsarbeit

Im Magazin »Mitbestimmung« und den »WSI-Mitteilungen« informiert die Stiftung monatlich über Themen aus Arbeitswelt und Wissenschaft. Mit der homepage www.boeckler.de bietet sie einen schnellen Zugang zu ihren Veranstaltungen, Publikationen, Beratungsangeboten und Forschungsergebnissen.

Hans-Böckler-Stiftung
Abteilung Öffentlichkeitsarbeit
Hans-Böckler-Straße 39
40476 Düsseldorf
Telefax: 0211/7778 - 225
www.boeckler.de

**Hans Böckler
Stiftung** 

Fakten für eine faire Arbeitswelt.

