

LEITPRINZIPIEN FÜR DEN  
GEBRAUCH VON  
BIOLOGISCHEN MARKERN  
BEI DER ABSCHÄTZUNG  
DER MENSCHLICHEN  
EXPOSITION GEGENÜBER  
UMWELTFAKTOREN –  
EIN INTEGRATIVER ANSATZ  
AUS EPIDEMIOLOGIE UND  
TOXIKOLOGIE



WELTGESUNDHEITSORGANISATION  
Regionalbüro für Europa  
KOPENHAGEN

## ZIEL 19

### UMWELTHYGIENEMANAGEMENT

*Bis zum Jahr 2000 sollte es in allen Mitgliedstaaten effektive Managementsysteme und die Ressourcen zur Umsetzung einer Umwelt- und Gesundheitspolitik geben.*

---

Dieser Bericht wird in Deutsch, Englisch, Französisch und Russisch vom WHO-Regionalbüro für Europa herausgegeben; alle Rechte vorbehalten. Es ist indessen ohne weiteres gestattet, dieses Dokument zu rezensieren, auszugsweise wiederzugeben, zu vervielfältigen oder in andere Sprachen zu übersetzen, sofern dies nicht zum Zwecke des Verkaufs oder im Zusammenhang mit anderen kommerziellen Zwecken geschieht. Name und Emblem der WHO sind geschützt und dürfen ohne Genehmigung nicht für Nachdrucke oder Übersetzungen benutzt werden. Für den Inhalt der mit dem Namen des Verfassers gekennzeichneten Beiträge ist ausschließlich der Verfasser verantwortlich. Das WHO-Regionalbüro für Europa bietet um Zusendung von drei Kopien jeder Übersetzung.

E: 53415

EUR/ICP/PCS 204  
04935  
ORIGINAL: ENGLISCH

LEITPRINZIPIEN FÜR DEN  
GEBRAUCH VON BIOLOGISCHEN  
MARKERN BEI DER ABSCHÄTZUNG  
DER MENSCHLICHEN EXPOSITION  
GEGENÜBER UMWELTFAKTOREN –  
EIN INTEGRATIVER ANSATZ AUS  
EPIDEMIOLOGIE UND TOXIKOLOGIE

Bericht über eine WHO-Beratungstagung

Krakau, Polen  
13. – 14. September 1993

1995

EUR/GFA-Ziel 19

## ZUSAMMENFASSUNG

Durch den Einsatz biologischer Marker läßt sich möglicherweise die Abschätzung der Exposition durch Umweltfaktoren verbessern. Zur Zeit stehen allerdings nur wenige valide biologische Marker zur Verfügung, die sich in epidemiologischen Studien und in der Risikoabschätzung wirksam nutzen lassen. Die künftige Anwendung von biologischen Markern erfordert die Zusammenarbeit zwischen Toxikologen und Epidemiologen. Um in diesem Bereich Leitprinzipien festzulegen, veranstaltete die Bilthovener Außenstelle des Europäischen WHO-Zentrums für Umwelt und Gesundheit eine Beratungstagung. Die Teilnehmer setzten sich kritisch mit den bestehenden Methoden für den Gebrauch biologischer Marker in der Expositionsabschätzung auseinander und erörterten die Berechtigung sowie die Kriterien für den Einsatz von Biomarkern, die Begrenzungen von Biomarkerabschätzungen, Confounderprobleme, Aspekte des Untersuchungsplans, den Validierungsbedarf und ethische Fragen. Zu jedem besprochenen Punkt wurden Empfehlungen abgegeben, wobei zu hoffen bleibt, daß sie als Leitprinzipien dienen werden.

### *Schlüsselwörter*

BIOLOGICAL MARKERS  
ENVIRONMENTAL MONITORING  
ENVIRONMENTAL EXPOSURE  
ENVIRONMENTAL POLLUTION  
EUROPE

# INHALT

	<i>Seite</i>
Einleitung .....	1
Diskussion .....	4
DNA und Proteinaddukte .....	4
Biochemische Früheffektmarker .....	5
Umweltschadstoffkonzentration und/oder ihre stabilen Metaboliten in Geweben und Körperflüssigkeiten .....	6
Biokinetische und Stabilitätsaspekte von Biomarkern.....	8
Validitätsaspekte von Studien, die Biomarker benutzen (Beziehung zur Umweltbelastung) .....	9
Die Anwendung von Biomarkern in epidemiologischen Studien.....	11
Anwendung von Biomarkern in Populationsstudien über nichtmaligne Erkrankungen.....	13
Ethische Fragen .....	14
Schlußfolgerungen .....	14
Empfehlungen .....	17
Anhang 1: Arbeitspapiere .....	22
Anhang 2: Teilnehmer .....	24

...the ...

...the ...

...the ...

...the ...

...the ...

...the ...

...the ...

...the ...

...the ...

...the ...

...the ...

...the ...

...the ...

...the ...

...the ...

...the ...

...the ...

...the ...

## EINLEITUNG

Die möglichen Auswirkungen der chemischen Umweltverschmutzung auf die menschliche Gesundheit haben in der Öffentlichkeit weltweit Besorgnis ausgelöst und weitgehend die Aufmerksamkeit von Gesetzesorganen auf sich gezogen. Als Folge davon wurden in den meisten Ländern der Europäischen Region der WHO Maßnahmen zur Verhinderung und Bekämpfung chemischer Gefahren getroffen. Die gesetzlichen Bestimmungen für neue Chemikalien wurden auch durchgesetzt, gründen sich aber nahezu ausschließlich auf vor der Vermarktung durchgeführte toxikologische Untersuchungen. Bedarfsgerechte Toxizitätsdaten sind für die Beurteilung der bestehenden Chemikalien und ihrer Auswirkungen auf die Umwelt unabdingbar, doch die aus Tieruntersuchungen im Labor gewonnenen Informationen können das endgültige Resultat der menschlichen Belastung durch Umweltfaktoren nicht mit absoluter Sicherheit vorhersagen. Überaus wichtig ist es deshalb, daß man dazu weitere toxikologische Informationen über eine bereits in der menschlichen Umwelt vorzufindende Chemikalie nutzt. Diese Informationen lassen sich für gewöhnlich aus epidemiologischen Studien entnehmen.

Im Prinzip sollten epidemiologische Studien den Hintergrund für die endgültige Risikoabschätzung von Umweltfaktoren liefern. Damit sie das leisten können, muß jedoch die korrekte Expositionsabschätzung Bestandteil solcher Studien sein. Die Expositionsabschätzung hat sich in der Umweltepidemiologie als größere Schwierigkeit erwiesen. Ein Großteil der epidemiologischen Forschung ist retrospektiv angelegt, die Expositionsrekonstruktion ist aufgrund inadäquater Informationen über die Expositionsanamnese der Untersuchungspersonen schwierig. In den meisten bisher durchgeführten epidemiologischen Studien stützten sich Expositionsabschätzungen auf die Messung der Umweltwerte einer bestimmten chemikalischen Substanz, was dann mit dem Wissen darüber verbunden wird, wo sich die Untersuchungspersonen in dieser Umwelt aufhalten (Wohn- oder Arbeitsgeschichte, Lebensgewohnheiten usw.). Zur Erörterung der mit diesen Methoden der Expositionsabschätzung verbundenen

Probleme wurde vom 14. bis 15. August 1993 in Stockholm eine WHO-Beratungstagung abgehalten.

Biologische Marker oder Biomarker können potentiell die Methoden zur Abschätzung der Exposition gegenüber Umweltfaktoren verbessern. Deshalb sind diese Techniken grundlegend wichtig für die Risikoabschätzung. Biologische Marker ermöglichen die Abschätzung der biologischen Effektivdosis, die sich aus der Exposition gegenüber unterschiedlichen Umweltmedien ergibt. Außerdem eröffnen sie die Möglichkeit einer sensibleren Einschätzung (vermuteter) Wirkungen. Darüber hinaus erlauben sie eine frühere Erkennung gesundheitlicher Resultate mit langer Latenzzeit (z. B. Karzinogenese). Zudem könnten biologische Marker zur Erkennung interindividueller Variationen bei der Reaktion auf die Belastung durch Umweltfaktoren und zur Ermittlung von besonders gefährdeten Bevölkerungsgruppen beitragen. Letztlich könnten sie auch für die Klärung der Mechanismen nützlich sein, durch die sich Umweltfaktoren negativ auf die Gesundheit auswirken, und damit die Grundlage für eine wirksame Festlegung von Prioritäten und Präventivstrategien bilden.

Der Bereich der biologischen Marker befindet sich noch im Frühstadium der Entwicklung. Für epidemiologische Zwecke stehen nur wenige valide biologische Marker zur Verfügung, und zwar sowohl im Hinblick auf die Abschätzung der Bevölkerungsexposition als auch in bezug auf die Quantifizierung der Risikoabschätzung. Eingedenk dieser Begrenzungen ist es offensichtlich, daß die künftige Anwendung von biologischen Markern voraussetzt, daß sich Toxikologen und Epidemiologen der Aufgabe integrativ nähern. Zunächst einmal muß festgestellt werden, welcher Bedarf für die Weiterentwicklung der verfügbaren Methoden besteht, und außerdem muß man sich auf die Kriterien für die Validierung der biologischen Marker einigen, die den Zusammenhang zwischen dem gemessenen Parameter und dem tatsächlichen Niveau der Umweltbelastung aufzeigen sollen. Die Validierung der Methoden ist vor allem bei größeren Bevölkerungsstudien besonders wichtig.

Zweck der Beratungstagung über Leitprinzipien für den Gebrauch von biologischen Markern bei der Abschätzung der

menschlichen Exposition gegenüber Umweltfaktoren war es, Toxikologen und Epidemiologen zusammenzubringen und sie die bestehenden, sich auf Biomarker stützenden Methoden einer Abschätzung der Belastung durch Karzinogene und Nichtkarzinogene im Hinblick auf ihre Validität, ihre Anwendbarkeit für die Expositionsabschätzung und/bzw. Risikoevaluierung sowie ihre praktische Brauchbarkeit in auf die allgemeine Umwelt bezogenen Bevölkerungsstudien erörtern zu lassen. Die Beratungstagung wurde von der Bilthovener Außenstelle des Europäischen WHO-Zentrums für Umwelt und Gesundheit veranstaltet und finanziell von der niederländischen „Stichting Fondsenwervingsacties Volksgezondheid“ unterstützt, Gastgeber war die Abteilung für Epidemiologie und Präventivmedizin der Medizinischen Fakultät der Universität Krakau. An der Tagung beteiligten sich Experten aus neun Ländern sowie WHO-Mitarbeiter. Professor K. Hemminki wurde zum Vorsitzenden, Dr. J.C. Larsen zum Berichterstatter gewählt. Die Arbeitspapiere und Teilnehmer sind in den Anhängen 1 und 2 aufgeführt. Die Arbeitspapiere der Beratungstagung werden in einem Sonderheft von *Toxicology* veröffentlicht.

Neben der Überprüfung bestehender Methoden verfolgte die Beratungstagung den Zweck, eine Reihe von Leitprinzipien aufzustellen, die die Berechtigung und die Kriterien für den Biomarkergebrauch, die Begrenzungen von biomarkerbezogenen Abschätzungen, Confounderprobleme, Aspekte der Untersuchungspläne, Validierungsbedarf und ethische Fragen abdecken sollten.

Besonderes Schwergewicht legte man auf:

- DNA und Protein-Addukte;
- Konzentrationen von Umweltschadstoffen und/oder ihre stabilen Metaboliten in Gewebe und Körperflüssigkeiten;
- frühe biochemische Effektmarker, z. B. für Enzyminduktion, onkogene Aktivierung, Marker für oxydative Schäden;
- biokinetische und Stabilitätsaspekte von Biomarkern;
- Validitätsaspekte der mit Biomarkern arbeitenden Studien (Beziehung zur Umweltbelastung);

- Anwendung von Biomarkern in epidemiologischen Studien.

## DISKUSSION

Ziel des biologischen Expositionsmonitoring ist es, die interne oder, idealerweise, die biologische Effektivdosis (oder Zieldosis) festzustellen. Das liefert dann eine Grundlage für die Abschätzung der gesundheitlichen Risiken einer Chemikalie. Diese Abschätzung stützt sich auf die Messung von Markern in verschiedenen biologischen Medien wie Blut, Alveolarluft, Harn oder Geweben. Diese Biomarker könnten aus der Konzentration der Elternverbindung oder ihrer Metaboliten bestehen, die in nicht schädlichem biologischem Effektverhältnis zur internen Dosis steht, oder ansonsten aus der Menge der Chemikalie die kovalent mit den Zielmolekülen (Addukten) interagiert. Sie lassen sich als biologisch meßbare Indikatoren der internen Dosis definieren, die bei der Untersuchung der Assoziationen zwischen Exposition und negativen Auswirkungen als unabhängige (oder möglicherweise vermengende) Variable benutzt werden kann. Neben den Belastungsbiomarkern gibt es auch Biomarker für Effekte und Anfälligkeit. Die Teilnehmer der Tagung konzentrierten sich hauptsächlich auf Belastungsbiomarker.

### DNA und Proteinaddukte

Viele karzinogene Chemikalien verursachen durch Adduktbildung in Ziel- und Nichtzielgewebe DNA-Schäden. Addukte bilden sich auch in der RNA und in Proteinen und können als Substitutionsmaße für die DNA-Bindung genutzt werden. Methoden zur Bestimmung der DNA-Addukte umfassen das <sup>32</sup>P-Postmarkierungsassay, Immunoassay und synchrone Fluoreszenz-Spektroskopie. Die Reparatur von DNA-Addukten gilt als wichtiger Prozeß, die DNA-Reparaturfähigkeit eines Individuums könnte für die Bestimmung der Anfälligkeit dieser Person wichtiger sein als die Stoffwechselaktivierung. Der Harnausstoß von DNA-Addukten ist ein Maß für die DNA-Reparatur. Außerdem stehen Methoden für die Ermittlung von exkretierten

Ham-RNA- und DNA-Addukten zur Verfügung. Zu den Protein-Addukt-Techniken gehören sowohl immunologische als auch chemische Assays. Diese Techniken wurden bereits in Arbeits- und Umweltstudien eingesetzt. Die quantitativen Aspekte vieler Assays wurden noch nicht analysiert, und es ergeben sich Unterschiede in den von verschiedenen Labors erzielten Resultaten. Außerdem messen unterschiedliche Assays nicht notwendigerweise die gleichen Addukttypen. Die Zusammenhänge zwischen Adduktwerten im Surrogatgewebe und in den Zielorganen sind noch nicht gut geklärt. Wahrscheinlich spiegelt das die Aktivität des xenobiotischen Stoffwechsels und der DNA-Reparatur in verschiedenen Geweben wider. Der Zusammenhang zwischen Addukten und Krankheitsresultat wurde noch nicht etabliert.

### **Biochemische Früheffektmarker**

Unter den an der Stoffwechselaktivierung von Umweltchemikalien zu approximativen oder endgültigen Karzinogenen beteiligten Enzymsystemen ist die Cytochrom-P450 (CYP)-Superfamilie die wichtigste, insbesondere die CYP1A-Familie (polyzyklische aromatische Kohlenwasserstoffe (PAH), aromatische Amine), die CYP2E1-Familie (Nitrosamine, halogenierte Kohlenwasserstoffe) und die CYP3A-Familie (Mykotoxine, PAH). Genetische Polymorphismen der wichtigen karzinogenaktivierenden CYPs wurden noch nicht eindeutig ermittelt. Die Aktivitäten scheinen eingipfelig verteilt zu sein, individuelle Aktivitäten werden leicht durch Umweltfaktoren modifiziert. Cytochrome der P450-Familie sind Biomarker für die Anfälligkeit. Sie können unter Umständen als Effektbiomarker dienen, wenn bestimmte verwandte Enzyme induziert werden oder aufgrund einer bestimmten Exposition eine Genmutation stattfindet. CYP-Aktivitäten lassen sich beim Menschen anhand verschiedener nichtinvasiver Methoden messen, für die nur Blut- oder Urinproben erforderlich sind. Mehrere Enzyme wurden zum Risiko unterschiedlicher Krebsformen in Beziehung gesetzt, doch ohne Zusammenhang mit einem bestimmten Karzinogen.

Immer mehr spricht dafür, daß Neoplasien in vielen Fällen zumindest in zwei Klassen von Zellgenen Veränderungen erfordern:

bei Protoonkogenen, die aktiviert werden, und bei Tumorsuppressorgenen, die inaktiviert werden. Protoonkogene werden unter Umständen zu Onkogenen aktiviert, deren Proteinprodukte für das Zellwachstum und die Zelldifferenzierung wichtig sind. Zu den Mechanismen, durch die solche Gene an der Karzinogenese beteiligt sein können, gehören unter Umständen Einpunkt-Mutationen, Genamplifikationen oder Chromosomentranslokationen. Onkogenaktivierung und Inaktivierung von Tumorsuppressorgenen können sich als Marker von frühen Veränderungen der malignen Transformation herausstellen.

Lebende Organismen sind als Folge biochemischer Reaktionen und externer Faktoren konstant reaktiven Sauerstoffarten ausgesetzt. Die Rate der oxidativen DNA-Modifikationen beim Menschen ist außerordentlich hoch, weshalb eine ausgedehnte Reparatur notwendig ist, doch die sauerstoffmodifizierten Basen in der menschlichen DNA betragen konstant etwa 25 pro  $10^5$  Basen. Die relativ einfache Bestimmung von 8-Desoxyguanosin (8-oxodG) in der DNA aus Ziel- oder zugänglichen Surrogatgeweben durch HPLC mit elektrochemischer Erkennung stellt möglicherweise die wichtigste oxydative DNA-Schädigung dar oder korreliert damit. Die Harnausscheidung von 8-oxodG scheint sich stark als nicht invasiver Biomarker für oxidative DNA-Modifikationen anzubieten. Verschiedene Beweisketten unterstützen die Bedeutung von oxidativen Modifikationen im Alter oder bei degenerativen Veränderungen, z. B. bei Krebs, wobei konstitutioneller und umweltinduzierter oxidativer Streß unter Umständen einen erheblichen Modifikator des individuellen Krebsrisikos darstellt.

### **Umweltschadstoffkonzentration und/oder ihre stabilen Metaboliten in Geweben und Körperflüssigkeiten**

Die Abschätzung der menschlichen Belastung durch toxische Spurenelemente läßt sich durch die Untersuchung geeigneter biologischer Proben vornehmen. An menschlichen Materialien stehen für die Stichprobenahme unter anderem Blut und Urin zur Verfügung, doch auch Haare und Nägel sind brauchbar. Erfolgreich versuchte man auch, die Akkumulation von Blei und nichtmetallischen anorganischen Schadstoffen wie Fluorin in Milchzähnen zu messen, um

die nicht arbeitsbedingte Belastung durch diese Elemente bei Kindern nachzuweisen. Haarsamples lassen sich leichter sammeln, transportieren und lagern als Blut- und Urinsamples. Blut- und Urinkonzentrationen spiegeln die neuere Exposition innerhalb einer relativ großen Bandbreite wider, Haare und Nägel dagegen die Langzeitexposition oder vergangene Expositionen. Die durch die Analyse von Menschenhaar gelieferten Daten können durchaus als Grundlage für die Ermittlung der Bevölkerungsgruppen dienen, die aufgrund überhöhter Umweltkontaminationen besonders gefährdet sind; sie können aber auch den Nutzen von Interventionen und Schutzmaßnahmen widerspiegeln. Bisher hat sich Menschenhaar als brauchbare Probe für die Belastungsabschätzung im Hinblick auf Arsen, Quecksilber und Selen erwiesen. Bei anderen Metallen sind noch weitere Validierungsmaßnahmen erforderlich, bevor man für die Belastungsabschätzung die Menschenhaaranalyse benutzen kann.

Die Werte von organischen Schadstoffen und/oder ihren Metaboliten in Körpergeweben oder -flüssigkeiten sind spezifische Marker für die interne Dosis. Vorausgesetzt ihre toxikokinetischen und dynamischen Eigenschaften sind bekannt, könnten sie auch zur Effektvorhersage genutzt werden. Die meisten organischen Verbindungen werden im menschlichen Körper leicht metabolisiert und ausgeschieden, weshalb sich die Messungen ihrer Konzentrationen im menschlichen Gewebe und im Urin nur für prospektive Studien im Bereich des umweltbezogenen Gesundheitsschutzes gebrauchen lassen. Hinzu kommt, daß der Vorhersagewert einer Belastungsabschätzung von der richtigen zeitlichen Planung und Häufigkeit der Stichprobenahme gemäß den toxikokinetischen Eigenschaften der Verbindung abhängt. In arbeitsmedizinischen Studien haben die Werte organischer Verbindungen und/oder von Metaboliten in Blut, Urin oder Ausatemungsluft für Belastungsabschätzung bereits eine lange Tradition.

Die Konzentrationen dauerhafter organischer Verbindungen, wie von Dioxinen und polychlorinierten Biphenylen (PCB) sind in retrospektiven Studien ebenfalls brauchbare Belastungsmarker, da sich in ihren Gewebekonzentrationen hauptsächlich vergangene Expositionen widerspiegeln. Aus der Kenntnis ihrer biologischen

Halbwertszeit lassen sich mit einem gewissen Konfidenzbereich tatsächliche vergangene Expositionen abschätzen. Neuere Bestimmungen der Dioxinblutwerte und ähnlicher Verbindungen in Blut-samples von Individuen, die in früheren epidemiologischen Studien als schwerbelastet eingestuft worden waren, haben die Schwäche der Belastungsabschätzungen deutlich gemacht, die sich auf die Messungen von Umweltkonzentrationen der Chemikalie stützen und diese mit theoretischen Berechnungen aufgrund des Wissens über die Wohn- oder Arbeitsgeschichte, die Lebensgewohnheiten usw. verknüpfen.

### **Biokinetische und Stabilitätsaspekte von Biomarkern**

Das biologische Monitoring stützt sich in erster Linie auf das Wissen über die Toxikokinetik von Chemikalien. Die kinetischen Aspekte entscheiden darüber, ob der Test wahrscheinlich eine neuere Exposition widerspiegelt oder die Exposition über einen bestimmten Zeitraum hinweg integriert. Der Parameter, der das Verhalten einer Chemikalie in einem biologischen System am besten zusammenfaßt, ist die Eliminierungshalbwertszeit, die sowohl die Affinität der Chemikalie zur biologischen Matrix als auch die Effizienz von Ausscheidungs- oder Stoffwechselprozessen widerspiegelt. Die bei einem bestimmten Test zu berücksichtigende Halbwertszeit bestimmt sich hauptsächlich nach der Zeit der Stichprobenahme. Wird die Stichprobe während der Exposition oder unmittelbar danach entnommen, dann spiegelt die Applikationshalbwertszeit die Eliminierung aus den zentralen Kompartimenten wider, während die relevante Halbwertszeit, wenn das Sample mehrere Tage oder Wochen nach der Exposition entnommen wird, der Eliminierung aus tieferen Kompartimenten entspricht, aus denen die Chemikalie langsamer bereinigt wird. Da sich chemisch induzierte Krankheiten normalerweise erst nach einer wiederholten, sich über viele Jahre erstreckenden Belastung entwickeln, muß man wissen, ob der Biomarker die Kurzzeitbelastung vor der Stichprobenahme widerspiegelt oder ob er die Exposition über einen bestimmten Zeitraum hinweg integrieren kann, der ausreichend lang ist, um zur Entwicklung der Krankheit in Beziehung gesetzt werden zu können.

Die Belastungsbiomarker lassen sich nach vier Hauptkategorien gliedern:

- *Biomarker mit einer Halbwertszeit von unter 12 Stunden.* Vertreter dieser Kategorie sind die Lösungsmittelkonzentrationen in der Alveolarluft oder im Blut.
- *Biomarker mit einer Halbwertszeit von 12 bis 100 Stunden.* Zu dieser Kategorie gehören viele Lösungsmittel oder Metaboliten, die in ihrer Eliminierung eine langsame Komponente (wie Körperfett) enthalten. Auch der Gebrauch von 1-Hydroxypyren als Biomarker für die PAH-Belastung gehört zu dieser Kategorie.
- *Biomarker mit einer Halbwertszeit zwischen 100 Stunden und 6 Monaten.* Zu dieser Kategorie gehören Addukte, die mit DNA und Blut- oder Plasmakonzentrationen von kumulativen Toxinen wie Schwermetallen gebildet werden.
- *Biomarker mit einer Halbwertszeit von über 6 Monaten.* Diese Biomarker spiegeln die Eliminierung kumulativer Chemikalien aus ihren Lagerungsorten wider. Beispiele sind Kadmium in Nieren, Blei in Knochen sowie Dioxine und PCBe in Serum oder adipösem Fett. Sie lassen sich in epidemiologischen Untersuchungen zur quantitativen Abschätzung der kumulativen Exposition einsetzen.

Wird ein Biomarker in epidemiologischen Studien zur Belastungsabschätzung gebraucht, so ist es sehr wichtig, die Stabilität dieses Markers bei Transport und Lagerung zu berücksichtigen. Die Stabilität des Markers wird wahrscheinlich am ehesten durch Faktoren wie Verdampfung, chemische Minderung, Ausfällung, Absorption an Gefäßoberflächen und Kontamination beeinträchtigt.

### **Validitätsaspekte von Studien, die Biomarker benutzen (Beziehung zur Umweltbelastung)**

Biomarker könnten sich bei epidemiologischen Feldstudien zu Umweltbelastungen insofern als nützlich erweisen, als sie die

Wiederholungsgenauigkeit von Belastungsabschätzungen erhöhen. Die Validitätsbestimmung von Belastungsbiomarkern ist allerdings ein mühseliger Prozeß. Es handelt sich dabei auch um einen Prozeß, der die Zusammenarbeit zwischen Labor- und Praxiswissenschaftlern notwendig macht, wenn biologische Belastungsmarker in der Umweltepidemiologie brauchbare Instrumente sein sollen. Valide Belastungsbiomarker sind diejenigen Dosismarker, die biologische Relevanz, eine definierte Pharmakokinetik, zeitliche Relevanz und eine definierte natürliche Variabilität besitzen.

### *Biologische Relevanz (inhaltliche Validität)*

Wenn ein Belastungsmarker biologische Relevanz besitzt, ist er Teil einer Ereigniskette, die ein Teilset von Expositionsmöglichkeiten sowie ein Pool bildet, aus dem heraus wahrscheinlich Resultatereignisse auftreten werden. Folglich besitzt ein durch PAH-Belastung gebildetes DNA-Addukt inhaltliche Validität, wenn es die Wechselwirkung zwischen PAHen und DNA darstellt. Die Validität eines Belastungsmarkers hängt davon ab, inwieweit er sowohl mit der Exposition als auch mit dem Outcome in Zusammenhang steht. Dieser Zusammenhang läßt sich in Humanstudien nur schwer nachweisen. Beim derzeitigen Wissensstand ist eher die Diskussion von Gruppenrisiken als von individuellen Risiken angezeigt.

### *Definierte Pharmakokinetik*

Die Kenntnis der Pharmakokinetik ist für die Festlegung der Häufigkeit und der zeitlichen Abfolge der Stichprobenahme und der für die Studie geeignetsten Gewebe oder Flüssigkeiten wichtig. Sie bestimmt zudem die Interpretation der einem Zielgewebe oder einem Surrogat entnommenen Dosis- und Wirkungsdaten.

### *Zeitliche Relevanz*

Die zweckgerechte Entnahme biologischer Proben erfordert ein klares Verständnis der zeitlichen Beziehungen zwischen Markern und externer Belastung oder Markern und einer Krankheit. Ob ein Marker neuere oder kumulative Expositionen, Gipfel oder Durchschnitte widerspiegelt, hängt von der Pharmakokinetik der

Chemikalie und ihrer Beständigkeit in der biologischen Probe ab. Die meisten Messungen einer internen Dosis geben neuere Expositionen wider. Ausnahmen bilden Substanzen, die fettlöslich sind und in adipösem Gewebe gelagert werden. Hämoglobin ist während der viermonatigen Lebensdauer der Erythrozyten ein guter Integrationsdosimeter. Das Albumin im Humanserum besitzt dagegen eine Halbwertszeit von 20 bis 25 Tagen. Die Kinetik von Markern wie karzinogenen DNA-Addukten verkompliziert sich durch die Tatsache, daß es in der DNA offensichtlich zwei Addukt-kompartimente gibt. Die Mehrheit der Addukte geht aufgrund von Reparatur-tätigkeiten schnell verloren, während andere Addukte in einem langlebigeren und mit dem Zellumsatz konsistenten Kompartiment bleiben.

### *Definierte natürliche Variabilität*

Wichtig ist, daß man die Werteskala eines bestimmten Markers innerhalb einer „Normalpopulation“ kennt. Urpopulationen sind selten, selbst nicht exponierte Populationen sind im allgemeinen einer gewissen Exposition unterworfen. Diese Mengen können sich stark unterscheiden. Für eine bestimmte Studie muß jedoch die normale Spannbreite bekannt sein, um die Interpretation von Anomalitäten zu ermöglichen. Darüber hinaus trägt die interindividuelle und intraindividuelle Variation beim Monitoring oder in epidemiologischen Studien stark zu „Noise“ oder Hintergrund bei und sollte vor der weiträumigen Anwendung eines bestimmten Biomarkers gekennzeichnet werden.

Außerdem sollte man in Studien, die biologische Marker benutzen, Störvariable berücksichtigen. Zu diesen Faktoren gehören Alter, Geschlecht, Rasse, Rauchen, Alkoholkonsum, Ernährung, Drogengebrauch, genetische Faktoren und im voraus bestehende Gesundheitsprobleme. Assayvariabilität macht die potentielle Assoziierung tendenziell ebenfalls unklar.

## Die Anwendung von Biomarkern in epidemiologischen Studien

Sollen Belastungsbiomarker in epidemiologischen Studien von Nutzen sein, braucht man Daten, die zeigen, daß das Niveau der Biomarker fest mit verschiedenen quantitativen Werten der externen Exposition korreliert. Außerdem sollte nachgewiesen werden, daß eine Einzelabschätzung von Biomarkern eine langfristig vorherrschende Exposition widerspiegelt, wie sie allgemein in der Umweltepidemiologie untersucht wird. Wenn solche Belege fehlen, müssen laufende Studien gründlich darzulegen versuchen, welche anderen (nicht umweltbedingten) Faktoren die Biomarkerwerte eines Individuums beeinflussen. Es gibt bisher nur spärliche Informationen darüber, inwieweit sich vergangene Expositionen in der heute durchgeführten Abschätzung von Biomarkern für diese Exposition oder in einem damit zusammenhängenden biologischen Früheffekt niederschlagen können.

Belastungsbiomarker in der Krebs epidemiologie sollen eine quantitative Risikoabschätzung ermöglichen, die genauer ist als eine Abschätzung, die mit externen Expositionsmessungen arbeitet. Der Einsatz von Biomarkern erlaubt es außerdem, Populationen oder Individuen in einer Phase des karzinogenen Prozesses zu ermitteln, in der Interventionen den Krebs noch verhindern oder heilen können. In dieser Hinsicht dient der Marker als abhängige Variable, die ein biologisches Expositionsergebnis mit vorhersagbarer Krebsassoziation aufzeigt.

Bevor man jedoch Marker in dieser Weise einsetzen kann, müssen die Assoziationen zwischen Exposition, Marker und Krebsinzidenz festgestellt werden. Sobald die Marker als echte biologische Reaktionen auf spezifische Expositionen validiert worden sind, müssen die quantitativen Zusammenhänge zwischen Exposition, Markerausdruck und Krebsrisiko festgestellt werden. Für diese Untersuchungen braucht man epidemiologische Methoden, um feststellen zu können, welcher Krebsanteil sich biologischen, den Marker angehenden Wegen zuordnen läßt, und inwieweit der Marker die karzinogene Reaktion auf die Exposition vermittelt. Um diese Information zu erlangen, kann man die herkömmlichen epidemiologischen Maße des attributiven Anteils und des bereinigten

relativen Risikos benutzen. Die Maße lassen sich ohne weiteres aus Fallkontroll- und Kohortenstudien ableiten. Es bleibt jedoch noch eine Reihe von methodischen Problemen zu lösen, z. B. die Fragen, wie man methodisch so vorgeht, daß man durch verschiedene Mechanismen bestimmte Pfade zwischen Expositionen und dem betreffenden Marker unterscheiden kann, wie man wichtige, echt als Confounders auftretende Faktoren bestimmt und Methoden anwendet, die Informationen über Variable wie die Halbwertszeit eines Markers, die Pharmakokinetik, den Zellenumsatz und Reparaturmechanismen beinhalten.

Gesundheitsverträglichkeitsprüfungen auf der Grundlage von Belastungsbiomarkern sollten mit Abschätzungen verglichen werden, die sich auf die externe Exposition gründen, wobei sich beide auf dieselbe umweltbelastete Population beziehen sollten. Außerdem sollten beide Vorhersagen mit dem tatsächlichen Outcome verglichen werden. Zur Vorhersage von „lokalen“ Effekten ist die externe Exposition fast immer vorzuziehen. Im Vergleich zur externen Exposition könnten Biomarker theoretisch gesehen Systemeffekte besser vorhersagen, doch ihre Reduzierung auf einen Umweltsprung ist oft weniger treffsicher.

### **Anwendung von Biomarkern in Populationsstudien über nichtmaligne Erkrankungen**

Die Kennzeichnung der Exposition anhand von Biomarkern ist wichtig für die Definition der Zusammenhänge zwischen Belastung und nichtmaligner Erkrankung. Die Feststellung akuter Auswirkungen nach der Exposition hat u. U. nicht immer ihre Parallelen in der plötzlichen Zunahme eines Markers (im Blut oder im Urin). Besonders gilt das für ein Zielorgan wie die Lunge, die nach einer akuten Exposition eine Sofortreaktion zeigen kann, bevor sich in einem biochemischen oder biologischen Indikator eine Veränderung bemerkbar macht.

Die Situation ist u. U. weniger komplex, wenn man sich mit Langzeitbelastungen in Relation zu einer chronischen Krankheit befaßt. Da chronische Krankheiten ihre Grundlage oft in multifaktoriellen pathogenen Mechanismen haben (z. B. Asthma, chronische Bronchitis, ischämische Herzkrankheit), sollte die Feststellung von

Biomarkern es ermöglichen, die mit einer konstanten Langzeitbelastung verbundenen Veränderungen zu kennzeichnen (z. B. 20 bis 30 Jahre Rauchen, langes Leben in einem Stadtgebiet).

Die individuelle Prädisposition sollte ebenfalls festgestellt werden. In der Tat könnten gut definierte Faktoren bestimmen, inwieweit das Risiko besteht, daß bestimmte chronische Krankheiten auftreten, z. B. Atopie oder Bronchialhyperreaktivität für die chronische Lungenverschlußkrankheit. Deshalb ist u. U. die Exposition von anfälligen Individuen sogar noch signifikanter. Außerdem ist es wichtig, daß man sich versichert, ob die Langzeitbelastung an sich oder im Zusammenhang mit anderen Faktoren zur Entwicklung der Krankheit führen kann, und in dieser Hinsicht könnten Biomarker nützlich sein. Der Einsatz von Biomarkern in großen Bevölkerungsstudien würde eine bessere Abschätzung der Langzeitbelastung ermöglichen und einerseits das Verständnis für die Zusammenhänge zwischen verschiedenen Faktoren, andererseits für deren Zusammenhang mit gesundheitlichen Outcomes verstärken.

### **Ethische Fragen**

Der Einsatz von biologischen Markern in Humanstudien wirft eine Vielzahl von ethischen Fragen auf, u. a. folgende: Kann man für einen bestimmten Zweck gesammelte Proben auch für künftige Zwecke ausnutzen? Wie sollte man Biomarkerassay und Untersuchungsergebnisse interpretieren und den Untersuchten vermitteln? Wer sollte Zugang zu Biomarkerinformationen haben? Wie sollte man die psychologischen Schäden einkalkulieren, wenn man Versuchspersonen für Biomarkerstudien sucht?

Es sollte stark betont werden, daß z. Z. noch ungewiß ist, wieviel die meisten Marker zu einem Risiko beitragen, und zwar deshalb, weil viele Forscher diese Marker in Interventionsstudien benutzen, als seien die Zusammenhänge bereits eindeutig klargestellt.

## SCHLUSSFOLGERUNGEN

1. Neben den herkömmlichen Methoden zur Abschätzung von Umweltbelastungen können auch Biomarker Auskunft über zahlreiche Fragen geben.
  - a) Das Erkennen toxischer Metalle in menschlichem Probenmaterial könnte dazu beitragen, die integrative Multimediale Belastung durch toxische Metalle und Metalloide zu bestimmen.
  - b) In retrospektiven Studien sind die Werte von dauerhaften organischen Verbindungen als Belastungsmarker brauchbar, da ihre Gewebekonzentrationen vor allem frühere kumulative Belastungen widerspiegeln.
  - c) Gut validierte Belastungsbiomarker können für die Beurteilung der Interventionseffektivität nützlich sein, z. B. bei Blutbleiwerten oder ähnlichen Markern, die in der untersuchten Matrix nicht kumulieren.
2. Historische Daten sind für Umweltstudien zwar immer noch brauchbar, äußerst wünschenswert sind jedoch verlässlichere Belastungsmessungen als die Kombination aus Umweltkonzentrationen und Schätzwerten wie Wohngeschichte, Berufsbezeichnung, Lebensgewohnheiten und individuellen subjektiven Auffassungen.
3. Eine sinnvolle Anwendung von Belastungsbiomarkern in epidemiologischen Studien oder in irgendeiner anderen Situation ist nur dann möglich, wenn Informationen über die Toxikokinetik/Toxikodynamik und die Stabilität des gemessenen Parameters vorliegen und dessen Signifikanz als Index der neuesten oder vergangenen Exposition festgestellt wurde.
4. Bei nicht-neoplastischen Krankheiten, bei denen der Einsatz von Biomarkern zur Evaluierung chronischer Auswirkungen

geeigneter erscheint, ist es besonders wichtig, die zeitlichen Zusammenhänge mit der Exposition zu verstehen.

5. Ungeachtet der Notwendigkeit von Validierungsstudien sollten Biomarker vorzugsweise in prospektiven Studien mit gelagerten biologischen Proben angewandt werden. Die Analyse aufbewahrter Proben von Fall- und Kontrollpersonen innerhalb einer Kohorte (Klumpenfallkontrollstudie) stellt eine elegante epidemiologische Methode dar. Es muß jedoch auch noch zusätzlich nachgewiesen werden, daß die Langzeitaufbewahrung von Proben die Messung der biologischen Marker nicht beeinträchtigt.
6. Man sollte vorsichtig sein, wenn man betont, daß herkömmliche Expositionsmessungen den Biomarkern vorzuziehen seien, wenn beide in gleicher Weise mit Risiken assoziiert werden, weil bisher noch keine gut kontrollierten, statistisch aussagekräftigen Studien über den Zusammenhang von Markern mit dem Risiko verschiedener Krankheiten, vor allem Krebs, durchgeführt worden sind.
7. Die Resultate lassen sich gruppenweise oder individuell interpretieren. Die individuelle Interpretation kann nur für bestätigte Resultate ins Auge gefaßt werden, und auch nur dann, wenn man sich auf quantitative Zusammenhänge zwischen der internen Dosis und der externen Belastung oder dem Risiko toxischer Effekte beziehen kann. Leider steht letztere Information nur für eine sehr begrenzte Zahl von Belastungsmarkern zur Verfügung. Für den weitaus größten Teil der Biomarker, die z. Z. entwickelt werden (z. B. Addukte mit DNA oder Protein), ist nur eine Gruppeninterpretation durchführbar.
8. Kleinere Variationen in der Sensibilität oder Spezifität des Markerassays können das beobachtete Risiko stark verzerren, wenn die Prävalenz des Markers hoch (Sensibilitätseffekt) oder niedrig (Spezifitätseffekt) ist.

9. Gebraucht werden Informationen darüber, wie Anfälligkeit die Auswirkungen der Belastung durch Umweltchemikalien verändern könnte. Um die Schärfe von epidemiologischen Studien zu stärken, sollte man Biomarker für die Anfälligkeit aufnehmen, die vorzugsweise nach ihrer Bedeutung für die Chemikalienaktivierung auszuwählen sind.
10. Man sollte zwischen spezifischen und nichtspezifischen Biomarkern unterscheiden. Nichtspezifische Biomarker sind u. U. besonders wichtig für die Abschätzung von Auswirkungen multipler Expositionen und könnten wahlweise durch selektive Biomarker ergänzt werden.
11. Die Validierung muß sowohl im Labor als auch auf Populationsebene durchgeführt werden. Die Abschätzung der Populationsvalidität beinhaltet die Bestimmung der Variabilität in Teilgruppen der Population. Diese Studien machen den Einsatz epidemiologischer Methoden erforderlich.

## EMPFEHLUNGEN

Die folgenden Empfehlungen dienen als Leitprinzipien für den Einsatz von Biomarkern.

1. Die brauchbarsten Marker für Bevölkerungsstudien sind diejenigen, die die vom Organismus oder noch besser vom Zielorgan/den Zielorganen aufgenommene Dosis über eine toxikologisch relevante Belastungszeit hin integrieren. Solche Marker gibt es für Schwermetalle (z. B. Kadmium im Urin oder Blei in den Knochen). Sie können auch für nichtkumulative Chemikalien entwickelt werden, die imstande sind, Addukte mit Makromolekülen zu bilden, die eine lange Halbwertszeit besitzen. Die Anwendung dieser Marker in der Epidemiologie und im Zusammenhang mit den klassischen Methoden der Belastungsabschätzung sollte gefördert werden, da diese Marker

verlässliche unabhängige Variable für die Untersuchung von Dosis-Wirkungs-Beziehungen darstellen.

2. Die epidemiologische Anwendung von Biomarkern kann für das Verständnis der Mechanismen von nicht-neoplastischen Krankheiten nützlich sein, um die Beziehung zu Risikofaktoren zu verstehen usw. Man könnte verschiedene epidemiologische Studien vorschlagen, z. B. Querschnittsstudien, die verschiedene Umweltsituationen vergleichen, oder Klumpenfallkontrollstudien. Prospektive Studien könnten Auskunft über die Brauchbarkeit im Hinblick auf die Krankheitsvorhersage geben. Zusätzliche Arbeiten sind erforderlich für Studienanordnung und Analysemethoden, um die Information über konkurrierende Wege zwischen Exposition und Krankheit zu verbessern.
3. Epidemiologische Studien über schadstoffinduzierte Krankheiten sollten mit Markern arbeiten, die frühtoxische Effekte an Zielorganen aufspüren können (frühe Krankheitsmarker).
4. Bei der Wahl zwischen externen Expositionsparametern (EE) gegenüber Belastungsbiomarkern (BM) zur Vorhersage des gesundheitlichen Risikos durch Umweltbelastungen für einen spezifischen Teil der Bevölkerung sollten zumindest die folgenden Aspekte berücksichtigt werden:
  - Auswirkungen auf Oberflächengewebe setzen normalerweise EE voraus;
  - das Vorhandensein anfälliger Teilgruppen aufgrund von Toxikokinetik oder Verhalten erfordert BM;
  - die Voraussagevalidität jedes einzelnen (abhängig von der Ausarbeitung und der zwischen Exposition und Untersuchung verstrichenen Zeit);
  - Verfügbarkeit von EE oder BM für Wirkungsbeziehungen (oder spezifische, gesundheitsbezogene, zulässige Grenzwerte);

- 
- zu erwartende Zusammenarbeit und psychologische Reaktion der Bevölkerung (nach Information);
  - Kosten.
5. Es sollte eine Begründung dafür geben, daß man statt der klassischen Methoden der Belastungsabschätzung Marker benutzt.
  6. Aufgrund der in den meisten Fällen erforderlichen hohen analytischen chemischen Sensibilität und der Komplexität von Umweltbelastungen müssen in die Messung der Gewebekonzentrationen von Schadstoffen und/oder der Metaboliten als Belastungsbiomarkern Qualitätskontrollverfahren eingebaut werden. Damit Vergleiche zwischen verschiedenen Studien möglich werden, sollten Interlaborstandardisierungen vorgenommen werden.
  7. Festgestellt werden muß, wie man andere, für die Bildung von Markern, die Kinetik und Dynamik relevante Informationen einbeziehen und die Rolle möglicher Confounder oder Effektmодifikatoren im Kontext des Belastungs→Marker→Krankheitsparadigmas ermitteln kann.
  8. Marker mit kurzer Halbwertszeit, die eine erst kurz zurückliegende Belastung widerspiegeln, müssen in Bevölkerungsstudien mit Vorsicht eingesetzt werden. Diese Marker könnten zu einer Fehlklassifizierung von Individuen mit integrierten Äquivalentdosen führen und dabei die Analyse der Dosis-Wirkungs-Beziehungen verzerren. Sie müssen immer zusammen mit anderen Indizes für die vergangene Exposition eingesetzt werden, die zumindest auch die Dauer der Exposition einschließen. Eine integrierte Abschätzung der kumulativen Exposition unter Einbeziehung der Expositionsdauer läßt sich nur dann vornehmen, wenn Daten aus einer wiederholten Probenahme vorliegen. Wenn solche Daten nicht vorliegen, können diese Marker vor allem die Exposition bestätigen, die sich nicht zeitlich extrapolieren läßt. Brauchbar könnten diese Marker jedoch sein für

die Identifizierung nicht vermuteter Confounder oder die Verbesserung der Adjustierung für bekannte Confounder (z. B. Rauchen).

9. Es ist zu überlegen, ob der Gebrauch von Biomarkern in Medien (Blut oder Urin), die keine Ereignisse in den Zielorganen widerspiegeln, nicht zu begrenzen wäre. Es ist wichtig, Biomarker zu entwickeln, die das Geschehen in Zielorganen kennzeichnen können.
10. Der Untersuchende sollte sich Informationen über Confounder beschaffen, beispielsweise über demographische und Verhaltensfaktoren, aber auch über Nebeninformationen wie die historische Exposition. Das gleiche gilt gegebenenfalls für Anfälligkeitsfaktoren.
11. Bei einer Exposition gegenüber komplexen Gemischen ist es ratsam, sich einer Reihe von Markern zu bedienen, u. a. spezifischer und nichtspezifischer Belastungsmarker, da die Einbeziehung von mehr als einem Biomarker die Sensibilität erhöhen und ihre prädiktive Schärfe in epidemiologischen Studien stärken kann.
12. Aufgrund der geringen Zahl von Individuen ist die statistische Schärfe der meisten bisher durchgeführten Studien noch nicht groß genug. Man sollte immer mit Irrtümern in der Expositionsmessung oder bei den Biomarkern rechnen, und die Studie sollte so angelegt sein, daß die statistische Schärfe darin ausdrücklich berücksichtigt wird.
13. Die Wahl der Population ist eine Schlüsselfrage bei der Abschätzung der Dosis-Wirkungs-Beziehung. Eine repräsentative Probe ist in dieser Hinsicht u. U. nicht immer die optimale Lösung. Man könnte erwägen, anders vorzugehen, beispielsweise eine ausreichend große Gruppe von Individuen mit distinkten Belastungen wählen.

- 
14. Um die derzeitigen Probleme beim Gebrauch von Biomarkern überwinden zu können, braucht man Validierungsstudien mit folgenden Charakteristika:
- Epidemiologische Studien mit gründlicher Kontrolle der Vermengung gehen vom Individuum aus (Kohorten- oder Fallkontrollstudien). Folglich müssen das auch Validierungsstudien zu Biomarkern tun.
  - Quantitative, auf Individuen bezogene Daten über die externe Gesamtbelastung sollten zu quantitativen Messungen des Biomarkerstatus in Beziehung gesetzt werden. Bei dieser Methode könnten Confounder ebenfalls durch Biomarker beurteilt werden. Die externe Exposition sollte durch spezielle Monitoring- oder Probenahmesysteme abgeschätzt werden.
  - Die wiederholte Probenahme von Biomarkern ist wesentlich, wenn man feststellen will, ob eine einzige Messung für Langzeitexpositionen repräsentativ sein könnte. Solche Studien sind dringend notwendig und sollten wie oben erwähnt, soweit möglich zu Korrelationszwecken durch die parallele Abschätzung der externen Exposition ergänzt werden.
  - Soweit das möglich ist, sollte abgeklärt werden, ob die z. Z. vorhandenen Biomarker eine vergangene externe Exposition gültig widerspiegeln können. Für eine Validierungsstudie dieser Art sollten frühere externe Expositionsmessungen auf individueller Ebene mit den auf das Individuum bezogenen Biomarkermessungen der Gegenwart korreliert werden.
15. Um den Zusammenhang zwischen Exposition und Adduktniveau etablieren zu können, müssen spezifische Adduktteste weiterentwickelt werden. Das läßt sich mit Hilfe von Standardverbindungen durchführen, die auch eine Quantifizierung in

den Assays ermöglichen. Eine internationale Bank für im Postmarkierungsassay brauchbare Standardverbindungen wäre ein wichtiger Fortschritt im Humanbiomonitoring. Spezifische DNA-Addukte sollten mit spezifischen Proteinaddukten in denselben Studien bestimmt werden.

16. Epidemiologische Studien, die mit Belastungsbiomarkern arbeiten, sollten sich auf die Zusammenhänge zwischen interner Dosis und Wirkungen in einer späteren Phase konzentrieren, um die gesundheitliche Signifikanz und den Vorhersagewert des Markers abschätzen zu können.
17. Der Untersuchende sollte erkennen, welche Fülle von ethischen Problemen der Gebrauch von biologischen Markern aufwirft.

*Anhang I***ARBEITSPAPIERE<sup>1</sup>**

- ICP/PCS 204/6                      Validity criteria for the use of biological markers of exposure to chemical agents in environmental epidemiology, von P. Schulte
- ICP/PCS 204/7                      DNA and protein adducts, von K. Hemminki.
- ICP/PCS 204/8                      Early biochemical markers of effects: enzyme induction, oncogene activation and markers of oxidative damage, von H. Poulsen
- ICP/PCS 204/9                      Use of human hair as biomarker in the assessment of exposure to pollutants in occupational and environmental settings, von V. Bencko
- ICP/PCS 204/10                      Levels of pollutants and their metabolites – exposures to organic substances, von J.C. Larsen
- ICP/PCS 204/11                      Biokinetics and stability aspects of biomarkers. Recommendations for application in population studies, von A. Bernard
- ICP/PCS 204/12                      Application of biomarkers in population studies for respiratory non-malignant diseases, von P. Paoletti

---

<sup>1</sup> Exemplare sind erhältlich beim Europäischen WHO-Zentrum für Umwelt und Gesundheit, Bilthoven, Niederlande.

- ICP/PCS 204/13                      Application of biological markers  
in cancer epidemiology,  
von B. Trock
- ICP/PCS 204/14                      Design of studies for validation of  
biomarkers of exposure and their  
effective use in environmental  
epidemiology,  
von J. Wahrendorf
- ICP/PCS 204/15                      Biomarkers of exposure versus  
parameters of external exposure;  
practical applications in estimating  
health risks,  
von M. Verberk
- ICP/PCS 204/16                      Application of biomarkers in  
heavily polluted industrialized  
areas of countries of central and  
eastern Europe,  
von G. Motykiewicz
- ICP/PCS 204/17                      Environmental determinants of  
CYP1A1 Induction in placental  
tissue in populations with different  
ambient air pollution exposures.  
The Cracow Study,  
von W. Jedrychowski

---

*Anhang 2***TEILNEHMER****Berater auf Zeit**

Professor Vladimir Bencko

Institut für Hygiene und Epidemiologie, Erste Medizinische Fakultät,  
Karls-Universität, Prag, Tschechische Republik

Professor Alfred Bernard

Abteilung für Industrietoxikologie und Arbeitsmedizin, Katholische  
Universität Leuven, Brüssel, Belgien

Professor Kari Hemminki

Zentrum für Ernährung und Toxikologie, Karolinska Institut,  
Huddinge, Schweden (*Vorsitzender*)

Professor Wieslaw Jedrychowski

Leiter der Abteilung für Epidemiologie und Präventivmedizin,  
Medizinische Fakultät der Universität Krakau, Polen

Dr. John Chr. Larsen

Institut für Toxikologie, Dänisches Amt für Lebensmittelkontrolle,  
Ministerium für Gesundheit, Søborg, Dänemark (*Berichterstatter*)

Dr. Paolo Paoletti

CNR-Institut für klinische Physiologie, Universität Pisa, Italien

Dr. Henrik E. Poulsen

Abteilung Pharmakologie, Panum-Institut, Universität Kopenhagen,  
Dänemark

Dr. Paul A. Schulte

Chief of Screening and Notification Section, Industrywide Studies  
Branch, National Institute for Occupational Safety and Health,  
Cincinnati, OH, USA

Dr. Bruce J. Trock

Director of Biostatistics and Epidemiology, Lombardi Cancer  
Research Center, Georgetown University, Washington, DC, USA

Dr. Maarten M. Verberk

Coronel-Laboratorium, Universität Amsterdam, Akademisches Medi-  
zinisches Zentrum, Amsterdam, Niederlande

Professor Jürgen Wahrendorf

Deutsches Krebsforschungszentrum, Abteilung Epidemiologie,  
Heidelberg, Deutschland

### **Weltgesundheitsorganisation**

#### *Regionalbüro für Europa*

Dr. Roberto Bertollini

Beigeordneter Direktor, Europäisches WHO-Zentrum für Umwelt und  
Gesundheit, Rom, Italien

Dr. Michal Krzyzanowski

Epidemiologe, Europäisches WHO-Zentrum für Umwelt und Gesund-  
heit, Bilthoven, Niederlande

Dr. Maged Younes

Toxikologe, Europäisches WHO-Zentrum für Umwelt und Gesund-  
heit, Bilthoven, Niederlande