

Human-Biomonitoring aus Sicht des Toxikologen

Unter *Human-Biomonitoring* (HBM) versteht man die Messung der Konzentration eines Fremdstoffs (bzw. mehrerer Fremdstoffe) und/oder seiner Metabolite in menschlichen Körperflüssigkeiten (Blut/Plasma/Serum, Urin, Muttermilch). Durch HBM kann die Belastung des Menschen mit Fremdstoffen unabhängig vom Expositionsweg (oral über die Nahrung, dermal über Hautkontakt, inhalativ über die Luft) qualitativ und quantitativ nachgewiesen werden.

Mittlerweile stehen viele hochempfindliche Analysemethoden zur Verfügung, um Fremdstoffe und deren Metabolite bereits in sehr geringen Mengen nachzuweisen. Dadurch entsteht bei wissenschaftlichen Laien, in den Medien sowie auch bei fachfremden Wissenschaftlern häufig der Eindruck, dass die Belastung des Menschen mit Fremdstoffen im Anstieg begriffen ist. Für zahlreiche Fremdstoffe (z. B. Chlororganika) ist aber zu beobachten, dass die Konzentrationen wegen Anwendungsverböten im letzten Jahrzehnt sogar deutlich zurückgegangen sind.

Gerade aufgrund der Nachweisempfindlichkeit und der damit teilweise verbundenen Fehlinterpretation der erhaltenen Daten ist es aber nötig, HBM-Daten toxikologisch zu bewerten, denn der alleinige Nachweis eines Stoffes im Körper stellt für die Betroffenen in vielen Fällen kein gesundheitliches Risiko dar. Entscheidend ist, dass die gesundheitliche Bewertung aufgrund von HBM-Messergebnissen nur möglich ist, wenn die gemessenen Stoffkonzentrationen mit den Konzentrationen dieses Stoffes verglichen werden, welche in Studien mit toxikologischen Wirkendpunkten gemessen wurden. Als Beispiele seien hier Biologische Arbeitsstofftoleranzwerte (BAT), Biologische Leitwerte (BLW), *Biomonitoring Equivalents* (BE) sowie die HBM-Werte I und II genannt (Angerer J, Aylward LL, Hays SM, Heinzow B, Wilhelm M. Human biomonitoring assessment values: approaches and data requirements. *Int J Hyg Environ Health*. 2011 Sep;214(5):348-60. doi: 10.1016/j.ijheh.2011.06.002.).

Konzentrations-Wirkungsbeziehung

Für eine gesundheitsrelevante Bewertung werden Daten zum Dosis-Wirkungsverlauf mit der Möglichkeit der Ableitung einer Dosis ohne toxikologischen Effekt (*no observed adverse effect level* = NOAEL) benötigt. Diese Dosis wird, sofern im Tierversuch ermittelt, auf die menschliche Situation durch Verwendung eines

Sicherheitsfaktors angepasst. Als Standardwert wird hierfür häufig der Faktor 100 eingesetzt. Man geht davon aus, dass die tägliche Aufnahme einer solchen Dosis beim Menschen kein gesundheitliches Risiko darstellt (*acceptable/tolerable daily intake* = ADI bzw. TDI). Mit Hilfe physiologisch basierter Modellrechnungen können aus diesem Wert die zu erwartenden Konzentrationen des Fremdstoffes und/oder seiner Metaboliten im Blut oder Urin des Menschen abgeschätzt werden. Hierzu sind toxikokinetische Daten erforderlich, die bevorzugt beim Menschen selbst erhoben werden. Liegen nur Daten aus Tierversuchen vor, kann mittels einer physiologisch basierten Modellierung auf die Situation beim Menschen extrapoliert werden. Im Idealfall werden im Tierversuch begleitend zur Erfassung von toxikologischen Effekten auch die Konzentrationen in den Körperflüssigkeiten gemessen, so dass für die ermittelte Dosis ohne Effekt auch entsprechende Werte für Blut- und/oder Urinkonzentrationen vorliegen.

Häufig wird in HBM-Auswertungen auch ein Referenzwert angegeben. Der Referenzwert für einen Fremdstoff oder seine Metaboliten ist ein Wert, der eine statistische Verteilung der gemessenen Konzentrationen bei phänomenologisch gesunden Personen beschreibt. Es handelt sich dabei um das 95. Perzentil und um rein statistisch abgeleitete Werte, denen per se keine gesundheitliche Bedeutung zukommt (mehr Infos unter: <http://www.umweltbundesamt.de/gesundheit/monitor/definitionen.htm>). Somit stellt auch eine Überschreitung des Referenzwertes nicht zwingend ein gesundheitliches Risiko dar, sondern zeigt nur eine erhöhte Exposition der Person gegenüber dem Fremdstoff an. Nur wenn der Referenzwert im Konzentrationsbereich der vorher genannten toxikologisch abgeleiteten Werte liegt, ist evtl. eine gesundheitliche Beeinträchtigung nicht mehr sicher auszuschließen.

Wie aussagekräftig sind Einzelmessungen?

Bei der Interpretation von HBM-Daten sind Aspekte zu berücksichtigen, die dem interessierten Laien oder fachfremden Wissenschaftler meist nicht bekannt sind, wovon ein weiterer wichtiger Aspekt die Interpretation von Einzelmessungen darstellt. Hier müssen mindestens zwei Fälle deutlich unterschieden werden.

Für Stoffe mit einer relativ langen Eliminationshalbwertszeit (> 48 Stunden) sind die Schwankungen der Blut- oder der Urinkonzentration innerhalb von 24 Stunden

weniger stark ausgeprägt. Somit kann in diesen Fällen eine Einzelmessung als repräsentativ für die interne Exposition eines Individuums angesehen werden.

Bei Stoffen mit deutlich kürzerer Halbwertszeit (< 24 Stunden) sind die Konzentrationsschwankungen in Blut und Urin sehr viel größer und die gesundheitliche Bedeutung der gefundenen Konzentration ist deutlich schwieriger. Wie die folgende Abbildung zeigt, hängt die Konzentration des jeweiligen Stoffes (oder seines(r) Metabolite(n)) sehr stark vom Zeitpunkt zwischen Aufnahme und Entnahme der Probe ab; d.h. innerhalb der ersten Stunden nach Aufnahme sind deutlich höhere Konzentrationen insbesondere im Blut zu beobachten als Stunden später. Die folgende Abbildung zeigt den Konzentrationsverlauf eines Stoffes im Blut mit kurzer Halbwertszeit ($t_{1/2} < 3$ h). Die Fehlerbalken zeigen die interindividuellen Schwankungen an.

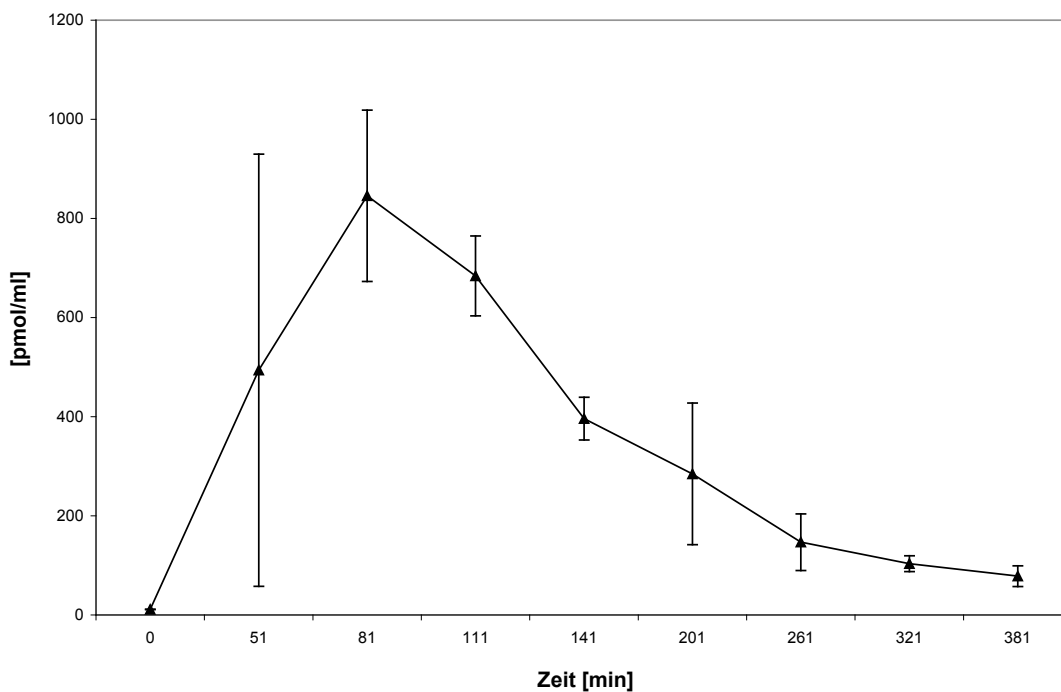


Abb. 1. Konzentrations-Zeit-Verlauf eines Fremdstoffmetaboliten mit relativ kurzer Eliminationshalbwertszeit ($t_{1/2}$ etwa 3 Stunden).

Welche Überlegungen sind zur „Matrix“ und zur Probennahme bei HBM anzustellen?

Grundsätzlich gilt mit wenigen Ausnahmen, dass die Konzentrationen im Blut für Stoffe bzw. ihre Metabolite niedriger liegen als im Urin (Ausnahmen z.B. Ochratoxin A, ein Mykotoxin bestätigen die Regel). Daher bietet sich an, Stoffe und/oder deren Metabolite in der Regel im Urin nachzuweisen und zu quantifizieren. Allerdings kann die Konzentration einer Ausgangsverbindung oder seiner Metaboliten auch im Urin relativ stark schwanken. Neben der unterschiedlichen Harnflussrate, für die es im gewissen Umfang Korrekturverfahren gibt, ist insbesondere bei Stoffen mit kurzer Eliminationshalbwertszeit eine nicht-kontinuierliche Stoffaufnahme z. B. über die Nahrung hierfür verantwortlich. Daher wäre eine 24-stündige Sammlung des gesamten Urins, ggf. über mehrere Tage hinweg, die Methode zur Probennahme, mit der die zuverlässigsten Expositionsabschätzungen erreicht werden könnte. Dieses Vorgehen ist insbesondere für Kollektive logistisch sehr aufwändig und daher nur in seltenen Fällen praktikabel. Für große Untersuchungskollektive werden daher, trotz der zuvor genannten Nachteile, häufig sogenannte Spot- oder Spontanurinproben von Stoffen mit kurzer Halbwertszeit gewonnen. Häufig wird der Morgenurin gesammelt. Wenn die Hauptexposition über die Nahrung erfolgt, ist dieser Zeitpunkt bei Stoffen mit kurzer Halbwertszeit zu überdenken, da die letzte Nahrungsaufnahme lange zurückliegen kann (z. B. Nahrungsaufnahme um 18:00 Uhr am Vortag und Urinprobe um 06:00 Uhr am nächsten Morgen). Andererseits stellt der lange Zeitraum zwischen Blasenentleerung am Abend zuvor (z. B. 22:00 Uhr) bis zur Urinprobe am Morgen um 06:00 Uhr eine Art „Sammelurinprobe“ im gewählten Beispiel von 8 h Zeitabstand dar.

Häufig wird die Kreatininausscheidung im Urin zur Standardisierung der verschiedenen Urinvolumina und damit dem unterschiedlichen Verdünnungseffekt für die ausgeschiedene Menge verwendet. Allerdings können durch diese Standardisierung nicht die Unterschiede, die durch unterschiedliche Zeitpunkte der Nahrungsaufnahme bedingt sind, normiert werden. Für große Kollektive sind auch für Substanzen mit kurzer Halbwertszeit die so gewonnenen Daten als Exposition der Population interpretierbar.

Eine weitere Matrix stellt die Muttermilch dar. Konzentrationsmessungen können zur Abschätzung der Exposition gestillter Säuglinge herangezogen werden.

Sonderfall Addukte. Adduktkonzentrationen im Blut, die mittels kovalenter Bindung von reaktiven Verbindungen, wie z. B. Acrylamid und dessen Metabolit Glycidamid mit Hämoglobin entstehen, sind dagegen anders zu interpretieren als Messungen des Stoffes oder seines Metaboliten im Blut. Hier ist nicht die Eliminationshalbwertszeit des Stoffes oder seiner Metabolite relevant, sondern die Lebensdauer des Hämoglobins, denn der einmal gebundene Metabolit kommt erst mit dem Abbau der Erythrozyten und damit des Hämoglobins zur Ausscheidung. Damit spiegelt die Adduktkonzentration einerseits die Zufuhr des Stoffes (Exposition) und andererseits eine gewisse Speicherung der Verbindung aufgrund der Lebensdauer des Hämoglobins wider. Die das Hämoglobin enthaltenden Erythrozyten beispielsweise haben eine Lebenszeit von etwa 120 Tagen und eine biologische Halbwertszeit von 20 - 30 Tagen. Damit ist der Nachweis der an Hämoglobin fest gebundenen Stoffe bzw. Metabolite für die Lebenszeit der Erythrozyten möglich.

Sonderfall: Persistente Stoffe. Im Falle von Stoffen wie Chlororganika mit Eliminationshalbwertszeiten in der Größenordnung von Monaten und Jahren kommt es aufgrund ihrer chemischen Inertheit zu keiner oder nur einer geringen metabolischen Umwandlung. Häufig reichern sich diese Stoffe im Organismus an und können daher meist nur im Blut nachgewiesen werden, denn die geringe renale Ausscheidung führt nur zu sehr niedrigen Urinkonzentrationen der Verbindungen. Häufig sind diese so gering, dass auch mit heutigen Analysenverfahren ein Nachweis im Urin nicht gelingt.

Abschätzung der Exposition und ihrer toxikologischen Relevanz

Wie vorher beschrieben, ist die Kenntnis von kinetischen Daten und Daten zum Metabolismus für die Abschätzung der Exposition erforderlich. Anhand dieser Daten kann aus der Konzentration im Urin oder Blut auf die tägliche Belastung rückgerechnet werden.

Um die Exposition einer Bevölkerungsgruppe oder der gesamten Bevölkerung abzuschätzen, werden auch für Stoffe mit kurzer Halbwertszeit meist nur Einzelmessungen im Spontanurin zur Verfügung stehen. Bei entsprechender Gruppengröße (statistische „Power“ oder Teststärke) sind die statistischen Kenndaten (z. B. Median, Mittelwert, 5. und 95. Perzentil) für die entsprechende

Population aussagekräftig und können für die Abschätzung des Risikos sehr gut genutzt werden. Aufgrund der zuvor ausführlich diskutierten Schwankungen ist dies jedoch für eine einzelne Person im Falle der Stoffe mit kurzer $t_{1/2}$ nicht möglich.

Für manche Fremdstoffe stehen regulatorische Grenzwerte für eine Dosis zur Verfügung, von der erwartet wird, dass sie gesundheitlich unbedenklich ist (z. B. ADI, TDI). Unter Verwendung toxikokinetischer Daten können daraus entsprechend der Berechnung der HBM- oder der BE-Werte Konzentrationen der inneren Exposition berechnet werden. Durch Vergleich mit den ermittelten statistischen Kennzahlen der untersuchten Gruppe gelingt damit eine toxikologisch sinnvolle Risikoabschätzung. Bei Überschreiten dieser Werte kann aus der vorliegenden Dosis-Wirkungsbeziehung auf die Wahrscheinlichkeit und das mögliche Ausmaß eines gesundheitlichen Effektes geschlossen werden.

Sonderfall Einzelmessung. Im Falle von Spontanurindaten einer Einzelperson kann entsprechend die innere Exposition berechnet werden. Um eine gesundheitliche Bewertung durchzuführen, sind aber diese Daten nicht ausreichend. Es ist im Einzelfall abzuschätzen, ob die ermittelte, evtl. auffällige Dosis, z. B. aufgrund des gewählten Zeitpunktes der Probennahme (wie kurz nach Nahrungsaufnahme für Stoffe mit kurzer $t_{1/2}$ und Nahrung als Hauptexpositionsquelle) oder aufgrund anderer Gründe, z. B. durch gleichzeitige Auswertung eines Fragebogens, in dem spezifische Daten zur Exposition erhoben wurden, erklärbar ist. Im Zweifelsfall sollten zur korrekten Bestimmung der inneren Dosis eine oder mehrere aufeinanderfolgende 24 Stunden Urinproben gesammelt und analysiert werden. Anschließend ist eine valide Risikoabschätzung möglich.

Verknüpfung von Biomonitoringdaten mit Daten zum gesundheitlichen Status von Personen

Stoffe mit kurzer Halbwertszeit. Aufgrund der bereits dargestellten toxikokinetischen Gründe ist die aus einer Spontanurinprobe rückgerechnete Dosis nicht repräsentativ für die Exposition der einzelnen, an der Studie teilnehmenden, Person. Daher sollten diese Einzelmessungen nicht mit anderen individuellen Daten zum Gesundheitszustand, z. B. Krankheitsdaten der Person, verknüpft werden. Dargestellte Korrelationen zwischen gesundheitlichen Effekten, die zum Zeitpunkt der Probenahme erhoben wurden, mit der Höhe der Konzentration in der Probe sind

nicht sinnvoll interpretierbar. Dies gilt in besonderer Weise für gesundheitliche Effekte, die keine Akuteffekte darstellen, sondern eine jahrelange Vorgeschichte (chronische Erkrankung) haben. Von daher sind Querschnittstudien mit Messung von Konzentrationen von Stoffen mit kurzer Halbwertszeit und deren Korrelation mit gesundheitlichen Effekten in einer Bevölkerung wenig aussagekräftig.

Beispiel. Ein Stoff X wird rasch eliminiert (Halbwertszeit unter 6 Stunden). Seine Zufuhr erfolgt vorwiegend über die Nahrung mit rascher Absorption. In einer Studie werden bei mehreren Tausend Personen spontane Urinproben gewonnen und ihre Konzentration gemessen. Mit der Ablieferung der Urinprobe wird bei den Probanden ein gesundheitliches Profil mit vielen Parametern erhoben. Darunter befindet sich auch ein Parameter für eine chronische Erkrankung, z. B. *Diabetes mellitus* Typ 2. Es ist erwiesen, dass Übergewicht eine entscheidende Rolle bei der Entstehung des *Diabetes mellitus* Typ 2 darstellt. Allerdings wird die Erkrankung erst bei Übergewicht über eine Reihe von Jahren manifest. Es wird eine statistische Auswertung vorgenommen, bei der die Konzentration des Stoffes X mit dem Vorkommen von *Diabetes mellitus* Typ II korreliert wird.

Folgende Überlegungen können angestellt werden: Übergewicht repräsentiert im Allgemeinen eine Kumulation von Kalorien über Jahre. Man kann also annehmen, dass eine übergewichtige Person schon lange mehr Nahrung als der Durchschnitt der Population aufnimmt. Dieses Essverhalten wird sich häufig auch im Laufe der Jahre nicht ändern. Personen, die mehr essen als der Durchschnitt, haben somit eine hohe Chance, dass sie wegen der höheren Verzehrsmenge auch eine höhere Menge an Stoff X (wenn der Gehalt von X in den Nahrungsmitteln über Jahre hinweg gleichbleibend ist) zu sich nehmen. Insofern ist die höhere Konzentration an Stoff X im Urin zunächst ein Indikator dafür, dass diese Person mehr isst als der Durchschnitt der Bevölkerung. In einem weiteren Schritt muss nun geklärt werden, ob es Studien mit dem toxikologischen Wirkendpunkt *Diabetes mellitus* Typ II gibt, die mechanistisch den Zusammenhang zwischen Stoff X und diesem gesundheitlichen Endpunkt erklären oder ausschließen können.

In diesem Zusammenhang sei darauf hingewiesen, dass insbesondere von Seiten interessierter Laien oder fachfremder Wissenschaftler in ähnlich gelagerten Fällen häufig das Argument des vorsorglichen Verbraucherschutzes, z. B. zum Verbot des Stoffes, angeführt wird. Dies birgt jedoch insofern ein falsches Signal, da dies von

Betroffenen insofern falsch verstanden werden kann, dass diese annehmen, der Stoff X sei der Auslöser der Erkrankung und nicht die übermäßige Kalorienaufnahme. Eine fatale Fehlinterpretation für den therapeutischen Erfolg kann die Folge sein.

Daher ist es von entscheidender Bedeutung, dass die gesundheitliche Bewertung aufgrund von validen wissenschaftlichen Ergebnissen getroffen wird.

Stoffe mit langer Halbwertszeit. Auch bei Stoffen mit langen Eliminationshalbwertszeiten sind Querschnittstudien, aber auch Längsschnittstudien, in denen Messwerte der Konzentration oder anderweitige Messungen zur Expositionsermittlung mit einem gesundheitlichen Effekt verknüpft werden, als explorative Studien anzusehen. Selbst bei einer signifikanten Korrelation zwischen Messgrößen der Exposition und gesundheitlichem Effekt muss eine Kausalität keineswegs gegeben sein. Wie bei allen epidemiologischen Studien sind zur Bewertung der Kausalität die Kriterien nach Hill anzulegen. Diese fordern, dass insbesondere die Stärke der Assoziation, ein sich Dosis abhängig verändernder Effekt (Dosis-Wirkungs-Beziehung) und nicht zuletzt eine biologisch-mechanistische Basis für den Effekt zu prüfen sind. Hierbei ist auch zu beachten, dass der Beginn einer chronischen Erkrankung meist mehrere Jahre vor der Diagnose derselben liegt und somit auch das Hillkriterium Zeitlichkeit berücksichtigt werden muss.

Biomonitoring – Messung der toxikologisch relevanten Struktur und Berücksichtigung Stoff spezifischer Sicherheitsfaktoren

Für viele Stoffe ist nicht untersucht, ob der unveränderte Stoff oder einer oder mehrere seiner Metabolite die beobachtete Toxizität auslösen. In manchen Fällen ist bekannt, dass für die Toxizität ein bestimmter Metabolit verantwortlich ist. Sofern dieser analytisch erfassbar ist, sollte dieser toxische Metabolit (zusätzlich) zum HBM herangezogen werden. Dies ermöglicht neben der Ermittlung der internen Dosis eine spezifischere Risikoabschätzung. Dazu wären zu dem aus dem Tierversuch abgeleiteten NOAEL-Wert Daten zur Toxikokinetik und zum Metabolismus des Stoffes und insbesondere für den toxischen Metaboliten wünschenswert. Für die Bewertung wären folgende Fallkonstellationen vorstellbar:

1. Tier und Mensch bilden den toxischen Metaboliten oder entgiften (metabolisieren) die Ausgangssubstanz ohne nennenswerten quantitativen Unterschied. Die Ableitung des Grenzwertes mit den Standardsicherheitsfaktoren ist dann in diesem Fall völlig

ausreichend. Theoretisch wäre sogar eine Reduzierung des Sicherheitsfaktors, der die Interspezies-Variabilität absichert, möglich.

2. Das Tier bildet den toxischen Metaboliten vermehrt oder entgiftet (metabolisiert) die Ausgangssubstanz in geringerem Umfang im Vergleich zum Menschen. In diesem Fall besteht eine höhere Sicherheit für den Menschen. Eine Verringerung des Sicherheitsfaktors wäre wissenschaftlich begründbar.

3. Der Mensch bildet den toxischen Metaboliten vermehrt oder entgiftet (metabolisiert) die Ausgangssubstanz in geringerem Umfang im Vergleich zum Tier. Eine Erhöhung des Sicherheitsfaktors wäre wissenschaftlich sinnvoll.

Fazit:

Das HBM ist ein sehr gutes Instrument, die Exposition des Menschen gegenüber Fremdstoffen zu ermitteln. Darüber hinaus kann es wichtige Daten liefern, den Wirkmechanismus der Substanz aufzuklären und mögliche Inter- und Intraspeziesunterschiede zu belegen. Diese Informationen (Dosis, Mechanismus und Speziesunterschiede) sind wichtige Bestandteile, um eine valide Risikoabschätzung durchführen zu können. Um die Daten einer Biomonitoringstudie bestmöglich nutzen zu können, sind im Vorfeld der Studie folgende wichtige Informationen zu sammeln:

- Bei Planung einer HBM-Studie müssen toxikokinetische Daten und Daten zum Metabolismus ermittelt und einbezogen werden. Es sollte die Literatur daraufhin geprüft werden, ob Aussagen zu der für die toxischen Wirkungen verantwortlichen Struktur (Ausgangsstoff oder Metabolit) gemacht werden können. Diese Daten ermöglichen es, die Studienplanung stoffspezifisch zu gestalten.
- Insbesondere HBM-Ergebnisse für Stoffe mit kurzer Halbwertszeit, die anhand von Spontanurinproben ermittelt wurden, eignen sich im Normalfall nicht, um diese Daten mit gesundheitlichen Effekten zu korrelieren.
- Daher sind statistische Korrelationen von HBM-Daten mit gesundheitlichen Effekten nicht als kausaler Zusammenhang zu interpretieren. Ob weitere Studien sinnvoll sind, muss fallweise entschieden werden, wobei ein plausibler Wirkmechanismus neben einer gegebenen Dosis-Wirkungsbeziehung eine wesentliche Voraussetzung darstellt.
- Der alleinige Nachweis eines Stoffes/Metaboliten in einer biologischen Probe vom Menschen ist (zunächst) kein Hinweis auf eine toxikologisch bedenkliche innere Exposition, sondern weist lediglich die Exposition nach.
- Der alleinige Nachweis einer Substanz oder nicht kausal belegbare, statistische Korrelationen (Stoff mit Effekt) können ein Stoffverbot aus toxikologisch wissenschaftlicher Sicht zunächst nicht rechtfertigen, können aber weitere gezielte Studien bedingen.