Aus der Klinik für Hals-Nasen-Ohrenkrankheiten, Gesichts- und Halschirurgie an der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg

Direktor: Prof. Dr. med. A. Berghaus



Nachweis der Feldkanzerisierung im oberen Aerodigestivtrakt mit Hilfe des Mikrokerntestes

Dissertation zur Erlangung des akademischen Grades Doktor der Medizin (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg

von Albrecht Michael Hofmann geboren am 28.04.1970 in Leipzig

Gutachter:

- 1. Prof. Dr. med. Berghaus
- 2. Prof. Dr. med. Boots (Leipzig)
- 3. Prof. Dr. med. Foth

Referat und bibliographische Beschreibung

Aufgrund epidemiologischer Studien wird geschätzt, daß bei der Entstehung von über 70% der Krebserkrankungen exogene Faktoren eine Rolle spielen. Hauptrisikofaktoren für die Karzinomentstehung im oberen Aerodigestivtrakt sind neben der beruflichen Schadstoff-exposition und individuell sozioökonomischen Faktoren der chronische Tabak- und Alkoholkonsum. Das gehäufte Auftreten von syn- oder metachronen Zweitkarzinomen bei Patienten mit Karzinomen im Kopf-Halsbereich wird mit dem Konzept der Feldkanzerisierung erklärt, das von einer Gesamtschädigung der Schleimhaut des oberen Aerodigestivtraktes durch o.g. Noxen ausgeht. Das Erlangen von reproduzierbaren Meßdaten, die in Abhängigkeit ihrer Schadstoffwirkung skaliert werden, könnte zur Grundlage von Richtlinien zur Früherkennung von Hochrisikopatienten werden.

Der Mikrokerntest ist ein in der Mutationsgenetik etabliertes Verfahren zur Evaluierung chromosomaler Schäden durch gentoxische Substanzen. Mikrokerne repräsentieren Aberrationen, denen ein Bruchereignis vorausging und sind somit als Maß der chromosomalen Schädigung zu werten. Sie erscheinen als zytoplasmatische Chromatinmasse neben dem eigentlichen Hauptkern und färben sich wie dieser an.

In der vorliegenden Studie wurde der Zusammenhang von Schadstoffexposition mit einer diffusen Schädigung des Chromosomensatzes bei der Tumorentwicklung auf zytologischer Ebene untersucht.

Mit Hilfe des Mikrokerntests wurden an der gesunden Schleimhaut des oberen Aerodigestivtraktes klastogene und aneugene Wirkungen von chemischen und physikalischen Noxen in Abhängigkeit vom Schadstoffeintrag nachgewiesen. Von Probanden mit und ohne Alkohol- und Tabakexposition, sowie von Patienten mit Plattenepithelkarzinomen im Kopf-Halsbereich und präneoplastischen Veränderungen wurde von beiden Wangeninnenseiten zytologische Abstriche entnommen und die Mikrokernrate auf 1000 Schleimhautzellen seitengetrennt bestimmt.

Nach statistischer Auswertung der durch einen standardisierten Fragebogen erhobenen Daten zur Genußmittel- und Schadstoffexposition sowie der lichtmikroskopisch bestimmten Mikrokernfrequenzen zeigte sich eine signifikante Erhöhung der Mikrokernrate im Mittel bei den Tumor- und Leukoplakiepatienten im Gegensatz zu den gesunden Probanden. Am geringsten fiel die Mikrokernrate bei den Nonabusern aus. Als wesentlichste Einflußgröße auf die Mikrokernfrequenz stellte sich der Tabakkonsum heraus. Es zeigte sich ein hoch signifikanter Zusammenhang zwischen Tabakkonsum und Mikrokernrate mit positiver Korrelation. Für die weiteren untersuchten Noxen ließ sich lediglich bei Exposition mit Lösungsmitteln ein Zusammenhang mit der Mikrokernrate im Sinne einer signifikant positiven Korrelation herausstellen. Alle anderen untersuchten Noxen zeigten keine Einflußnahme auf die Mikrokernrate. Hinsichtlich der Seitendifferenz konnten keine Unterschiede nachgewiesen werden, was die These einer Feldkanzerisierung unterstützt. Bei der Bestimmung des relativen Risikos an einem Kopf-Halskarzinom zu erkranken, ergab sich unter Berücksichtigung des Rauchverhaltens ein 8,04 fach erhöhtes Risiko, wenn die Mikrokernrate von 19,5 pro 1000 Schleimhautzellen überschritten wird. Die epidemiologisch-statistischen Arbeiten von Maier et al. konnten in Hinsicht eines erhöhten Krebsrisikos bei chronischem Tabakkonsum bzw. Exposition von organischen Lösungsmitteln auf zellulärer Ebene bestätigt werden.

Der Mikrokerntest weist chromosomale Schäden der Schleimhaut des oberen Aerodigestivtraktes zweifelsfrei nach und ist in Kombination mit weiterführenden quantitativen immuncytochemischen Untersuchungen zum Proliferationsstatus und zur Expression von Tumorsupressorgen- und Onkogenprodukten an gesunden Schleimhautzellen einsetzbar.

Inhaltsverzeichnis:

		Seite
1.	Einleitung	1
1.1.	Mikrokerne	2
1.2.	Entwicklung des Mikrokerntests	3
1.3.	Chemische Kanzerogenese	4
1.4.	Das Mehrstufenkonzept der Krebsentwicklung	5
1.5.	Epidemiologie von Kopf-Hals-Tumoren	7
1.6.	Rauchen als Krebsrisiko	8
1.6.1.	Inhaltsstoffe des Tabaks	10
1.6.2.	Kanzerogene im Tabakrauch	10
1.6.3.	Hauptschadstoffe des Tabakrauches	11
1.6.4.	Passivrauchen	
1.7.	Chemische Kanzerogene	13
1.7.1.	Gentoxische Kanzerogene	
1.7.1.1	Direkte Kanzerogene	
1.7.1.2.	Indirekte Kanzerogene	
1.7.2.	Epigenetische Kanzerogene	
2.	Zielstellung	23
3.	Material und Methoden.	
3.1.	Standardisierter Fragebogen.	
3.2.	Gewinnung des Untersuchungsmaterials	
3.3.	Färbung der Mundschleimhautabstriche	
3.4.	Bewertete Daten	
3.5.	Statistische Methoden.	
3.6.	Materialien	
4.	Ergebnisse	
4.1.	Mittelwerte der Mikrokernraten auf 1000 Zellen.	
4.2.	Täglicher Zigarettenkonsum und Mikrokernrate	
4.3.	Menge und Dauer des Nikotinabusus und Mikrokernrate	
4.4.	Zusammenhang zwischen Alkoholkonsum und Mikrokernrate	
4.5.	Zusammenhang zwischen Alkohol-und Tabakkonsum und	33
4.5.	Mikrokernrate	35
4.6.	Zusammenhang zwischen verschiedenen exogenen Noxen und	33
7.0.	Mikrokernrate	38
4.7.	Ermittlung des relativen Risikos der Tumorentstehung mit Hilfe der	56
4.7.	logistischen Regression	41
4.8.	Vergleich der Mikrokernrate der linken und rechten Wangeninnenseite	
4.0. 5.	Diskussion	43
5.1.	Vor- und Nachteile des Mikrokern-Testes an Abstrichen der	43
3.1.	Mundschleimhaut	43
5.2.	Beurteilung der Untersuchungsergebnisse	_
5.2. 5.2.1.		
5.2.1. 5.2.2.	Beurteilung der Untersuchungsergebnisse zum Tabakkonsum	43 47
	Mutationssensibilität und Suszeptibilität	4/
5.2.3.	Beurteilung der Untersuchungsergebnisse der weiteren untersuchten	40
5 2	Kanzerogene	49 52
5.3.	Më glisha waitara Untarquehungan	53 54
5.4.	Mögliche weitere Untersuchungen.	54 55
6. 7	Zusammenfassung	
7.	Literatur	20

8.	Anhang	68
9.	Thesen	80
	Lebenslauf	
	Erklärung	
	Vorträge	
	Danksagung	

1. Einleitung

Für die malignen Tumoren des Kopf - Hals - Bereiches läßt sich in der Mehrzahl der europäischen Länder eine eindeutige Zunahme der Inzidenz und Letalität in den letzten zwei Jahrzehnten epidemiologisch statistisch belegen. Hauptrisikofaktoren sind neben verschiedenen untergeordneten Arbeitsplatznoxen, der chronische Tabak- und Alkoholabusus (Maier et al. 1990,1991; Esteve et al. 1996, Seitz et al. 1998).

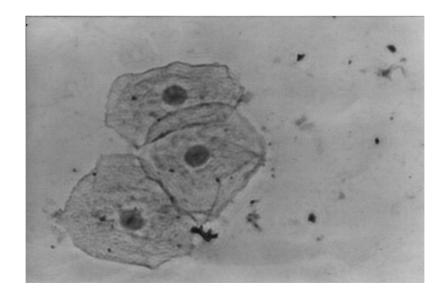
Die Tatsache, daß viele der Patienten mit Mundhöhlen-, Rachen-, oder Kehlkopfkarzinomen an syn- oder metachronen Zweitkarzinomen erkranken, wurde erstmals von Slaughter und Mitarbeitern 1953 (Slaughter et al 1953) beschrieben und mit dem Konzept der Feldkanzerisierung erklärt. Zweit- oder Drittkarzinome entwickeln sich je nach Studie bei 7 bis 30 % der betroffenen Patienten (Shapsay et al. 1980; Vries De N et al. 1986; Mohadier C et al. 1996; Jones et al. 1995).

In dieser Studie soll der Zusammenhang von exogenen Noxen, insbesondere Zigarettenund Alkoholkonsum, mit einer diffusen Schädigung des Chromosomensatzes auf zytologischer Ebene mit Hilfe des Mikrokerntests dargestellt werden. Dabei gingen wir von der o.g. Überlegung aus, daß eine Schädigung der gesamten Schleimhaut des oberen Aerodigestivtraktes im Sinne einer Feldkanzerisierung (nach Slaughter) vorliegt.

Der Früherkenung von praekanzerösen Veränderungen der Schleimhaut muß besondere Bedeutung im Rahmen künftiger Präventionsstrategien zugedacht werden, da trotz multimodaler Therapiekonzepte eine deutliche Verbesserung der Heilungsquoten, besonders in fortgeschrittenen Tumorstadien, nicht zu erkennen sind.

Die Suche nach geeigneten Biomarkern, die eine Früherkennung des betroffenen Gewebes anzeigen und mögliche Hochrisikopatienten erkennen lassen, ist ein Schwerpunkt in der Präventionsforschung (Papadimitrakopoulou et al. 1996).

Abb.1 Gesunde Mundschleimhautzellen unter dem Lichtmikroskop bei 400-facher Vergrößerung:



1.1. Mikrokerne

Mikrokerne (MK) stellen eine zytoplasmatische Chromatinmasse neben dem eigentlichen Zellkern dar und färben sich wie dieser an (Abb.2). Sie sind kleiner als der Hauptkern und können aus ganzen Chromosomen bestehen, die durch Anaphase-lagging nicht in die Tochterkerne integriert werden. Spindelgifte (z.B. Colchizin) erzeugen Mikrokerne, indem sie ein Anaphase-lagging von einem oder mehreren Chromosomen bewirken. D.h. die Chromosomen werden nicht auf Tochterkerne verteilt, sondern bleiben in der Äquartorialebene zwischen den Tochterkernen liegen (Fenech und Morley 1989). Colchizin induzierte MK enthalten Zentromere (Spindelfaseransatz), also ganze Chromosomen (aneugene Schäden) und sind größer als MK, die aus Chromosomenfragmenten bestehen (Abb. 3).

Andererseits können MK aus azentrischen Chromosomenfragmenten bestehen (Abb. 3), die aufgrund des fehlenden Zentromers keinen Anheftungspunkt für eine Spindelfaser aufweisen (Fenech 1993). Selbige stellen Aberrationen dar, denen ein Bruchereignis (klastogener Schaden) vorausging (Andrae 1996).

Mikrokerne sind somit ein Maß der chromosomalen Schädigung (Evans et al. 1959). Allerdings besteht keine direkte quantitative Beziehung zwischen Chromosomenaberrationen und Mikrokernrate, da ein Teil der Aberrationen nicht zur Fragmentbildung, sondern zu Inversionen bzw. Translokationen führt.

Abb.2 Mikrokern unter dem Lichtmikroskop bei 400-facher Vergrößerung:

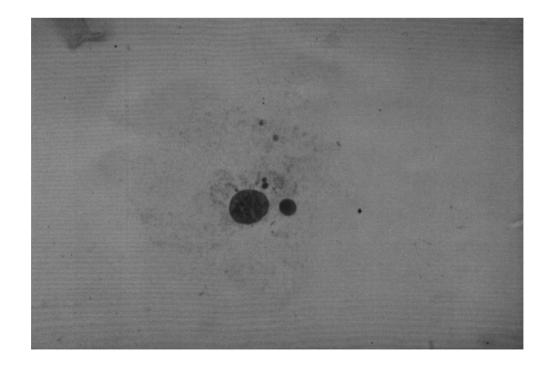
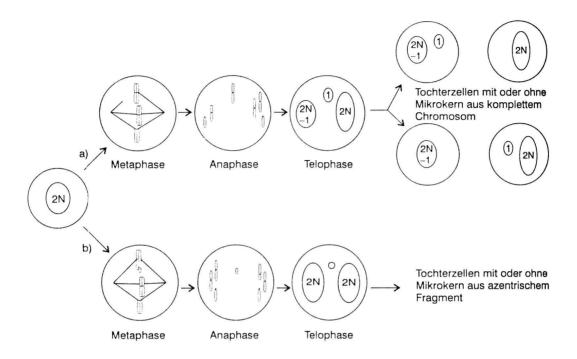


Abb.3 Mikrokern-Test: schematische Darstellung der Entstehung von Zellen mit Mikrokernen aus a) ganzen Chromosomen und b) azentrischen Chromosomen-Fragmenten (nach Andrae 1996)



1.2. Entwicklung des Mikrokern-Testes

Schon seit der ersten Hälfte unseres Jahrhunderts ist der Zusammenhang zwischen radioaktiver Strahlung, Mikrokernbildung und Chromosomenschäden bekannt. In den 50-er Jahren beobachteten Evans und Mitarbeiter nach radioaktiver Bestrahlung von Pflanzenzellen, daß eine erhöhte Anzahl von Mikrokernen die Folge war (Evans et al. 1959).

Zu Beginn der 70-er Jahre begann man mit Hilfe des MK-Tests Substanzen routinemäßig auf ihre Mutagenität hin zu prüfen. Dazu führten Heddle und Mitarbeiter in vivo Versuche am Knochenmark von Kleinsäugern durch (Heddle et al. 1973). Diese Technik wurde später spezifiziert indem man Tests an polychromatischen Erythrozyten von Kleinsäugern vollzog (Schmid 1973).

Untersuchungen am Knochenmark bringen jedoch erhebliche Schwierigkeiten mit sich, insbesondere bei der Entnahme am Menschen. Deshalb wurde nach anderen Zellsystemen gesucht, mit denen ebenfalls reproduzierbare Ergebnisse erzielt werden.

Mitte der 70-er Jahre begann man mit der Durchführung von in vitro Tests an menschlichen Lymphozyten (Countryman und Heddle 1976, Countryman 1977). Da aber in vitro Tests unter künstlichen Bedingungen durchgeführt werden und Ergebnisse, die

am Tiermodell gewonnen werden, nicht ohne weiteres auf den Menschen übertragbar sind, stellte sich die Frage nach einer effizienten und einfach durchzuführenden Methode zum Nachweis von Mikrokernen am Menschen.

Diese einfache Nachweismethode von Mikrokernen beinhaltet die mikroskopische Auszählung an cytologischen Abstrichen, zunächst zur Abschätzung einer eventuellen karzinogenen Wirkung von Umwelt- und Genußgiften. Später wurde der MK- Test auch zum Nachweis dysplastisch bzw. leukoplakisch veränderter Schleimhaut eingesetzt. Stich et al beschrieben 1984 die Möglichkeit des Nachweises chromosomaler Schäden mit Hilfe des MK-Tests an der Mundschleimhaut, an den Bronchien (Sputum), der Harnblase (Zentrifugierung von Urin), an Cervixabstrichen und an oesophagealen Biopsien (Stich et al. 1984). Sie konnten z.B. eine erhöhte Mikrokernrate bei Bethelnußkauern und Konsumenten von Kautabak an Mundschleimhautabstrichen feststellen (Stich et al. 1982, Stich et al. 1984). Sarto et al untersuchten buccale Schleimhautabstriche von Rauchern und Alkohol-Abusern und fanden eine signifikant erhöhte MK-Rate gegenüber den Non-Abusern. Desweiteren stellten sie fest, daß die Zahl der MK mit Störungen des Spindelapparates bei beiden Gruppen gleich war (Sarto et al. 1987).

In den 90-er Jahren erfolgte eine forcierte Anwendung des MK-Tests. Insbesondere wurden verschiedene berufliche Expositionen sowie Umwelt- und Genußgifte im Einzelnen auf ihre Kanzerogenität hin überprüft. Um reproduzierbare Ergebnisse zu erlangen, kam die Forderung zur Schaffung von Mikrokern-Basisdaten auf. Mit Hilfe der Cytokinesis-Block-Methode an humanen Lymphozyten, in der die Zytokinese, nach vollständiger Teilung des Zellkernes, gestoppt wird, standen genauere Meßmethoden zur Verfügung. Nun war es möglich durch Auszählung von Mikokernen ausschließlich in "binucleated cells", nur sich teilende Zellen in die Auswertung einzubeziehen (Fenech M 1986, 1993). Zu den wichtigsten demographischen Variablen, die auf die Mikrokernrate Einfluß nehmen, stellte Fenech Alter und Geschlecht heraus. Mit zunehmendem Alter kommt es zu einem Anstieg der Mikrokernrate. Frauen weisen höhere Mikrokernzahlen als Männer auf (Fenech M 1998).

Weiterhin wurde der Mikrokerntest in der Verlaufsbeobachtung von präkanzerösen Veränderungen (z.B. Leukoplakien der Mundschleimhaut) unter therapeutischen Maßnahmen eingesetzt (Stich et al. 1989, Stich et al. 1991).

1.3. Chemische Kanzerogenese (synonym: Karzinogenese, Onkogenese)

Die Erkrankung Krebs gehört zweifellos zu den dringendsten Herausforderungen der heutigen Medizin. Das griechische Wort für Krebs "carcinos" geht auf Hippokrates zurück, das lateinische Wort "cancer" auf Celsus. "Wie eine Krabbe ihre Gliedmaßen aus allen Teilen ihres Körpers nach außen steckt, so schwellen bei dieser Krankheit die Venen auf, breiten sich aus und bilden eine ähnliche Figur" beschrieb Galen diese Erkrankung. Die Erkrankung Krebs ist bereits lange vor unserer Zeitrechnung bekannt, wie z.B. eine recht genaue Beschreibung des Blasenkrebses der im Niltal lebenden Bauern aus dem Papyrus Ebers zeigt.

Tab.1: Chemische Substanzen als Krebsursache (aus Marquart 1994):

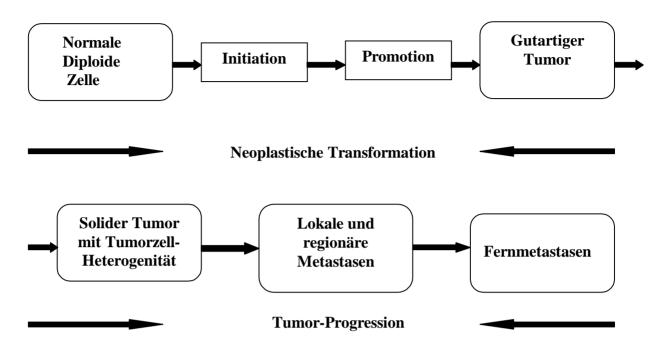
Vermutetes Kanzerogen	Organ	Entdecker	Jahr
Schnupftabak	Nase	Hill	1761
Ruß	Scrotum	Pott	1775
Pfeifen-Rauchen	Lippe	Soemmering	1795
Kohlenteer	Haut	v. Volkmann	1875
Farbstoffe	Harnblase	Rehn	1895
(aromatische Amine)			
Röntgenstrahlen	Haut	van Trieben	1902
radioaktive Uhr-Farben	Knochen	Martland	1929
Nikotinabusus	Lunge,Blase	Lickint	1930
Asbest	Lunge	Gloyne	1932
Sonnenlicht	Haut	Molesworth	1937
Chromate	Atemwege	Pfeil	1935
Buttergelb (4-Dimethyl-	Leber	Kinosita	1936
amino-Benzol)			
Kadmium	Prostata	Kipling, Waterhouse	1967

Die Entstehung von Krebs kann durch verschiedene Faktoren ausgelöst werden. Zu diesen Faktoren zählen genetische Prädisposition durch Vererbung, Umwelteinflüsse, Lebensgewohnheiten, physikalische Faktoren wie z. B. energiereiche Strahlung oder chemische Stoffe (Tab.1). Durch das Zusammenwirken dieser Krebsrisikofaktoren wird ein als Kanzerogenese bezeichneter Prozeß eingeleitet, der zu einer ungeordneten Proliferation der Zielzellen führt. Dieser Prozeß, der den Zeitpunkt des Einwirkens eines Kanzerogens bis zum Auftreten eines Tumors umfaßt, kann beim Menschen eine Latenzzeit von Jahren bis Jahrzehnten betragen.

1.4. Das Mehrstufenkonzept der Krebsentwicklung

Die Grundlage für das heutige Verständnis der Kanzerogenese als Mehrstufenprozeß schufen zu Beginn der 40-er Jahre Beerenblum (Beerenblum et al. 1941) mit ihren Untersuchungen zur Tumorerzeugung an der Haut von Mäusen durch polycyclische aromatische Kohlenwasserstoffe und einem stark hautreizenden Pflanzenprodukt, dem Crotonöl. Allein appliziert waren sie unwirksam, in Kombination zeigten sie eine stark kanzerogene Wirkung. Sie beobachteten weiterhin eine bestimmte Reihenfolge der Applikation, die sich entscheidend auf die Tumorentwicklung auswirkte. Nur wenn zuerst polycyclischer Kohlenwasserstoff verabreicht wurde und anschließend Crotonöl, kam es zur Tumorentwicklung. Die umgekehrte Applikation war unwirksam. Daraus war ersichtlich, daß zwei verschiedene Vorgänge notwendig sind, die zur Tumorentwicklung führen. Diese wurden als Initiation und Promotion bezeichnet.

Abb. 4: Schema der Tumorentstehung und Tumorprogression (nach Bosch 1991):



Der Prozeß der Kanzerogenese ist demzufolge ein in Phasen ablaufender Vorgang, der durch die irreversible Schädigung des Genoms der Zelle (**Initiation**), der Vermehrung initiierter Zellen (**Promotion**) und der zunehmenden Malignität der initiierten Zellen (**Progression**) beschrieben wird (Abb. 4).

1.4.1.Initiation

Zu Beginn der Kanzerogenese steht das Einwirken von mutagenen bzw. genotoxischen Substanzen. Diese treten in Wechselwirkung mit der DNA des Zellkerns und führen zu Mutationen, die nach der ersten Zellteilung bei mangelhafter Reparatur als irreversibler Schaden erhalten bleiben. Initiation und Promotion sind nicht unabhängig voneinander zu betrachten, da die initiierte Zelle sich in Gegenwart eines Promotors stärker vermehren kann als normale Zellen (Schulte-Hermann et al 1994).

1.4.2. Promotion

Unter Tumorpromotion versteht man den Prozeß der Beschleunigung und Verstärkung vorausgegangener Initiation. Durch Proliferation initiierter Zellen entstehen präneoplastische Zellpopulationen mit identischen Mutationen (Deml 1996). Dieser Prozeß kann Wochen, Monate oder Jahre dauern. Nach längerer Unterbrechung kann die Wirkung einer promovierenden Substanz verschwinden. Daher kann die Tumorpromotion in der frühen Phase als reversibel gelten (Schulte-Herrmann et al. 1994). Tumorpromotoren gehören unterschiedlichen Stoffklassen an und verfügen über verschiedene Wirkmechanismen.

1.4.3. Progression

Durch Initiation und Promotion entstehen zunächst gutartige Tumoren. Den Übergang vom benignen zum malignen Tumor bezeichnet man als Progression. Diese Umwandlung ist wie die Initiation irreversibel. Während der Vermehrung der präneoplastischen Zellen der Promotionsphase erhöht sich die Wahrscheinlichkeit weiterer Mutationen in diesen Zellen, die bereits einen genetischen Schaden durch die Initiation tragen. Es treten in der Progressionsphase vermehrt chromosomale Schäden und Aneuploidie auf (Deml 1996). Die zunehmende genetische Instabilität der Tumorzellen ist charakteristisch für diese Phase. Dadurch besteht eine erhöhte Wahrscheinlichkeit der Ausprägung von Tumorheterogenitäten und der Tumorprogression unter Bildung von metastasierenden Subklonen (Bosch 1991).

1.5. Epidemiologie von Kopf-Hals-Tumoren

In der Bundesrepublik Deutschland läßt sich eine eindeutige Zunahme der Inzidenz und Letalität für maligne Tumoren des Kopf-Hals-Bereiches statistisch belegen (Tab.2). Hauptrisikofaktoren bei der Karzinomentwicklung sind neben der beruflichen Schadstoffexposition und individuell sozioökonomischen Faktoren der chronische Tabak- und Alkoholkonsum. Dies läßt sich in weltweit durchgeführten Studien epidemiologisch-statistisch belegen. Tabak- und Alkoholabusus stehen an der Spitze der vermeidbaren Todesursachen (Malter und Süss 1989). Bis zu 30 % aller Krebsfälle in den Industriestaaten werden durch das Rauchen verursacht (Hecht et al. 1991). Männer erkranken 2- bis 6mal häufiger als Frauen.

In der Bundesrepublick Deutschland ist unter den Kopf- Halstumoren ein Anstieg der Mortalität seit 1952 nachweisbar. Das Auftreten von Kehlkopfkarzinomen hat sich nahezu verdoppelt, Mundhöhlen- und Rachenkrebserkrankungen stiegen um das ungefähr 6-fache an (Neumann et al. 1988). Heute liegt die Neuerkrankungsrate für Tumore im Mund-Rachenraum in Europa bei 2-4%. In Deutschland wird die Inzidenz für Oropharynxkarzinome auf ca. 5000 Fälle pro Jahr geschätzt (Statistisches Bundesamt 1995).

Ein schwerwiegendes Problem bei den Patienten mit Plattenepithelkarzinomen des oberen Aerodigestivtraktes stellen Zweittumoren oder multiple Primärtumoren dar. Die Mehrzahl dieser als synchron oder metachron bezeichneten Zweittumore entwickeln sich im selben Organ bzw. Organsystem, also im Bereich des Respirations- oder Verdauungstraktes mit einer Inzidenz von 15-30% (Snow et al. 1991). Die Lokalisation des Zweitkarzinomes ist abhängig von der des Index-Tumors. Untersuchungen zeigten ein hoch signifkantes Auftreten von Zweitkarzinomen im Digestivtrakt, befand sich der Index-Tumor im Hypopharynx oder der Mundhöhle (Digestiv-Achse). War der Index-Tumor im Larynx lokalisiert, entwickelten sich Zweitkarzinome hoch signifikant im Kehlkopf oder der Lunge (respiratorische Achse). Trat der Index-Tumor im Bereich der Mundhöhle oder des Oropharynx auf, entwickelten sich Zweitkarzinome in beiden Achsen (Mischachse). Die ist erklärbar durch den von Slaughter et al. beschriebenen Mechanismus der Feldkanzerisierung (Leon X et al. 1998)

Zweitkarzinome haben eine schlechte Prognose. Eine engmaschige Kontrolluntersuchung der Patienten ist daher mindestens halbjährlich indiziert (Gluckmann et al. 1990).

Tab.2: Standardisierte Mortalitätsraten an Kehlkopfkrebs (pro 100 000 Einwohner); Weltstandard, Männer (Zatonski et al. 1991):

Land	1965	1985
Frankreich	11,0	9,6
Spanien	6,5	7,3
Italien	5,7	6,4
Griechenland	3,9	3,7
Polen	2,9	7,3
Deutschland	2,1	2,6
England	2,0	1,7
Niederlande	1,5	1,6
Norwegen	0,6	1,2

1.6. Rauchen als Krebsrisiko

Schon in der Zeit des 30-jährigen Krieges wurde der Genuß des Tabaks als "trockene Trunkenheit" beschrieben. Erste klinische Berichte über die gesundheitlichen Folgen des Rauchens finden sich am Ende des 18. Jahrhunderts. Der Frankfurter Chirurg Sömmering beschrieb 1795 das häufige Autreten von Lippenkrebs an der Unterlippe von Pfeifenrauchern (Hoffmann et al. 1994).

Mit der industriellen Herstellung von Tabakwaren kam es zu Beginn des 20. Jahrhunderts zu einem erheblichen Anstieg des Zigarettenkonsums. Ungefähr zwei Jahrzehnte nach Beginn dieses Anstiegs war ein parallel verlaufender Anstieg der Krebsfälle bei Rauchern zu beobachten. Heute zählt der Genuß von Tabakwaren zur wichtigsten vermeidbaren Todesursache.

Hinsichtlich seiner kanzerogenen Potenz nimmt der Tabak eine Sonderstellung ein, da nicht nur die Inhalation des Rauches kanzerogen auf die Schleimhaut der Bronchien und des oberen Aerodigestivtraktes wirkt, sondern auch die Inhaltsstoffe der Tabakpflanze an sich. Das Schnupfen von Tabak besitzt ebenfalls eine karzinogene Wirkung auf die Nasenschleimhaut.

Das Kauen der mit einem Tabakblatt umwickelten Betelnüsse in Asien führt zu einer erhöhten Rate von Mundhöhlenkarzinomen, während das Kauen der Betelnuß ohne Tabakumhüllung sich als weit weniger kanzerogen erwies. Somit zeigte sich der

Speichel- Tabakextrakt als hauptverantwortlich für die Entstehung dieser Art von Mundhöhlenkrebs (Schmähl 1991).

Wie schon erwähnt gilt es als medizinisch bewiesen, daß chronischer Nikotinabusus die Entstehung von Krebs in verschiedenen Organen hervorruft (Tab.3). Untersuchungen von Zankl et al zeigten ein bis um das 30-fach erhöhtes Risko für Raucher an einem Mundhöhlenkarzinom zu erkranken (Zankl et al. 1987).

Insbesondere gilt dies in Verbindung mit chronischem Alkoholkonsum als Kokanzerogen bzw. Promotor für Plattenepithelkarzinome des oberen Aerodigestivtraktes (Seitz et al 1998). Maier et al stellten beispielsweise einen mehr als doppelt so hohen Konsum von Tabak und Alkohol bei den Tumorpatienten gegenüber den Kontrollpersonen in einer Fallkontrollstudie fest (Maier et al. 1991).

Tab.3: Krebsrisiko bei Rauchern; Nichtraucherrisiko:1 (aus Zankl und Zieger, 1987):

Krebsart	Risiko
Lungenkrebs	10 - 40
Zungenkrebs	4 – 33
Mundhöhlenkrebs	8 – 30
Kehlkopfkrebs	5 – 16
Zahnfleischkrebs	5 – 14
Gaumenmandelkrebs	7 – 11
Speiseröhrenkrebs	2-8
Bauchspeicheldrüsenkrebs	2-3
Nierenkrebs	2-3
Blasenkrebs	2

1.6.1. Inhaltsstoffe des Tabaks

Beim Rauchen einer Zigarette unterscheidet man die inhalierte Komponente des Tabakrauches, den Hauptstromrauch, von dem Nebenstromrauch, der beim Verglimmen der Zigarette während der Zugpausen entsteht und zur Luftverunreinigung beiträgt. Haupt- und Nebenstromrauch unterscheiden sich in ihrer Zusammensetzung auf Grund unterschiedlicher Temperatur und Sauerstoffversorgung bei der Verbrennung. Durch den

Luftzug bei der Inhalation hat der Hauptstromrauch eine günstigere Sauerstoffversorung und entsteht bei einer Temperatur von ca. 900°C. Der Nebenstromrauch entsteht bei einer Verbrennungstemperatur von ca. 600°C (IARC 1986). Durch die niedrigere

Temperatur und die dadurch resultierende schlechtere Verbrennung enthält der Nebenstromrauch einen höheren Anteil an krebserregenden und cytotoxischen Substanzen. Bis auf einige Ausnahmen sind diese Substanzen um das 2- bis 100-fache höher vertreten als im Hauptstromrauch (IARC 1986, Adams et al 1887).

In der Gasphase des Zigarettenrauches konnte man bis heute 400-500 chemische Verbindungen identifizieren, in der Partikelphase (Zigarettenteer) mehr als 3500 (Hoffmann et al 1994).

Zu den Hauptbestandteilen der Gasphase zählen Stickstoff, Sauerstoff, Kohlendioxid und Kohlenmonoxid. Die wichtigsten toxischen und kanzerogenen Wirkstoffe sind Kohlenmonoxid, Ammoniak, Stickstoffoxide, Cyanwasserstoff, Formaldehyd, Acetaldehyd, Pyridin und flüchtige Nitrosamine (Hoffmann et al 1994).

Die Hauptkomponenten der Partikelphase sind die Nicotiana-Alkaloide, deren wichtigster Vertreter das Nikotin selbst ist. Weitere Bestandteile sind Terpene, Fettsäureester und Paraffine, die teilweise unverändert in den Rauch übergehen.

Durch Pyrosynthese während der Verbrennung des Tabaks, entstehen Naphtaline und mehr als 60 im Rauch identifizierte polycyclische aromatische Kohlenwasserstoffe.

Während der Tabakaufbereitung und des Rauchens kommt es außerdem zur Bildung von tabakspezifischen N-Nitrosaminen (Hoffmann et al. 1994).

Der Tabakteer enthält aromatische Amine (Blasenkanzerogene), heterocyclische Kohlenwasserstoffe, Fettsäuren und Fettsäureester sowie Pflanzensteroide und Polyphenole.

Weiterhin konnten im Tabak bis zu 30 Metalle (Arsen, Chrom, Nickel, Cadmium, Blei, Selen, Polonium) als Oxide oder Salze in Form von Spurenelementen identifiziert werden (Hoffmann et al. 1994, Bache et al. 1985, Gutemann et al. 1987, Bache et al. 1987).

1.6.2. Kanzerogene im Tabakrauch

Die wichtigsten Kanzerogene des Tabakrauches (Tab.4) sind die N-Nitrosamine (Plattenepithelkarzinome des oberen Aerodigestivtraktes), die polycyclischen aromatischen Kohlenwasserstoffe mit dem Benzo(a)pyren als Hauptvertreter, die aromatischen Amine, Aldehyde (Tumoren der Nasenschleimhaut), Benzol (myeloische Leukämie) und anorganische Verbindungen (Hoffmann et al. 1994). Fast alle im Tabakrauch enthaltenen Kanzerogene stellen Prokanzerogene dar, die auf eine enzymatische Aktivierung, vornehmlich durch P 450 Isoenzyme, angewiesen sind, um ihr kanzerogenes Potential zu entwickeln (Hecht 1997).

Durch Inhalation von Tabakrauch werden die Flimmerepithelien der Atemwege gelähmt mit der Folge des Verhaltes von Bronchialsekret und einer verlängerten direkten toxischen Wirkung der verschiedenen schädigenden Substanzen.

Tab.4: Tumorigene Verbindungen im Tabakrauch und ihre Zielorgane (nach Hoffmann et al. 1994):

Organ	Tumor-Initiator oder Kanzerogen	Tumorfördende Faktoren
Lunge, Kehlkopf	PAK NNK Polonium 210 (geringe Bedeutung) Formaldehyd Acetaldehyd	Katechol (Kokarzinogen) Tumor-Promotor (schwach saure Fraktion) Acrolein
Mundhöhle	PAK NNN	Reizung (?) Herpes simplex (?)
Speiseröhre	NNN	Alkohol
Pankreas	NNK	Diät, Alkohol
Harnblase	4-Aminodiphenyl 2-Naphthylamin	

PAK= Polycyclische aromatische Kohlenwasserstoffe

NNK= 4-(Methylnitrosamino-)1-(3-pyridil-)1-butanon

NNN= N'-Nitrosonornikotin

1.6.3. Die Hauptschadstoffe des Tabakrauches

Nitrosamine des Tabaks

Die tabakspezifischen Nitrosamine werden zum Teil schon in der Tabakpflanze selbst gebildet. Der weitaus größere Anteil entsteht jedoch bei der Weiterbehandlung des Tabaks. Die wichtigsten Vertreter sind das 4-(N-Nitrosomethylamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanon (NNK) und das N-Nitrosonornikotin (NNN), die aus dem Anteil des Tabakblattes an Nikotin und Alkaloiden gebildet werden (Hecht et al. 1994). Insgesamt wurden in Tabakprodukten 7 verschiedenen tabakspezifische Nitrosamine identifiziert, die mit der Entwicklung von Karzinomen im Bereich des oberen Aerodigestivtraktes, der Lunge und des Pankreas in Zusammenhang gebracht werden (Amin et al. 1996, Hecht et al. 1993). Durch metabolische Aktivierung in der Zelle entfalten sie ihre volle Wirksamkeit und führen zu Einzelstrangbrüchen der DNA und zur Hemmung des DNA-Reparatursystems (Hecht et al. 1993, Hecht et al. 1987).

Polycyclische aromatische Kohlenwasserstoffe (PAK)

PAK sind in der Partikelphase des Zigarettenrauches nachweisbar und stellen 11 kanzerogene Verbindungen mit dem Hauptvertreter Benzo(a)pyren dar. Benzo(a)pyren führt als Kontaktkanzerogen zu einer erhöhten Inzidenz von Tumoren des oberen Aerodigestivtraktes und der Lunge. Die vom Raucher inhalierten Dosen der PAK sind mit ihrer Bedeutung als wichtige Faktoren für die Induktion von Tumoren, insbesondere des Lungenkrebses und Tumoren des oberen Aerodigestivtraktes, vereinbar (Hoffmann et al 1994). Ein Raucher, der 40 Jahre lang 40 Zigaretten pro Tag raucht, inhaliert etwa 12 mg Benzo(a)pyren (0,16 mg/kg). Da die kanzerogene Wikung des Benzo(a)pyrens noch durch tumorfördernde Verbindungen im Rauch, wie Phenol, potenziert wird, muß man dieser Substanz, zusammen mit den anderen PAK, eine bedeutende Rolle bei der Karzinomentwicklung von Rauchern zuschreiben (Hoffmann et al. 1994).

Schwermetalle

Den o.g. im Tabakrauch enthaltenen Spuren von Schwermetallen konnten im Tierversuch krebserzeugende Wirkungen, insbesondere des Cadmiums und Nickels, nachgewiesen werden (Hoffmann et al. 1994). Beim Menschen wurde eine kanzerogene Wirkung des im Rauch enthaltenem Cadmiums auf Grund der geringen Konzentration (24-43 ng/Zigarette) bisher nicht nachgewiesen (Hoffmann et al 1994). Polonium allerdings gilt auf Grund seiner α -Partikelstrahlung als starkes Lungenkanzerogen. Bei Rauchern hat man eine dreifach höhere Deponierung von 210 Po in der Lunge gegenüber Nichtrauchern festgestellt. Die amerikanische Komission für Strahlenverhütung und Strahlenmessung hat berechnet, daß nach 50 Jahren Zigarettenkonsum etwa 1% des Risikos für Lungenkrebs auf Polonium 210 zurückzuführen ist (Hoffmann et al. 1994). Insgesamt gilt für die im Tabakrauch enthaltenen Schwermetalle, daß durch die Verwendung von Zigarettenfiltern deren Konzentration im Rauch entscheidend gesenkt werden kann (Bache et al. 1987).

Nikotin

Nikotin ist das Hauptgenußmittel des Tabaks, das als heterozyklisches Alkaloid zur Abhängigkeit vom Tabak führt. Der Raucher kompensiert ein reduziertes Nikotinangebot indem er mehr raucht, intensiver raucht und tiefer inhaliert. Ähnlich dem Acetylcholin setzt das Nikotin in der Nebenniere Adrenalin und im Hypothalamus Noradrenalin frei. Dies erhöht die Konzentration der Catecholamine im Blut, was zur Blutdrucksteigerung und einem erhöhtem Cholesterinspiegel führt (Hoffmann et al 1994). Damit steigt das Risiko von Herz-Kreislauf- und Gefäßerkrankungen an.

1.6.4. Passivrauchen

Nicht nur der aktive Raucher gefährdet seine Gesundheit. Gleichermaßen sind auch sogenannte Passivraucher von der gesundheitsschädigenden Wirkung des Tabakrauches betroffen. Ob Passivrauchen die Gefahr einer Krebsentwicklung in sich birgt, ist noch nicht vollständig geklärt. In der Öffentlichkeit wird dieses Thema kontrovers diskutiert. Während der aktive Raucher den Haupt- und Nebenstromrauch inhaliert, besteht beim Passivraucher eine Exposition gegenüber dem Nebenstromrauch. Das durch Passivrauchen geringe Mengen mutagener und kanzerogener Substanzen in den

Organismus aufgenommen werden, konnte in verschiedenen Studien nachgewiesen werden. Ob deren geringe Konzentration zur Auslösung von irreversiblen Schäden der DNS führen kann, ist gegenwärtig noch umstritten (Adlkofer 1991).

Allerdings kam die Komission "Passivrauchen" der Deutschen Forschungsgemeinschaft wie auch die amerikanische Umweltbehörde (EPA) und die Weltgesundheitsorganisation (WHO) anhand zahlreicher internationaler Studien 1998 zu dem Schluß, daß für Passivraucher ein erhöhtes Lungenkrebsrisiko besteht (Pressemitteilung der Deutschen Forschungsgesellschaft 1998). Cardenas et al. zeigten in einer Studie zum Krebsrisiko von nicht rauchenden Ehegatten auf, daß deren Risiko ein Malignom der Lunge zu entwickeln um 20 % ansteigt (im Vergleich zu nicht rauchenden Ehepaaren), wenn der Partner seit der Heirat immer geraucht hat (Cardenas et al. 1997).

1.7. Chemische Kanzerogene

Chemische Kanzerogene sind definiert als krebsinduzierende Substanzen, d.h. sie sind verantwortlich für die Induktion von Tumoren sowie für eine erhöhte Inzidenz von Tumoren, die auch in Kontrolltieren beobachtet werden. Grundsätzlich unterscheidet man zwei verschiedene Arten von Kanzerogenen nach ihrer chemischen und biologischen Wirkung (Tab.5):

- 1. DNA reaktive, gentoxische Substanzen und
- 2. nicht-gentoxische (epigenetische) Substanzen, die biologische Wirkungen entfalten, welche eine Basis für Kanzerogenität sein können (Marquart 1994).

Zu den gentoxischen Substanzen zählen die direkten (ohne metabolische Aktivierung) wie z.B. Alkylantien, und die indirekten (nach metabolischer Aktivierung) gentoxischen Kanzerogene wie Nitrosamine oder polycyclische Kohlenwasserstoffe. Des Weiteren gehören die anorganischen gentoxischen Kanzerogene wie Nickel, Cadmium oder Arsen dazu.

Zu den epigenetischen Kanzerogenen werden zytotoxisch wirkende wie z.B. BHA (Butyl-Hydroxyanisol) oder BHT (Butyl-Hydroxytoluol) gerechnet. Weiterhin zählen Tumorpromotoren wie TPA (Tetradecanoyl-Phorbol-Azetat), chlorierte Kohlenwasserstoffe (DDT, TCDD), Hormone, Immunsuppressiva, Peroxisomen - Proliferatoren und Festkörper wie Asbest- oder Holzstäube dazu.

Tab. 5: Chemische Kanzerogene (nach Marquart 1994):

Тур	Beispiel
Gentoxische Kanzerogene	
Direkt (ohne metabolische Aktivierung)	Alkylantien
Indirekt (nach metabolischer Aktivierung)	Polycyclische Kohlenwasserstoffe Aromatische Amine Nitrosamine Naturstoffe (Mykotoxine)
Anorganische	Nickel, Cadmium, Chrom, Arsen
Epigenetische Kanzerogene	
Cytotoxisch	Nitrilotriazetat Butyl-Hydroxyanisol bzw. –Hydroxytoluol (BHA, BHT) Tetradecanoyl-Phorbol-Azetat (TPA)
Tumorpromotoren	Phenobarbital chlorierte Kohlenwasserstoffe (DDT,TCDD)
Hormone	Östradiol, Diethylstilböstrol
Immunsuppressiva	Azathioprin, Cyclosporin A
Peroxisomen-Proliferatoren	Clofibrat, Phtalate
Festkörper	Asbest, Plastik Folien, Holzstäube

1.7.1. Gentoxische Kanzerogene

Unter gentoxischen Kanzerogenen versteht man Substanzen, die mit zellulären Makromolekülen, insbesondere der DNA, interagieren und somit mutagen wirksam sind.

1.7.1.1.Direkte Kanzerogene

Direkte gentoxische Kanzerogene wirken, wie der Name schon sagt, ohne metabolische Aktivierung, also direkt gentoxisch. Zu dieser Gruppe zählt man halogenierte Substanzen, Nitrosamide und Nitrosoharnstoff. Sie sind chemisch reaktiv (elektrophil) und interagieren spontan mit zellulären Makromolekülen. Sie wirken alkylierend und bilden durch Interaktion mit der DNA, DNA- Addukte (Marquart et al. 1994).

Direkte gentoxische Kanzerogene kommen nicht in der Natur vor, sondern sind chemisch hergestellte Substanzen, die ihre Verwendung in der Industrie, als Desinfektionsmittel, Insektizide oder Chemotherapeutika finden. Es handelt sich häufig um lokal wirksame Reizstoffe der Haut oder Lunge, oft auch mit transplazentaler Wirkung. Hierzu zählen insbesondere therapeutische Platinverbindungen (Marquart et al. 1994).

1.7.1.2. Indirekte Kanzerogene

Zu dieser Gruppe zählt der überwiegende Teil gentoxischer Kanzerogene. Diese Substanzen werden im Organismus metabolisiert und dadurch aktiviert. Die Kapazität zur Aktivierung dieser Stoffe ist häufig streng organspezifisch, individuell und speziesspezifisch.

Indirekte Kanzerogene sind überwiegend systemisch kanzerogen wirksam. Eine Ausnahme bilden die polycyclischen Kohlenwasserstoffe, die z.B. Hauttumoren induzieren.

Polycyclische aromatische Kohlenwasserstoffe:

Polycyclische aromatische Kohlenwasserstoffe entstehen bei der unvollständigen Verbrennung organischer bzw. fossiler Stoffe. Sie kommen als Kanzerogene im Steinkohleteer, im Dieselruß, in Autoabgasen und in der Teerfraktion des Tabakrauches vor. Auch bei unsachgemäßem Grillen von Fleisch sind sie nachweisbar.

Bei experimentellen Untersuchungen zur Kanzerogenese von polycyclischen aromatischen Kohlenwasserstoffen wurde das ubiquitär vorkommende (z.B. im Tabakrauch) Benzo(a)pyren als Modellsubstanz verwendet. Dessen kanzerogen wirksamer Bestandteil ist das 7,8-Dihydrodiol-9,10-epoxid, welcher bei entsprechenden in vitro Tests mutagen wirkte. Bei in vivo Tests war eine Bindung an N2 der exocyclischen Aminogruppe von Guanin nachweisbar.

Die organspezifischen Wirkungen und die relative Wirksamkeit in den verschiedenen Geweben und Organen hängt im wesentlichen von den am Metabolismus beteiligten, aktivierenden und inaktivierenden Enzymen ab (Deml et al. 1996).

Aromatische Amine

Aromatische Amine bestehen aus aromatischen Kohlenwasserstoffen, die als Substituenten Aminogruppen enthalten. Sie kommen nicht in der Natur vor, sondern sind Produkte der chemischen Industrie wie Farbstoffe, Antioxidantien oder Arzneimittel. Sie wirken nach metabolischer Aktivierung über das mikrosomengebundene Cytochrom-P450-Enzymsystem systemisch kanzerogen und können z.B. Blasenkrebs (Anilinkrebs) oder Brustkrebs hervorrufen.

N-Nitroso-Verbindungen

Bei den N-Nitroso-Verbindungen unterscheidet man die N-Nitrosamide von den N-Nitrosaminen. N-Nitrosamide bedürfen keiner Aktivierung, sie reagieren spontan. Die N-Nitrosamine reagieren erst nach enzymatischer Oxydation. N-Nitrosoverbindungen kommen ubiquitär vor. Einerseits werden sie synthetisch hergestellt, andererseits kommen sie natürlich vor. Insbesondere finden sie sich im Zigarettenrauch, in Lebensmitteln (gebratenes oder geräuchertes Fleisch, geräucherte Wurst, Bier, Käse), Lösungsmitteln, Umweltchemikalien (Pestizide) oder Kosmetika (Deml et al. 1996).

Die Bedeutung für die Krebsentstehung durch orale Aufnahme von Nitrosoverbidungen wurde in verschiedenen Studien experimentell belegt.

Von den 300 untersuchten Nitrosoverbindungen waren im Tierversuch 90% kanzerogen. Nach chronischer Behandlung von Ratten und Mäusen mit Nitrosaminen, traten Tumore in 40 verschiedenen Organen auf (Marquart 1994).

Nitrosamine

Nitrosamine sind eine der wesentlichen Verbindungen der im Tabakrauch enthaltenen Kanzerogene (Amin 1996, Hoffman et al. 1991). Sie finden sich außerdem in Kosmetika, pharmazeutischen Produkten und Düngemitteln (Hecht 1997).

Die metabolische Aktivierung der Nitrosamine erfolgt durch Oxydation mit Hilfe der Cytochrom P450 abhängigen Monooxygenasen z.B. in Leber oder Lunge (Hecht 1997). Sie können in der Mundhöhle, der Speiseröhre, der Lunge und der Bauchspeicheldrüse bösartige Tumore verursachen. Nitrosamine wirken aber auch zytotoxisch und rufen z.B. in der Leber toxische Schäden und Nekrosen hervor (Hecht et al. 1994).

Bei Konsumenten von mit einem Tabakblatt umwickelten Betelnüssen scheinen die im Speichelextrakt nachgewiesenen N-Nitrosoverbindungen verantwortlich bzw. mitverantwortlich für das hohe Auftreten von Mundhöhlenkrebs bei dieser Personengruppe zu sein (Schmähl 1991). Die mögliche karzinogene Wirkung des Speichelextraktes von Tabakkonsumenten konnte in verschiedenen Studien auf den Nachweis von Nitrosaminen im Speichel zurückgeführt werden (Puri et al. 1998).

Nitrosamide

Nitrosamide sind im Gegensatz zu den Nitrosaminen chemisch labil und daher sehr reaktiv. Sie zerfallen in wässriger Lösung spontan in reaktive Komponenten und erzeugen dementsprechend direkt am Applikationsort lokale Gewebsschäden. Des Weiteren induzieren sie transplazentar Lungen-, Hirn- und Rückenmarkstumore, sowie

Tumore peripherer Nerven bei den Nachkommen exponierter Tiere (Marquart et al. 1994).

Naturstoffe

Naturstoffe mit kanzerogener Wirkung werden nach dem Ursprung ihrer Bildung unterschieden (Pilzen, Bakterien oder Pflanzen). Ihre chemische Struktur ist sehr divers. Alle bedürfen einer metabolischen Aktivierung (Deml et al. 1996).

Zu den wichtigsten pflanzlichen Kanzerogenen sind neben den Mykotoxinen (Aflatoxine) und einigen Antibiotika, die des Zigarettenrauches zu zählen. Dieser enthält eine Vielzahl gentoxischer und promovierender Substanzen. Die Inhaltstoffe des Zigarettenrauches und ihre kanzerogenen Wirkungen wurden gesondert diskutiert (s.o.).

Weitere pflanzliche Kanzerogene sind z.B. die Nüsse der Cycas-Palme, die das Cycasin (Induktion von Leber-, Nieren-, Darmtumoren) enthalten, oder die Früchte der Betelnußpalme. Das Kauen des indisch-malayischen Genußmittels Betel aus der Frucht der Betelnußpalme, die mit einem Tabakblatt umwickelt wird, ruft orale Leukoplakien und Mundhöhlenkrebs hervor (Nair et al. 1991, Stich et al. 1991).

Anorganische Substanzen

Bei den anorganischen Substanzen handelt es sich im wesentlichen um Stoffe, die als Arbeitsplatznoxen bekannt sind. In den letzten Jahren haben Krebserkrankungen, die durch das Einwirken beruflicher Schadstoffe ausgelöst wurden, zunehmend an Bedeutung gewonnen. Neben krebserzeugenden radioaktiven Elementen wie Plutonium, Radium oder Radongas, spielen insbesondere Nickel-, Cadmium-, Chrom- und Arsenverbindungen eine wichtige Rolle, die vor allem im Zigarettenrauch als Oxide oder Salze in Form von Spurenelementen zu finden sind (Hoffmann 1994).

Bei den Schwermetallen hängt die krebserzeugende Wirkung unter anderem von der Bioverfügbarkeit und Löslichkeit der Metallionen ab. Besitzen Metallionen die Fähigkeit über einen Transportmechanismus die Zellmembran zu durchdringen, so können sie DNA-Schäden entweder direkt, oder durch die Bildung reaktiver Moleküle (z.B.reaktiver Sauerstoff) hervorrufen. Weiterhin können sie Mutationen durch Fehler bei der replikativen DNA-Synthese oder durch Störungen von DNA-Reparaturmechanismen auslösen (Marquart et al. 1994).

Anorganische Arsenverbindungen zeigten im Tierversuch kanzerogene Wirkung und es besteht der starke Verdacht einer humanen Kanzerogenität. Schon Plinius berichtete über die Anwendung von Arsen im Weinbau des antiken Rom. Bis in die 50-er Jahre wurde es als Insektizid, Akarizid und Nematozid zum Rebschutz angewandt (Hillebrandt 1995). Später wurden in epidemiologischen Studien erhöhte Raten von Haut-, Leber- und Lungentumoren bei Winzern festgestellt, so daß es heute als Rebschutzmittel aus dem Verkehr gezogen wurde. Auch im Zigarettenrauch konnte Arsen nachgewiesen werden (Hoffmann et al. 1994).

In epidemiologischen Fall-Kontroll-Studien zur beruflichen Exposition von Schadstoffen und damit verbundenen Krebsrisiken zeigte sich nach differenzierter Betrachtung der

Metallexposition im Tumorkollektiv (Tumoren des oberen Aerodigestivtraktes) ein höherer Anteil an Personen, die mit Chrom- und Nickel-Verbindungen Kontakt hatten (Tab.6, Maier et al. 1991):

Tab.6: Arbeitsstoffbelastung der Tumorpatienten und Kontrollpersonen in der Heidelberger Fall-Kontrollstudie (nach Maier et al. 1991):

Arbeitsstoff	Tumorpatienten in %	Kontrollpersonen in %
Metalle allgemein	15,0	11,0
Chrom	4,0	1,3
Nickel	4,0	1,0
Beryllium	1,0	0,0

Andere indirekte gentoxische Kanzerogene

Weitere indirekte Kanzerogene sind Nitroalkylverbindungen, Aldehyde (Formaldehyd induziert Nasennebenhöhlentumoren), Carbamate (Urethan), halogenierte Kohlenwasserstoffe (DDT u.a.Pestitide), Vinylchlorid, 1,2-Dichlorethan und Chlorohydrine.

1.7.2. Epigenetische (nicht-gentoxische) Kanzerogene

Epigenetische Kanzerogene sind krebserzeugende Substanzen, bei denen keine DNA-Reaktion nachweisbar ist. Sie besitzen andere biologischen Wirkungen, die die Basis für ihre Kanzerogenität darstellen. Hierzu zählen Zytotoxizität (gesteigerte regenerative Zellproliferation), chronische Entzündungen, hormonale Einflüsse, immunologische Wirkungen oder Tumorpromotion (Marquart 1994).

Durch induzierte Zellproliferation, z.B. in regenerierenden Organen wie die Leber, kann die kanzerogene Wirksamkeit chemischer Verbindungen gesteigert werden. Deshalb sind die toxischen Wirkungen einer Substanz (Zelltod-Regeneration) bedeutsam für die Beurteilung ihrer kanzerogenen Potenz (Tab.7).

Tab.7: Gesteigerte Zellproliferation als Risikofaktor für Kanzerogenese Beispiele für einige Substanzen und deren Zielorgane (nach Marquart 1994):

Faktor	Target
Chemische Substanzen	
Betelnuß	Mundhöhle
Tabak	Mundhöhle, Lunge, Blase
Hormone	
TSH	Schilddrüse
Östrogen, Progesteron	Endometrium, Brust
Testosteron	Prostata
Arzneimittel	
Anabole Steroide	Leber
Analgetika	Nierenbecken
Infektionserreger	
Hepatitis B	Leber
Epstein-Barr Virus	Burkitt's Lymphom
Physikalische Einflüsse	
(mechan.Trauma)	
Asbest	Mesothelioma, Lunge, Kehlkopf
Steinbildung	Gallenblase, Harnblase
Chronische Entzündung	
Ulzera	Haut
chronisch ulzerative Colitis	Colon

Tumorpromotoren und Co-Kanzerogene

Tumorpromotoren sind Substanzen unterschiedlichster Herkunft, die die Krebsinzidenz nach Exposition gegenüber kanzerogenen Stoffen erhöhen, ohne selbst kanzerogen zu sein. Sie erhöhen einerseits die Tumorrate pro Tier, und/oder verkürzen die Latenzzeit der Tumorentwicklung (Kanzerogenese). Sie sind nicht elektrophil, reagieren nicht mit der DNA und werden auch nicht metabolisch aktiviert. Ihre Wirkung ist sowohl organals auch speziesspezifisch (Marquart 1994).

Die Wirkungsmechanismen der Tumorpromotoren sind nicht vollständig bekannt und äußerst vielfältig. Grundsätzlich lassen sich allerdings zwei Wirkmechanismen unterscheiden:

- 1. Durch cytotoxische Schädigung von Zellen und deren Untergang kommt es in der Folge zu vermehrter Zellproliferation. Wiederholtes regeneratives Wachstum nach chronischen Gewebsschädigungen hat sehr wahrscheinlich tumorpromovierende Wirkung.
- **2.** Durch die Beeinflussung von Signalwegen, der Wachstumsregulation und der Apoptose können Tumorpromotoren hormonähnliche Wirkung ausüben (Marquart 1994).

Im Unterschied zu tumorpromovierenden Substanzen wirken Co-Kanzerogene bei gleichzeitiger Applikation (bzw. kurz vorher) mit dem eigentlichen Initiator kanzerogen. Alkohol erhöht als Co-Kanzerogen die Suszeptibilität verschiedener Gewebe durch Schädigung der Zellmembran. Dadurch wird die Aufnahme von Karzinogenen in die Schleimhaut des oberen Aerodigestivtraktes erleichtert. Chronischer Alkoholkonsum führt zur Atrophie und lipomatösen Umwandlung des Parenchyms der Speicheldrüsen, mit der Folge einer verminderten Speichelsekretion (Maier et al. 1988, 1990). Dies führt zu einer Verringerung der Befeuchtung und Reinigung der Schleimhaut und somit zu einer Erhöhung der Konzentration und Kontaktzeit lokal wirksamer Kanzerogene.

Daneben scheint die zytotoxische Wirkung des Alkohols bzw. seines ersten Metaboliten, des Acetaldehyds, eine wesentliche Rolle bei der Tumorinitiation und Tumorpromotion zu spielen.

Untersuchungen post mortem zeigten eine Atrophie der Mundschleimhaut sowie eine erhöhte proliferative Aktivität nach chronischem Alkoholkonsum. Eine atrophisch hyperregenerierende Schleimhaut ist im besonderen Maße empfindlich gegenüber lokal wirkenden chemischen Karzinogenen (Valentine et al. 1985, Born et al. 1996). Allerdings muß beachtet werden, daß die morphologischen Veränderungen der Mundschleimhaut ebenso durch andere Faktoren wie Mangelernährung oder schlechte Zahnhygiene hervorgerufen werden können.

Grundsätzlich kann Ethanol in Abhängigkeit von der aufgenommenen Menge und von der Dauer des Konsums in praktisch allen Organsystemen Schädigungen hervorrufen.

Bei der Bewertung der arbeitsplatzrelevanten Aufnahme von Ethanol über die Lunge oder die Haut, ist die Umsetzung von Ethanol zu Acetaldehyd und entsprechenden radikalischen Verbindungen im Körper als grundlegender kanzerogener Wirkmechanismus anzusehen.

1998 wurde Ethanol in die Kategorie 5 für krebserzeugende Arbeitsstoffe eingegliedert. Diese Kategorie beinhaltet Stoffe mit krebserzeugender und gentoxischer Wirkung.

Als entsprechende Konzentration wurden 500 ml/m³ ermittelt und als neuer MAK-Wert (maximale Arbeitsplatzkonzentration) festgesetzt (Deutsche Forschungsgemeinschaft 1998).

Untersuchungen zum kombinierten Tabak- und Alkoholkonsum haben gezeigt, daß eine synergistische Wirkung in Hinsicht auf das relative Risiko an einem Larynxkarzinom zu erkranken, besteht. Nimmt man bei einem Alkoholkonsum von weniger als 25 g/d ein Krebsrisiko von 1,0 an, so kommt es zu einem Risikoanstieg auf das 9-fache des Ausgangswertes (p = 0,001) bei mehr als 75g/d (Maier et al. 1990).

Peroxisomen-Proliferatoren

Peroxisomen (Microbodys) kommen im Cytoplasma aller eukaryontischen Zellen vor, insbesondere in Leber- und Nierenepithelzellen. Sie sind am Glucose- und Lipidstoffwechsel, am Harnsäureabbau und der Zellatmung beteiligt (Leonhardt et al. 1990). Peroxisomen enthalten Oxidasen, deren katalytische Aktivität zur Freisetzung von Wasserstoffsuperoxid führt und damit zur Bildung von freien Sauerstoff-Radikalen, die einen gentoxischen "oxidativen Streß" bewirken.

Peroxisomen-Proliferatoren induzieren die Zellproliferation, besonders in der Leber, und wirken somit als Tumorpromotoren. Wichtigste Vertreter sind Arzneimittel (Lipidsenker) und Lösungsmittel. Maier et al konnten bei chronischer Exposition von Farben, Lacken und Lösungsmitteln feststellen, daß ein 2,3-fach erhöhtes Risiko an Mundhöhlenkrebs und ein 3,6-fach erhöhtes Risiko an Kehlkopfkrebs zu erkranken für diese Personen besteht (Maier et al. 1997).

Festkörper

Zu den epigenetischen Kanzerogenen zählen weiterhin Festkörper bzw. Fremdkörper, die Entzündungsreaktionen Inhalation durch chronische bzw. gesteigerte (Lunge, Zellproliferation im Zielgewebe Pleura, Aerodigestivtrakt) oberer krebserzeugendes Potential besitzen. Die kanzerogene Wirkung dieser Substanzen hängt von der physikalischen Beschaffenheit der Oberflächen ab.

Wichtigste Vertreter sind Asbest, Zement oder auch Holzstäube (Tab.8 und 9). Es liegen also weitestgehend berufsbedingte Expositionen vor. Das durch Asbestexposition hervorgerufene Mesotheliom ist eine anerkannte Berufskrankheit. Verschiedene Studien weisen auf einen Zusammenhang von Asbestexposition und der Entstehung von Larynxkarzinomen hin (Deitmer et al. 1991). Eine Anerkennung als Berufskrankheit (Nr.4104) erfolgt, wenn die Einwirkung einer kumulativen Asbestfaserstaub-Dosis am Arbeitsplatz von mindestens 25 Faserjahren (25 x 106 Fasern/m³) nachweisbar ist (Merkblatt zur Berufskrankheiten-Verordnung Nr. 4104, 1997). In Kombination mit Tabakrauch wird das Risiko der Erkrankung multiplikativ gesteigert.

Maier und Mitarbeiter konnten in verschiedenen Studien feststellen, daß nach Exposition von Stäuben ein erhöhtes Risiko an einem Kopf- Halskarzinom zu erkranken, besteht (Maier et al. 1994, 1991).

Tab.8: Arbeitsstoffassoziiertes Risiko an einem Rachenkarzinom zu erkranken (unbereinigt) (nach Maier1994):

Arbeitsstoff	Relatives Risiko
Asbest	2,1
Zement	5,3
Holzstaub allgemein	1,2
Buchen- und Eichenholzstaub	1,2
Fichtenholzstaub	1,4
Edelholzstaub	0,9
Staub exotischer Hölzer	1,2
Stäube allgemein	3,4

Tab.9: Arbeitsplatzassoziiertes relatives Risiko an einem Rachenkarzinom zu erkranken (bereinigt für Alkohol- und Tabakkonsum) (nach Maier 1994):

Arbeitsstoff	Relatives Risiko
Zement	2,2
Asbest / Zement	2,5
Stäube allgemein	2,4

2. Zielstellung

Die Arbeiten von Maier et al. zeigen epidemiologisch-statistisch den Zusammenhang von exogenen Noxen mit einem erhöhten Tumorrisiko im oberen Aerodigestivtrakt. Diese weisen die Kanzerogenität verschiedener arbeitsplatzbedingter Expositionen nach und stellen besonders den chronischen Alkohol- und Tabakkonsum als Risikofaktor zur Krebsentwicklung im Bereich des oberen Aerodigestivtraktes dar.

In dieser Studie soll nachgewiesen werden, inwieweit chromosomale Schäden an der Schleimhaut des oberen Aerodigestivtraktes bei chronischer Schadstoffexposition nachweisbar sind und zur Tumorentstehung führen. Dabei gingen wir von der Überlegung aus, daß eine Gesamtschädigung der Schleimhaut des oberen Aerodigestivtraktes im Sinne einer Feldkanzerisierung nach Slaughter (Slaughter et al 1953) vorliegt.

Das Erlangen von reproduzierbaren Meßwerten, die in Abhängigkeit ihrer Schadstoffwirkung skaliert werden, könnte zur Grundlage von Richtlinien zur Früherkennung von Hochrisikopatienten werden. Mit Hilfe des Mikrokerntestes sollen an der gesunden Schleimhaut des oberen Aerodigestivtraktes klastogene und aneugene Wirkungen von chemischen und physikalischen Noxen nachgewiesen werden.

Insbesondere soll der Zusammenhang zwischen übermäßigem Alkohol- und Zigarettenkonsum allein und in Kombination mit Umweltgiften untersucht werden.

Anhand von zytologischen Abstrichen der Mundschleimhaut von gesunden nichtexponierten und gesunden exponierten Probanden, Patienten mit Kopf- Hals-Karzinomen und Patienten mit leukoplakischen Veränderungen im Bereich des oberen Aerodigestivtraktes, sollen deren Mikrokernraten bestimmt und miteinander verglichen werden, um das Ausmaß der Feldkanzerisierung in Abhängigkeit vom Schadstoffeintrag zu beurteilen und diese auf zytologischer Ebene nachzuweisen.

Nach Auswertung der durch einen standardisierten Fragebogen erhobenen Daten zur Schadstoff- und Genußmittelexposition und ihren Einfluß auf die Mikrokernrate, könnten Rückschlüsse auf die Mutagenität dieser Noxen gezogen werden. Von besonderem Interesse ist die Frage, ab welcher Mikrokernrate ein erhöhtes Risiko für einen gesunden Probanden (bei entsprechender Schadstoffexposition) an einem Kopf- Hals- Karzinom zu erkranken, besteht.

Das relative Risiko an einem Kopf-Hals-Karzinom zu erkranken, soll in Abhängigkeit von der Mikrokernfrequenz bestimmt werden und so zur Erkennung von Hochrisikopatienten beitragen.

3. Material und Methoden

3.1. Standardisierter Fragebogen

3.1.1. Probandencharakterisierung mit Hilfe eines standardisieren Fragebogens

In die Studie gingen 159 Probanden ein. Diese unterteilen sich in 44 Patienten mit malignen Tumoren im Mund-, Rachen- und Kehlkopfbereich (Tab. 10), 16 Patienten mit Leukoplakien (10 Leukoplakien/Dysplasien des Larynx und 6 Leukoplakien der Mundhöhle), sowie 99 gesunde Probanden (Kontrollgruppe). Zur Aufnahme der probandenspezifischen Daten und insbesondere zur Evaluierung der auf sie einwirkenden Noxen wurde ein standardisierter Fragebogen in Anlehnung des Fragebogens nach Carrano und Natarajan (Carrano et al. 1987, Tab. 11) entwickelt (siehe Anhang).

Tab.10: Verteilung der Tumorlokalisation bei n = 44

	Mundhöhle/Oropharynx	Hypopharynx	Larynx
Patientenzahl n	10	12	22

Der Fragebogen beinhaltet 24 Fragen mit Angaben zur Person, zum Wohnumfeld, zur beruflichen Tätigkeit, zum Lebensstil (Genußmittelanamnese), zur Eigenanamnese, Familienanamnese und jetzigen Anamnese.

3.1.1.1. Persönliche Angaben

Diese beziehen sich auf Name, Vorname, Geschlecht, Alter und Datum der Probeentnahme. Um möglichst genaue Bedingungen zum Vergleich zwischen Tumorbzw. Leukoplakiepatienten und gesunden Probanden (Kontrollpersonen) zu erlangen, wurden letztere ungefähr nach Geschlechts- und Altersverteilung der Tumor- und Leukoplakiepatienten ausgewählt, da eine signifikante und positiv korrelierende Altersabhängigkeit der Mikrokernrate besteht [r=0,62 (p<0,0001) bei Männern; r=0,65 (p<0,0001) bei Frauen]. Bei Frauen wurden höhere Mikrokernbasisraten als bei Männern bestimmt (Faktor 1,2 – 1,6 in Abhängigkeit der Altersdekade) (Fenech 1998).

Das Durchschnittsalter der Tumor- und Leukoplakiepatienten beträgt 60 Jahre, das der gesunden Kontrollpersonen 55 Jahre. Unter den 44 Tumorpatienten sind 6 Frauen, unter den 16 Leukoplakiepatienten ist eine Frau und unter den 99 gesunden Probanden sind 26 Personen weiblich.

3.1.1.2. Angaben zur beruflichen Tätigkeit

Diese Fragen beziehen sich auf die jetzige Arbeitsstelle und die Dauer der dortigen Anstellung. Weiterhin wurde erfragt, ob eine Änderung der Tätigkeit / Arbeitsstelle innerhalb der vergangenen 10 Jahre stattgefunden hat. In Anlehnung an o.g. Fragebogen von Carrano et al. (1987) wurden folgende berufliche Noxen evaluiert:

Tab.11: Bsp. der Frage nach beruflicher Schadstoffexposition (in Anlehnung an Carrano et al 1987):

Arbeitsplatznoxen	nein	ja	selten	häufig	Zeitraum
Organische Lösungsmittel	1	0	0	0	
Schwermetalle	0	1	0	1	1959-95
Pestizide	1	0	0	0	
Kunststoffe	1	0	0	0	
radioaktive Strahlung	1	0	0	0	
Asbest / Glasfasern	0	1	1	0	1959-95
andere (mit Angabe)	1	0	0	0	

1=ja 0=nein

3.1.1.3. Angaben zum Wohnumfeld

Diese Fragestellungen beinhalten Angaben zur Wohnlage (auf dem Lande, Kleinstadt, Großstadt, Stadtzentrum, Stadtrand), sowie Angaben zum Wohnumfeld. Hierbei wird nach der genaueren Charakterisierung der Lebensverhältnisse im Wohnumfeld des Probanden gefragt, d.h. ob er in ländlicher Umgebung mit Grünanlagen lebt, oder ob er Luftverschmutzungen durch Hauptverkehrsstraßen, Gewerbegebiete oder Industrieanlagen direkt oder in unmittelbarer Nähe (500m....1000m) ausgesetzt ist.

Weiterhin sollen Angaben zur Wärmeversorgung (Art der Beheizbarkeit der Wohnung, welches Brennmaterial) und der Möglichkeit des Schadstoffkontaktes in der Freizeit (Hobbies) gemacht werden.

3.1.1.4. Angaben zum Genuß von Tabak und Alkohol

Die Angaben zu diesen Fragen dienen der Genußmittelanamnese. Welche Art von Tabak (Zigaretten, Zigarren, Schnupftabak, Pfeifentabak) wurde wie lange und in welcher Menge konsumiert. Die Menge der täglich gerauchten Zigaretten wurde als solche eingetragen und zusätzlich Menge und Dauer des Tabakkonsums in Packungsjahre berechnet. Die Variable Packungsjahre drückt summarisch den lebenslangen Tabakkonsum aus. Raucht ein Proband innerhalb eines Jahres täglich 20 Zigaretten, entspricht diese Menge einem Packungsjahr. Raucht der Proband täglich 40 Zigaretten innerhalb eines Jahres, entspricht diese Menge zwei Packungsjahren.

Personen, die das Rauchen länger als 6 Monate aufgegeben haben, wurden als Nichtraucher gezählt. In verschiedenen Studien konnte kein Unterschied der Mikrokernrate zwischen Nichtrauchern und ehemaligen Rauchern festgestellt werden (Lippmann 1990). Gründe dafür sind in einem intakten DNA- Reparaturmechanismus sowie in der Regeneration der Schleimhaut zu sehen, in der die Zellen der Basalschicht unter zunehmender Differenzierung an die Oberfläche wandern.

Die Angaben zum Alkoholkonsum beziehen sich auf die Art des Getränkes, Menge und Regelmäßigkeit des Konsums. Zur besseren Verwertbarkeit der Daten wurden Menge und Regelmäßigkeit des Alkoholgenußes in Gramm Alkohol pro Tag umgerechnet. Ein Bier pro Tag (0,5 Liter) entspricht 25 g Alkohol, ein Glas Wein (250 ml) enthält 20 g Alkohol und 4 cl Spirituosen enthalten 16 g Alkohol.

3.1.1.5. Angaben zur Eigen- und jetzigen Anamnese

Diese Fragen beinhalten Angaben zur Einnahme von Arzneimitteln (Chemotherapeutika, Pille, Antibiotika...), zur jetzigen Anamnese (Krebs, Herpes, Hepatitis..), zur Behandlung der Erkrankung (OP, Bestrahlung, Chemotherapie), sowie Angaben zur Exposition von Röntgenstrahlung innerhalb der letzten 10 Jahre. Patienten die in den letzten Monaten aufgrund eines Kopf-Hals-Karzinomes gehäuft im Bereich des oberen Aerodigestivtraktes Röntgenstrahlung ausgesetzt waren oder strahlen- bzw. chemotherapeutisch behandelt werden/wurden, gingen nicht in die Studie ein.

3.1.1.6. Angaben zur Familienanamnese

Die Angaben dienen der Evaluierung von erblichen Erkrankungen und oder Geburtsfehlern innerhalb der Familie.

3.1.1.7. Erstellung einer Datentabelle zur statistischen Auswertung

Die Datentabellen, mit den zusammengefaßten Informationen der Fragebögen sind im Anhang einzusehen.

3.2. Gewinnung des Untersuchungsmaterials

Nachdem die Probanden die Mundhöhle gründlich mit Wasser gespült haben, wurde von jeder Wangeninnenseite eine Schleimhautzytologie mit Hilfe eines angefeuchteten Holzmundspatels entnommen. Diese wurde unabhängig von der Lokalisation präkanzeröser bzw. maligner Veränderungen, jedoch makroskopisch mindestens 2 cm vom malignen Prozeß entfernt, entnommen, um einen Abstrich von der Tumorregion zu vermeiden. Dieser wurde anschließend auf einem mikroskopischen Objektträger ausgestrichen. Danach erfolgte die Trocknung der Objektträger an der Luft und anschließend die Fixierung mit einem kalten Methanol-Eisessig-Gemisch (4:1) über 30 Minuten. Daraufhin erfolgte eine nochmalige Lufttrocknung.

3.3. Färbung der Mundschleimhautabstriche

3.3.1. Giemsa-Färbung

Die Giemsa Lösung wurde als modifizierte Romanowsky-Färbung von dem Hamburger Chemiker und Bakteriologen Gustav Giemsa (1867-1948) als Differentialfärbung methanolfixierter Blut- und Knochenmark-Ausstriche zu Beginn dieses Jahrhunderts eingeführt.

Die Giemsa-Lösung besteht aus einer Mischung basischer Farbstoffe, aus verschiedenen Derivaten des Thionins und ihren Salzen mit Eosin (Azur-Eosin-Methylenblaulösung). Je nach Einstellung des pH-Wertes färbt die Giemsa-Lösung das Zytoplasma und den Zellkern bläulich bei basischem pH und rötlich bei saurem pH-Wert.

3.3.2. Färbetechnik

Nachdem die Mundschleimhautabstriche auf dem Objektträger mit Methanol-Eisessig fixiert und anschließend luftgetrocknet wurden, erfolgte die Färbung der zytologischen Abstriche in einer 1%-igen Giemsa-Lösung über 10 Minuten. Anschließend wurden Selbige in AquaDest gespült und luftgetrocknet.

3.3.3. Auswertungkriterien der Mikrokerne

Im Hellfeld des Mikroskopes wurde die Mikrokernrate der gefärbten Präparate bei 400facher (10 x 40) Vergrößerung auf 1000 Zellen pro Proband seitengetrennt bestimmt. Folgende Definition eines Mikrokernes wurde zum Ausschluß von Artefakten hierbei zu Grunde gelegt:

Definition eines Mikrokerns:

- 1. Um Verwechslungen mit Farbstoffpartikeln zu vermeiden ist darauf zu achten, daß Mikrokerne im Gegensatz zu Farbstoffpartikeln keine Reflexionen aufweisen.
- 2. Die Größe eines Mikrokerns darf maximal 1/3 des Durchmessers vom Hauptkern betragen
- 3. Die Färbung des MK darf höchstens so stark wie die des dazugehörigen Hauptkerns sein.

4. Mikrokerne liegen innerhalb des Zytoplasmas. Kam es zum Platzen der Plasmahülle (Hypotoniebehandlung), darf der Abstand vom Hauptkern maximal den doppelten Kerndurchmesser betragen (Mitteilung Bundesumweltamt Bad Elster).

In die Bewertung gelangten allerdings nur Zellen mit intaktem Zytoplasma und erkennbaren Zellgrenzen ohne Trümmerkernen, so daß eine eindeutige Zuordnung jedes Mikrokerns zum entsprechenden Hauptkern möglich war (Abb. 1 und 2).

3.4. Bewertete Daten

Neben den in Tabelle 7 eingetragene Schadstoffen gingen nach Auswertung der standardisierten Fragebögen folgende exogene Noxen zusätzlich in die Studie ein: Benzin, Stäube allgemein und Auspuff- bzw. Abgase.

Die Angaben aus dem standardisierten Fragebogen wurden zur weiteren statistischen Auswertung entsprechend verschlüsselt und in eine einheitliche Datenkartei (siehe Anhang) eingetragen.

3.5. Statistische Methoden

Die statistische Auswertung der Daten erfolgte in Zusammenarbeit mit dem Institut für Medizinische Epidemiologie, Biometrie und Medizinische Informatik der Martin- Luther-Universität Halle.

Zunächst wurde das Verhältnis der Mikrokernrate bei den Patienten bzw. Kontrollpersonen untersucht und durch Mittelwertvergleich bewertet. Mit Hilfe der multiplen linearen Regressionsanalyse wurde dann der Einfluß der einzelnen exogenen Noxen auf die Mikrokernrate unter Angabe und statistischer Bewertung der Korrelationskoeffizienten dargestellt. Das geschätze relative Risiko (Odds Ratio) für einen gesunden Probanden (mit entsprechender Exposition) an einem Kopf- Hals-Karzinom der o.g. Regionen zu erkranken, wurde durch Angabe von Odds Ratio mit dem Verfahren der logistischen Regression unter Einbeziehung aller relevanten Noxen ermittelt. Der Vergleich der Mikrokernraten zwischen linker und rechter Wangeninnenseite erfolgte durch den Mittelwertvergleich für gepaarte Stichproben. Die Auswertung wurde mit dem statistischen Analyseprogramm SPSS durchgeführt.

3.6. Materialien

Unter diesem Kapitel werden die für die Versuche notwendigen Lösungen, Gefäße und Reagentien aufgeführt:

mikroskopische Objektträger (Elka)

Methanol- Eisessig-

Gemisch: 20 ml Methanol mit 80 ml Eisessig auf 100 ml auffüllen Giemsa- Färblösung: 2 ml Giemsa mit 198 ml Aqua Dest auf 200 ml auffüllen

4. Ergebnisse

4.1. Mittelwerte der Mikrokernraten pro Zelle

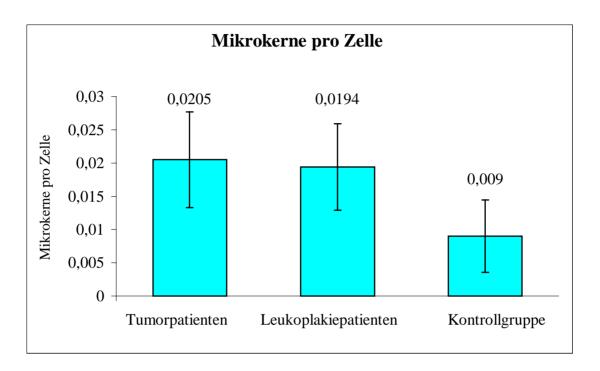


Abb. 5: Mittelwerte der Mikrokerne pro Zelle bei Kontrollpersonen, Tumor- und Leukoplakiepatienten mit Angabe der Standardabweichung

Die höchste Mikrokernrate zeigt sich im Mittel bei Patienten mit Kopf-Hals-Tumoren (0,0205 Mikrokerne pro Zelle; Standardabweichung s = 0,0072) und bei den Patienten mit Leukoplakien (0,0194 MK; s = 0,0065). Eine signifikant niedrigere Mikrokernrate (0,009 Mikrokerne pro Zelle; s = 0,0055) liegt bei den Kontrollpersonen gegenüber den Tumor- und Leukoplakiepatienten vor (Signifikanz p<0,001, kontrolliert durch Bonferroni). Die Differenz der mittleren Mikrokernrate von Tumor- und Leukoplakiepatienten ist dagegen nicht signifikant (p=1).

Der Median der Mikrokernrate liegt bei den Tumorpatienten bei 0,0195, bei den Leukoplakiepatienten bei 0,0180 und bei den Kontrollpersonen bei 0,008 Mikrokernen pro Zelle (Abb.5).

4.2. Täglicher Zigarettenkonsum und Mikrokernrate bei Tumorpatienten, Leukoplakiepatienten und Kontrollpersonen

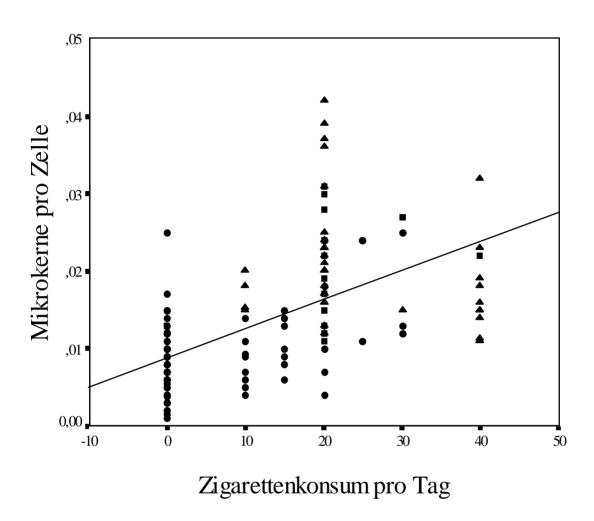


Abb.6: Zusammenhang zwischen täglichem Zigarettenkonsum und Mikrokernrate bei Tumorpatienten ♠, Leukoplakiepatienten ♠ und Kontrollpersonen • [Korrelationskoeffizient (r)=0,584 (Signifikanz: p < 0,0001); Regressionskoeffizient (B) = 0,340].

Dieses Diagramm zeigt den Einfluß des täglichen Zigarettenkonsums auf die Mikrokernrate. Es besteht eine hoch signifikante positive Korrelation zwischen zunehmender Zahl gerauchter Zigaretten pro Tag und einer entsprechend ansteigenden Mikrokernrate innerhalb von Kontrollgruppe, Tumor- und Leukoplakiepatienten (r>0,5 mit p<0,0001). Die Tumorpatienten rauchen durchschnittlich 24,3 Zigaretten pro Tag, die Leukoplakiepatienten 20,6 Zigaretten pro Tag und die Kontrollpersonen 5,3 Zigaretten pro Tag. Mehrfachbelegungen von Diagrammpunkten durch gleiche Wertepaare (Zigarettenkonsum und Mikrokernrate) treten bei n = 159 auf. Im Diagramm wird deutlich, daß das Niveau der Wertepaare von Tumor- und Leukoplakiepatienten deutlich höher liegt, als der der Kontrollpersonen (Abb. 6).

4.3. Menge und Dauer des Nikotinabusus (Packungsjahre) und Mikrokernrate bei Tumorpatienten, Leukoplakiepatienten und Kontrollpersonen

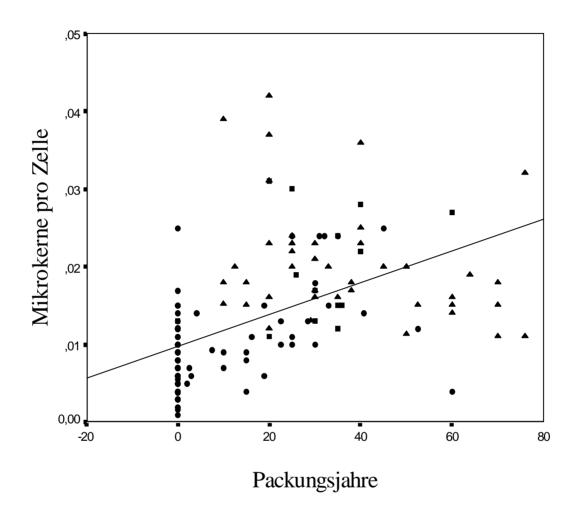


Abb. 7: Zusammenhang zwischen Menge und Dauer des Nikotinabusus (Packungsjahre) und Mikrokernrate bei Tumorpatienten ♠, Leukoplakiepatienten ♠ und Kontrollpersonen • [r =0,519 (p < 0,0001); B = 0,269]

Dieses Diagramm zeigt die Abhängigkeit der Mikrokernrate von den Packungsjahren. Es besteht eine hoch signifikante positive Korrelation von Dauer und Menge des Zigarettenkonsums (Packungsjahre) und der Mikrokernfrequenz pro Zelle bei den Kontrollpersonen, Tumor- und Leukoplakiepatienten [r>0,5 (p<0,0001)]. Die Anzahl der Mikrokerne pro Zelle steigt mit Zunahme des lebenslangen Zigarettenkonsums an. Der durchschnittliche Tabakkonsum als Packungsjahre beträgt bei den Tumorpatienten 32,0, bei den Leukoplakiepatienten 30,4 und bei den Kontrollpersonen 7,2 Packungsjahre. Mehrfachbelegungen von Diagrammpunkten durch gleiche Wertepaare (Packungsjahre und Mikrokernrate) treten bei n = 159 auf. Die Wertepaare der Tumor- und Leukoplakiepatienten liegen auf einem weitaus höheren Niveau, als die der Kontrollpersonen (Abb.7).

Im folgenden Diagramm (Abb.8) wurde die Anzahl der Packungsjahre in 3 Gruppen unterteilt und die mittlere Anzahl der Mikrokerne pro Zelle für die Kontrollgruppe, Tumor- und Leukoplakiepatienten pro jeweilige Gruppe Packungsjahre dargestellt. Die Unterteilung der Packungsjahre erfolgte in ≤ 5 ; $>5 \leq 25$ und >25 Packungsjahre. Als geringste Belastung Packungsjahre wählten wir ≤ 5 Packungsjahre in Anlehnung an Maier et al, die für diese Anzahl Packungsjahre das relative Risiko an einem Kopf- Hals-Karzinom zu erkranken gleich 1,0 setzten (Maier et al 1991).

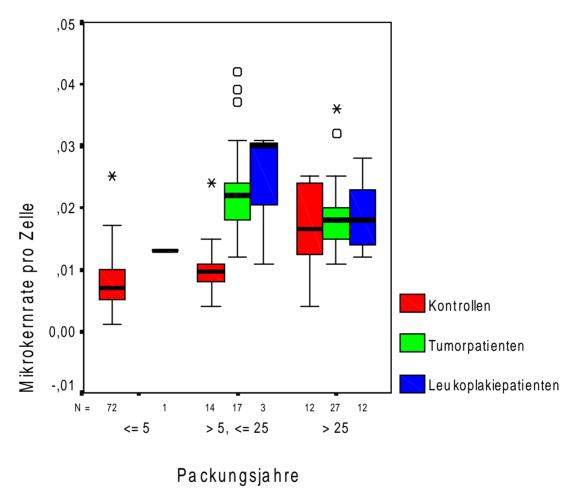


Abb. 8: Zusammenhang zwischen Mikrokernrate und Packungsjahren [unterteilt in niedrige (≤ 5), mittlere (> 5, ≤ 25) und hohe Belastung (> 25) Packungsjahre]

Die Unterteilung der Packungsjahre in Gruppen mit niedriger, mittlerer und hoher Belastung (Exposition Packungsjahre) zeigt ebenfalls einen signifikanten Anstieg der Mikrokernrate im Mittel innerhalb der Kontrollgruppe mit niedriger Exposition (≤ 5

Packungsjahre) gegenüber hoher Exposition und mittlere Exposition (>5, \leq 25 Packungsjahre) gegenüber hoher Exposition (> 25 Packungsjahre) mit (p<0,05). Der in Abb. 8 sichtbare geringe Anstieg der Mikrokernrate pro Zelle zwischen niedriger und mittlerer Exposition ist dagegen nicht signifikant (p>0,05). Lediglich ein Patient zählt zur Gruppe der niedrigen Belastung. Alle anderen Tumor- und Leukoplakiepatienten erfüllen das Kriterium für mittlere und hohe Belastung.

Für die mittlere Belastung zeigt sich ein deutlich höheres Niveau der Mikrokernraten im Mittel bei den Tumor- und Leukoplakiepatienten, das signifikant höher liegt als das Niveau der mittleren Mikrokernraten der Kontrollgrupe (p<0,05) (Abb. 8 und Tab.12). Mit zunehmender Anzahl Packungsjahre steigt die mittlere Mikrokernrate der Kontrollpersonen signifikant an (p<0,05), bei den Tumor- und Leukoplakiepatienten ist allerdings eine nicht signifikante Abnahme der Mikrokernrate im Mittel zwischen mittlerer und hoher Belastung zu erkennen (p>0,05). Dieses Phänomen ist am ehesten durch Recall Bias zu erklären. Recall Bias könnte dadurch entstehen, daß gesunde Kontrollpersonen die Fragen zum Alkohol- und Tabakkonsum differenzierter beantworten als die Patienten, die aufgrund ihrer Erkrankung zur Untertreibung des Tabak- und Alkoholkonsums neigen.

Bei hoher Belastung nähert sich die mittlere Mikrokernrate der Kontrollgruppe derjenigen der Patienten an. Bei differenzierter Betrachtung der mittleren Mikrokernrate der Kontrollpersonen mit hoher Belastung zeigt sich, daß 12 Kontrollpersonen eine Tabakexposition von über 25 Packungsjahren aufweisen. Von diesen 12 Kontrollpersonen mit einem Mittelwert von 0,01675 Mikrokernen pro Zelle liegen 4 Kontrollpersonen über den Median der mittleren Mikrokernrate der Tumorpatienten und sind somit als Hochrisikopatienten zu werten. Der Median der mittleren Mikrokernrate der Tumorpatienten von 0,0195 Mikrokernen pro Zelle dient als Cut-Point bei der Ermittlung des relativen Risikos an einem Kopf- Hals- Karzinom zu erkranken (s.u.).

Tab. 12: Mittelwerte der Mikrokernraten in Abhängigkeit des Tabakkonsums

Probandenstatus	Exposition Packungsjahre	Mittelwert	Standardabweichung
Kontrollgruppe	≤5	0,0070	0,0042
	>5, ≤25	0,0104	0,0048
	>25	0,0167	0,0066
Tumorpatienten	>5, ≤25	0,0234	0,0088
	>25	0,0186	0,0057
Leukoplakiepatienten	>5, ≤25	0,0240	0,0112
	>25	0,0180	0,0057

4.4. Zusammenhang zwischen Alkoholkonsum und Mikrokernrate

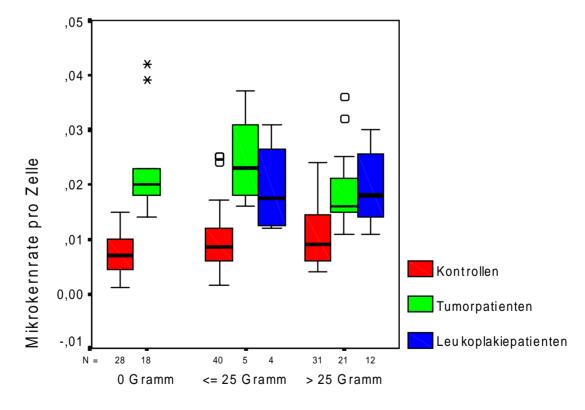
Die Auswertung erfolgte bei Tumorpatienten, Leukoplakiepatienten und Kontrollpersonen (n=159) mittels linearer Regressionsanalyse. In diesem Untersuchungsmodell wurde der Einfluß von Alkohol auf die Mikrokernraten unter Nichtbeachtung der anderen Noxen ermittelt. Es zeigt sich keine signifikante Korrelation zwischen Mikrokernrate und täglichen Alkoholkonsum [r=0,124 (p>0,05)]. D.h. der

alleinige Alkoholkonsum zeigt keine signifikante Einflußnahme auf die Mikrokernrate im Untersuchungsmodell (Tab.13).

Tab.13: Zusammenhang zwischen Alkoholkonsum und Mikrokernrate bei Kontrollpersonen, Tumor- und Leukoplakiepatienten

Koeffizienten	Kontrollpersonen, Tumor- und Leukoplakiepatienten
Korrelationskoeffizient r	0,124
Signifikanz p	0,120
Regressionsquotient B	0,015

Die folgende Darstellung (Abb. 9) zeigt die Abhängigkeit der Mikrokernrate vom Alkoholkonsum, der in 3 Gruppen mit einem täglichen Konsum von 0 Gramm, ≤ 25 Gramm und > 25 Gramm Alkohol pro Tag unterteilt wurde.



Alkoholkonsum pro Tag

Abb. 9 Zusammenhang zwischen Mikrokernrate und Alkoholkonsum (Alkoholkonsum unterteilt in 0 Gramm pro Tag, ≤ 25 Gramm pro Tag und > 25 Gramm pro Tag)

Wie in Tabelle 13 ersichtlich, konnte kein Zusammenhang zwischen Alkoholexposition und Mikrokernrate mittels linearer Regressionsanalyse dargestellt werden. Auch in Abb. 9 zeigt sich kein signifikanter Anstieg der mittleren Mikrokernraten in Abhängigkeit des täglichen Alkoholkonsumes innerhalb von Kontrollgruppe, Tumor- und Leukoplakiepatienten (p>0,05). Lediglich das Niveau der Mikrokernraten im Mittel ist bei den Tumor- und Leukoplakiepatienten ein deutlich höheres als das der Kontrollpersonen und durch die nachgewiesene signifikante positive Korrelation der Mikrokernrate durch Einflußnahme vom Tabakkonsum am ehesten erklärbar. Die Abnahme der Mikrokernrate im Mittel innerhalb der Patienten zwischen mittlerem (≤ 25 Gramm pro Tag) und hohem (> 25 Gramm pro Tag) Alkoholkonsum kommt am ehesten durch Recall Bias zustande.

4.5. Zusammenhang zwischen Alkohol- und Tabakkonsum und Mikrokernrate

Die Auswertung (Tab. 14) erfolgte bei Kontrollpersonen und Tumor- und Leukoplakiepatienten mittels multipler Regressionsanalyse. In beiden Gruppen zeigt sich eine hoch signifikante Abhängigkeit der Mikrokernrate mit positiver Korrelation [r>0,5 (p<0,001)] von den Packungsjahren, während der tägliche Alkoholkonsum keine signifikante Einflußnahme [r=-0,030 (p>0,05)] auf die Mikrokernrate zeigt.

Tab.14: Zusammenhang zwischen Alkohol-/Zigarettenkonsum (Packungsjahre) und Mikrokernrate bei Kontrollpersonen, Tumor- und Leukoplakiepatienten

Gruppe	Noxe	Signifikanz p	Korrelationskoeffizient r
Kontrollpersonen, Tumor- und Leukoplakiepatienten	Alkohol pro Tag	0,673	-0,030
	Packungsjahre	<0,0001	0,531

Die Abhängigkeit der Mikrokernrate pro Zelle vom Tabak- und Alkoholkonsum (unterteilt in Nonabuser, mittlere und hohe Belastung) zeigen die folgenden Darstellungen (Abb.10 und Tab. 15).

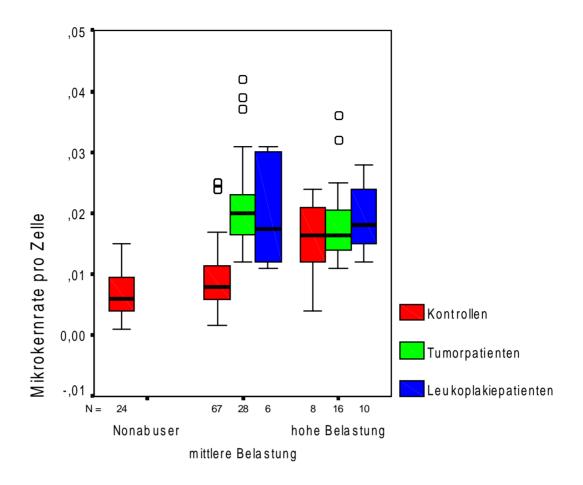


Abb. 10: Zusammenhang zwischen Mikrokernrate und Tabak-/Alkoholexposition unterteilt in Nonabuser, mittlere Belastung und hohe Belastung

Tab. 15: Mittelwerte der Mikrokernraten von Kontrollpersonen, Tumor- und Leukoplakiepatienten in Abhängigkeit vom Alkohol- und Tabakkonsum (Packungsjahre)

	Probandenstatus	Mittelwert	Standardfehler
Nonabuser	Kontrollgruppe	0,0068	0,001
mittlere Belastung	Kontrollgruppe	0,0093	0,001
	Tumorpatienten	0,0215	0,001
	Leukoplakiepatienten	0,0199	0,002
hohe Belastung	Kontrollgruppe	0,0159	0,002
	Tumorpatienten	0,0186	0,001
	Leukoplakiepatienten	0,0192	0,002

Die Gruppe mit hoher Belastung weist eine Raucheranamnese von mehr als 25 Packungsjahren und einen höheren Alkoholkonsum als 25g/d auf. Die Gruppe mit mittlerer Belastung erfüllt die Kriterien Nonabuse (0 Packungsjahre und 0 Gramm Alkohol pro Tag) und hohe Belastung nicht.

Im Diagramm zeigt sich , daß die Mikrokernraten von Tumor- und Leukoplakiepatienten auf einem weitaus höheren Niveau liegen, als die der Nonabuser der Kontrollgruppe. Dies trifft auch bei mittlerer Belastung mit Tabak und Alkohol für die Tumor- und Leukoplakiepatienten gegenüber den Kontrollpersonen zu. Die Mikrokernrate der Kontrollgruppe gleicht sich aber bei zunehmend hoher Belastung mit Alkohol und Tabak der der Patienten an. Bei genauerer Betrachtung der 8 Kontrollpersonen mit hoher Belastung zeigt sich, daß 6 dieser Kontrollpersonen den Minimalwert der Patienten von 0,011 Mikrokernen pro Zelle überschreiten. Nur 2 Kontrollpersonen überschreiten den Median der Mikrokernrate der Tumorpatienten von 0,0195 Mikrokernen pro Zelle, so daß diese als Hochrisikopatienten gewertet werden müssen.

Innerhalb der Kontrollgruppe ist ein signifikanter Anstieg der Mikrokernrate zwischen mittlerer und hoher Belastung sowie Nonabuse und hoher Belastung mit Alkohol und Tabak zu beobachten (Tab.16).

Tab.16:Statistische Bewertung der Unterschiede zwischen den mittleren Mikrokernraten in Abhängigkeit der Tabak- und Alkoholexposition innerhalb der Kontrollgruppe

	Nonabuse	mittlere Belastung	hohe Belastung
Nonabuse mittlere Belastung hohe Belastung	p = 0.108 p < 0.001	p = 0.108 p = 0.002	p < 0.001 p = 0.002

Für die Tumor- und Leukoplakiepatienten läßt sich kein Anstieg der Mikrokernrate im Mittel mit zunehmender Tabak-Alkoholexposition nachweisen. Hier liegen zwar die Mikrokernraten bei mittlerer Belastung auf einem weitaus höheren Level als die der Kontrollgruppe, bei hoher Belastung zeigt sich jedoch ein Abfall der Mikrokernrate von Tumor- und Leukoplakiepatienten im Vergleich zur mittleren Belastung (Abb.10). Dieser Abfall der Mikrokernrate widerspricht den Ergebnissen der linearen Regressionsanalyse für den Tabakkonsum insgesamt (s.o.), und ist am ehesten auf ungenaue Angaben von Tumor- und Leukoplakiepatienten als Recall Bias Fehler zurückzuführen.

Vergleicht man die Gruppen in Hinsicht der Belastung untereinander, also unabhängig der Unterteilung des Probandenstatus (Kontrollperson / Patient), so zeigt sich eine signifikante Erhöhung der Mikrokernrate mit mittlerer Belastung gegenüber Nonabuse und eine wiederum signifikant höhere Mikrokernrate im Mittel bei hoher Belastung gegenüber mittlerer Belastung (Tab. 17).

Tab.17: Statistische Bewertung der Unterschiede zwischen den mittleren Mikrokernraten in Abhängigkeit der Tabak- und Alkoholbelastung unabhängig vom Probandenstatus

	Nonabuse	mittlere Belastung	hohe Belastung
Nonabuse mittlere Belastung	p<0,001	p<0,001	p<0,001 p<0,001
hohe Belastung	p<0,001	p<0,001	1 /

4.6. Zusammenhang zwischen verschiedenen exogenen Noxen und Mikrokernrate

Die Auswertung erfolgte ebenfalls mittels multipler Regressionsrechnung, einerseits unter Ausklammerung des täglichen Zigarettenkonsums (Tab. 18), andererseits unter Einbeziehung des täglichen Zigarettenkonsums (Tab. 19). Im Ergebnis zeigt sich wiederum eine hoch signifikante Abhängigkeit der Mikrokernrate vom täglichen Zigarettenkonsum mit positiver Korrelation $[r>0,5 \ (p<0,0001)]$ (Tab. 18). Unter Einbeziehung der Tabakexposition (Tab. 19) ergibt sich eine signifikante Abhängigkeit der Mikrokernrate von der Lösungsmittelexposition $[r=0,171\ (p<0,05)]$ mit schwach positiver Korrelation, die in Tab. 18 nicht nachweisbar ist (p>0,05). Alle anderen exogenen Noxen zeigen in beiden Untersuchungsmodellen keine signifikante Einflußnahme auf die Mikrokernrate (p>0,05).

Tab.18: Zusammenhang zwischen den weiteren exogenen Noxen und der Mikrokernrate bei Kontrollpersonen, Tumor- und Leukoplakiepatienten unter Ausklammerung des Tabakkonsums

Noxe	Korrelationskoeefizient r	Signifikanz p
Lösungsmittel	0,138	0,098
Asbest	0,048	0,564
Benzin	0.110	0,189
radioaktive Strahlung	0,012	0,880
Stäube allgemein	-0,013	0,874
Auspuffgase	0,003	0,973
Schwermetalle	0,063	0,459
Pestizide	0,063	0,446
Kunststoffe	-0,075	0,372

Tab.19: Zusammenhang zwischen den weiteren exogenen Noxen und der Mikrokernrate bei Kontrollpersonen, Tumor- und Leukoplakiepatienten unter Einbeziehung des Tabakkonsums als Packungsjahre

Noxe	Korrelationskoeffizient r	Signifikanz p
Lösungsmittel	0,171	0,018
Asbest	0,059	0,405
Benzin	-0,048	0,513
radioaktive Strahlung	0,046	0,509
Stäube allgemein	-0,016	0,822
Auspuffgase	0,057	0,420
Schwermetalle	0,044	0,951
Pestizide	-0,029	0,682
Kunststoffe	-0,025	0,726
Packungsjahre	0,532	< 0,0001

4.7. Ermittlung von Risikofaktoren der Tumorentstehung mit Hilfe der logistischen Regression

Um die Frage zu klären, ob ein erhöhtes Risiko der Karzinomentwicklung im oberen Aerodigestivtrakt in Abhängigkeit der Mikrokernrate besteht, ist es notwendig, einen Cut-Point zu bestimmen. Dieser wurde bei 19,5 MK auf 1000 Schleimhautzellen festgelegt. Dieser Wert entspricht dem Median der Mikrokernrate auf 1000 Zellen innerhalb der Tumorpatienten. Die Berechnung erfolgte mit Hilfe von SPSS unter Ausklammerung der Leukoplakiepatienten. Das geschätzte relative Risiko einer malignen Entartung unter Berücksichtigung der Mikrokernrate (Tabakkonsum und Lösungsmittelexposition wurden nicht beachtet) steigt bei einer Mikrokernrate, die 19,5 pro 1000 Zellen überschreitet auf das 15,5-fache an (Tab. 20).

Unter Beachtung aller erfaßten, auf die Mikrokernrate Einfluß nehmenden exogenen Noxen, wie Tabakkonsum (in die Berechnung eingegangen als Packungsjahre) und Lösungsmittelexposition, ist das Risiko (geschätzt durch Odds Ratio) einer malignen Entartung um das **7,92-fache** erhöht (Tab.21). Als wesentlichste Einflußgröße erwies sich bei der Berechnung des relativen Risikos einer Karzinomenstehung der Tabakkonsum. Unter alleiniger Berücksichtigung des Rauchverhaltens, eingegangen als Packungsjahre, bleibt das relative Risiko (geschätzt durch OR) einer malignen Entartung für Probanden mit einer Mikrokernzahl von mehr als 19,5 Mikrokernen pro 1000 Mukosazellen fast konstant (Tab. 22; **RR** = **8,04**).

Tab.20: Relatives Risiko (geschätzt durch OR) einer malignen Entartung bei Überschreiten der Mikrokernrate von 19,5 unter alleinigem Einfluß der Mikrokernrate (Tabakkonsum und Lösungsmittelexposition wurden nicht beachtet) n=143

	Signifikanz	Odds Ratio	95%-
	p	(relatives Risiko)	Konfidenzintervall
Mikrokernrate > 19,5 gegen < 19,5 MK pro 1000 Zellen	<0,001	15,50	[5,62- 42,78]

Tab.21: Relatives Risiko (geschätzt durch OR) für einen gesunden Probanden an einem Kopf- Hals- Karzinom zu erkranken bei Überschreiten der Mikrokernzahl von 19,5 pro 1000 Mukosa-Zellen (unter Berücksichtigung der auf die Mikrokernzahl Einfluß nehmenden Noxen Lösungsmittelexposition und Packungsjahre) n=143

	Signifikanz	Odds Ratio	95%-
	p	(relatives Risiko)	Konfidenzintervall
Mikrokernrate > 19,5 gegen < 19,5 MK pro 1000 Zellen	< 0,001	7,92	[2,47 - 25,35]

Tab. 22: Relatives Risiko (geschätzt durch OR) für einen gesunden Probanden an einem Kopf- Hals- Karzinom zu erkranken, bei einer Mikrokernzahl über 19,5 pro 1000 Mukosa-Zellen (unter alleiniger Berücksichtigung des Tabakkonsums als Packungsjahre) n=143

	Signifikanz	Odds Ratio (relatives	95%-
	p	Risiko)	Konfidenzintervall
Mikrokernrate > 19,5 gegen < 19,5 MK pro 1000 Zellen	< 0,001	8,04	[2,51 - 25,81]

4.8. Vergleich zwischen den Mikrokernraten der linken und der rechten Wangenninnenseite

Ausgehend von der Voraussetzung einer Gesamtschädigung der Schleimhaut des oberen Aerodigestivtraktes, wurden Schleimhautabstriche von beiden Wangeninnenseiten der Probanden bzw. Patienten entnommen. Dies erfolgte unabhängig von der Lokalisation präkanzeröser bzw. maligner Veränderungen der Mukosa, jedoch makroskopisch mindestens 2 cm vom malignen Prozeß entfernt. Folgende Ergebnisse ergaben sich aus dem Vergleich der Mikrokernzahl von linker und rechter Wangeninnenseite (Tab. 23):

Tab. 23: Vergleich der Mikrokernzahlen beider Wangeninnenseiten pro 1000 Zellen

	Mittelwert	Standardabwei- chung	Differenz	Signifikanz p
Mikrokernrate links	6,58	2,75	0,176	0,422
Mikrokernrate rechts	6,76	2,73	0,170	0,422

Die Differenz der mittleren Mikrokernrate zwischen linker und rechter Wangeninnenseite liegt bei 0,176 Mikrokernen pro 1000 gezählter Mundschleimhautzellen. Der Unterschied der Mikrokernrate links gegen rechts ist statistisch nicht signifikant (p > 0,05), die Standardabweichung links gegen rechts beträgt im Mittel 2,75 Mikrokerne.

5. Diskussion

5.1. Vor- und Nachteile des Mikrokern- Testes an Abstrichen der Mundschleimhaut

Vorteile des Mikrokerntests sind in der kostengünstigen und einfachen Durchführung zu sehen. Es steht eine fast unbegrenzte Zahl an auswertbaren Zellen zur Verfügung. Das Untersuchungsmaterial ist leicht und ohne Beeinträchtigung des Probanden bzw. Patienten zu gewinnen. Des Weiteren handelt es sich um einen echten in vivo Test. Nach einiger Übung ist die Auswertung der gefärbten Mundschleimhautabstriche, unserer Meinung nach, relativ einfach zu handhaben.

Als nachteilig erwies sich die große Zahl auszuwertender Zellen. Bei den Probanden ohne chronische Tabakexposition wurden beispielsweise sehr niedrige Mikrokernzahlen (minimal 1 Mikrokern pro 1000 Mukosazellen) bestimmt, so daß mindestens 1000 Zellen pro Proband analysiert werden sollten. Die Zahl auszuwertender Mukosa-Zellen wird in der Literatur sehr unterschiedlich angegeben. Sie schwankt zwischen 500 Mukosa-Zellen (Stich et al. 1984, 1988) und 3000 Zellen (Sarto et al. 1987) pro Proband.

Die Anzahl von 1000 auszuwertenden Mundschleimhautzellen pro Proband, die wir (mit Ausnahme von 11 Personen) wählten und für sinnvoll erachten, deckt sich mit der am häufigsten in der Literatur angegebenen Menge der zu analysierenden Zellen (Nair et al. 1991, Lippmann et al. 1991, Ghose et al 1995, Duffaud et al. 1997). Auch Belien folgt in seiner Forderung nach Vereinheitlichung des Mikrokerntestes dieser Anzahl auszuzählender Zellen, verweist aber dennoch auf enorme Differenzen der Mikrokernzahl bei Auszählung von beispielsweise 10.000 Schleimhautzellen gegenüber 1.000 Zellen und schlußfolgerte daraus die Notwendigkeit eines automatisierten Screenings (Belien et al. 1995).

Bei 11 Probanden konnten auf Grund des Mangels an Zellen auf den Objektträgern weniger als 1.000 Zellen ausgezählt werden, aber mehr als 500 Zellen, so daß diese in die Studie mit eingingen (in Anlehnung an Stich et al. 1984). Stich et al zählten beispielsweise die Zellen mit Mikrokernen in Prozent (minimal 500 intakte Mukosazellen) aus und kamen im Vergleich zu unseren Ergebnissen auf einen ähnlichen Wert von Mikrokernbildungen (Tab. 24):

Tab. 24: Vergleich der Mikrokernraten mit den Ergebnissen von Stich et al. 1984:

Gruppe	Mikrokerne in % (Stich et al)	Mikrokerne pro Zelle (eigene Untersuchung)	Mikrokerne in % (eigene Untersuchung)
Nonabuser	0,5	0,0068	0,68
Rauchen und Alkoholgenuß	2,29 (bei 40-60 Zigaretten pro Tag *)	0,0159 (bei mehr als 25 Packungsjahren und mehr als 25 g Alkohol pro Tag)	1,59 (bei mehr als 25 Packungsjahren und mehr als 25 g Alkohol pro Tag)

^{*}Keine Angaben zur Menge des täglichen Alkolkonsums

Die Differenzen zu den in Tab. 24 angegebenen Mikrokernfrequenzen können unterschiedliche Gründe haben. Stich et al. bestimmten die Mikrokernraten bei Personen auf den Phillippinen. Diese wurden ebenfalls nach entsprechendem Alters-Geschlechtsprofil der exponierten Personen bzw. Hochrisikopatienten ausgewählt. Allerdings wurden nur die kanzerogenen Expositionen bei den Non-Abusern ausgeklammert, die für die Hochrisikopatienten in Frage kamen (Betelnuß, Tabak, Alkohol, Bilharziose, Khaini- ein Leim/Tabak Gemisch). Alle anderen möglichen Expositionen von Umweltgiften wurden nicht berücksichtigt. Bei der Gruppe der Tabakund Alkoholkonsumenten wurden keine Angaben zur Menge des täglichen Alkoholkonsums gemacht. Beim Vergleich der Raucher und Alkoholkonsumenten ist ein wesentlich höherer Wert der Mikrokernraten bei Stich et al nachweisbar, der durch die weit höhere Anzahl täglich gerauchter Zigaretten erklärbar ist. Für den Zigaretten-Tag zeigt sich ein positive Korrelation zwischen täglichem pro Zigarettenkonsum und Mikrokernrate, so daß bei 40 gerauchten Zigaretten ebenfalls ein entsprechend höherer Wert an Mikrokernen zu erwarten ist, der um die 20 Mikrokerne pro 1000 Zellen, bzw. um die 2% liegt (laut Regressionsgerade in Abb.6). In unserer Studie legten wir für den Tabakkonsum die Variable Packungsjahre fest, um den lebenslangen Tabakkonsum bei der Auswertung in Verbindung mit dem Alkoholkonsum zu berücksichtigen (Tab.16).

Als nachteilig kann sich die subjektive Betrachtungsweise bei der Bestimmung der Mikrokerne im Hellfeld des Mikroskopes erweisen, die durch Artefaktbildung noch zusätzlich erschwert werden kann. Eine gewisse Fehlerquote ist hierbei nicht sicher ausschließbar. Bei Probanden, die zu Zahnfleischbluten neigen, finden sich beispielsweise Chromatinreste segmentkerniger Granulozyten. Trotz vorheriger Mundspülung zeigen sich in den Abstrichen noch Kernreste dieser Zellen. Liegen diese Reste auf dem Zytoplasma von Mundschleimhautzellen, können sie mit Mikrokernen verwechselt werden. Um dies auszuschließen, sollen nur Mikrokerne in die Bewertung gelangen, die einen glatten Rand und eine runde Form aufweisen (Sarto et al. 1987).

In unserer Untersuchung wurde eine Qualitätssicherung durch stichprobenartige

Kontrolle eines zweiten erfahrenen Untersuchers gewährleistet.

Die o.g. Fehlerquellen könnten durch ein maschinelles Auszählungsverfahren der Mikrokerne relativ sicher ausgeschlossen werden. Dabei kann die Auswertung einer deutlich höheren Zahl von Schleimhautzellen unter Verringerung der Fehlerquote durch Artefaktbildung in wesentlich kürzerer Zeit erfolgen. Entsprechende Entwicklungen sind im Gange (Szimai et al. 1993).

In Hinblick auf die Seitendifferenz der Mikrokernraten ist kein signifikanter Unterschied zu beobachten. Die Standardabweichung beträgt durchschnittlich 2,75 Mikrokerne. Dies unterstützt die These einer Gesamtschädigung der Schleimhaut des oberen Aerodigestivtraktes im Sinne einer Feldkanzerisierung, die unabhängig der Lokalisation makroskopisch sichtbarer kanzeröser bzw. präkanzeröser Veränderungen vorliegt. So konnten beispielsweise Lippmann et al erhöhte Mikrokernzahlen der Schleimhaut auch im Bereich der Carina tracheae bei Rauchern feststellen (Lippmann et al. 1990).

Aufgrund unserer Ergebnisse zur Seitendifferenz von Mikrokernbildungen folgern wir, daß der zytologische Abstrich einer Wangeninnenseite genügt, um ein aussagefähiges Ergebnis für das Risikoscreening zu erhalten. Die Anzahl von mindestens 1.000 auszuzählenden Zellen sollte beibehalten werden.

5.2.Beurteilung der Untersuchungsergebnisse

5.2.1. Beurteilung der Untersuchungsergebnisse zum Tabakkonsum

Die Ergebnisse zeigen eine signifikante Erhöhung der Mikrokernrate im Mittel bei Tumorpatienten und Abusern gegenüber den Nonabusern. Es zeigt sich eine Abhängigkeit der Mikrokernrate vom Tabakkonsum mit hoch signifikanter positiver Korrelation [r>0,5 (p<0,0001)]. Dies trifft für den Tabakkonsum als Zigaretten pro Tag und Packungsjahre in den verschiedenen Untersuchungsmodellen zu.

Das relative Risiko an einem Kopf- Hals- Karzinom zu erkranken ist bei den gesunden Probanden mit einer MK-Rate von über 19,5 Mikrokernen pro 1000 Schleimhautzellen unter Berücksichtigung des Rauchverhaltens um das 8,04-fache erhöht. Vergleichbare Untersuchungen zur Ermittlung des relativen Risikos auf Grundlage der Ergebnisse des Mikrokerntests, unter Berücksichtigung des Tabakkonsums, an einem Karzinom des oberen Aerodigestivtraktes zu erkranken, liegen in der internationalen Literatur, nach eingehenden Recherchen, bis dato nicht vor.

Maier et al. ermittelten anhand epidemiologischer Studien das relative Risiko für Raucher an einem Kopf-Hals-Karzinom zu erkranken. Sie legten nach statistischer Bereinigung des Alkoholkonsums einen Risikowert von 1,0 bei einem Tabakkonsum von weniger als 5 Packungsjahren fest. Das Risiko steigt bei 5-50 Packungsjahren auf das 5,6-fache an und erreicht einen Spitzenwert von einem 9,1-fach höheren Risiko ein Kopf-Hals-Karzinom zu entwickeln, bei mehr als 50 Packungsjahren (Maier et al. 1991).

Da anamnestisch alle Tumorpatienten bis zum Zeitpunkt der Diagnosestellung Raucher waren (mit einem durchschnittlichen Zigarettenkonsum von 24,3 pro Tag) lag die Vermutung des Zusammenhanges zwischen Tumorentstehung und chronischem Tabakkonsum nahe. Mit Hilfe des Mikrokerntests und der statistischen Datenanalyse konnte die epidemiologisch statistische Beobachtung des Zusammenhanges von

Tabakkonsum und Karzinomentstehung, sowie die mehr als 40 Jahre alte Beobachtung der Feldkanzerisierung auf zellulärer Ebene bestätigt werden.

Die Ergebnisse dieser Studie bekräftigen die epidemiologischen Untersuchungsergebnisse des Zusammenhanges von Rauchverhalten und Krebsrisiko im Kopf- Halsbereich der Arbeiten von Maier et al (Maier et al. 1991, 1990). Die Mikrokernzahl steigt mit zunehmendem Tabakkonsum an. Innerhalb der Kontrollgruppe (Tab.12) zeigt sich eine Verdoppelung der Mikrokernrate bei den Rauchern mit mehr als 25 Packungsjahren (0,0167 MK pro Zelle), gegenüber den Nichtrauchern bzw. einem geringeren Tabakkonsum als 5 Packungsjahre (0,007 MK pro Zelle).

Die Untersuchungen von Duffaud et al. (1997) zeigen ebenfalls eine erhöhte Mikrokernrate bei den Tumorpatienten gegenüber gesunden Personen. Allerdings basiert diese Studie auf dem Nachweis von Mikrokernen in Lymphozyten des peripheren Blutes. Als wesentliche Einflußgröße konnten Duffaud et al ebenfalls den chronischen Tabakkonsum eruieren. Zu dem gleichen Ergebnis einer signifikant höheren Mikrokernrate in den Lymphocyten bei Rauchern mit Lungenkrebs gegenüber gesunden Probanden, kamen Cheng et al. (1996).

Eine erhöhte Mikrokernrate in cytologischen Mundschleimhautabstrichen konnten verschiedene Autoren bei Nikotinabusern gegenüber Nonabusern feststellen (Ghose et al 1995, Tolbert et al 1991, Nair et al 1991, Roberts et al 1997, Stich et al 1992, Kayal et al 1993). Lippmann stellte 1990 (Lippman et al 1990) eine erhöhte Mikrokernrate an Abstrichen der tracheobronchialen Schleimhaut bei Rauchern fest, konnte aber keinen Unterschied zwischen der niedrigeren Mikrokernzahl von Nichtrauchern und früheren Rauchern finden.

Stich et al konnten an leukoplakisch veränderten Mundschleimhautzellen von Betelnuß-Kauern mit Hilfe oraler Schleimhautsbstriche eine erhöhte MK-Zahl feststellen. Weiterhin zeigte er, daß nach Behandlung mit Betacarotin und Vitamin A eine Remission der Mikrokernrate, sowie der Leukoplakien eintrat (Stich et al. 1988). Roberts et al fanden eine erhöhte Frequenz von MK bei Schnupftabak-Abusern an oralen Schleimhautabstrichen (Roberts et al. 1997).

Die in der Literatur angegebene Menge Zigaretten, ab der ein Anstieg der Mikrokernrate zu beobachten ist, weist enorme Schwankungen auf. Sarto et al fanden 1987 bei Rauchern einen signifikant höheren Anstieg der Mikrokernrate um das nahezu Doppelte gegenüber Nichtrauchern an deren Schleimhautabstrichen. Er beobachtete eine wesentliche Zunahme der Mikrokernrate bei einen Konsum von ca. 20 Zigaretten pro Tag. Stich (Stich et al. 1983) beschrieb einen ungefähr 4-fachen Anstieg der Mikrokernrate bei Konsumenten von Alkohol und 1-2 Schachteln Zigaretten. Einen annährend 8-fachen Anstieg der Mikrokernrate konnte er bei einen Konsum von mehr als drei Schachteln Zigaretten pro Tag nachweisen. Allerdings war kein Anstieg der Mikrokernzahl bei Probanden mit alleinigen Alkohol- oder Zigarettenkonsum zu beobachten. Er verwies auf den synergistischen Effekt von Alkohol- und Nikotinabusus.

Dies steht im Gegensatz zu den Ergebnissen unserer Studie, bei der ein synergistischer Effekt zwischen Nikotin-/Alkoholabusus und Mikrokernrate nicht eindeutig herausgestellt werden konnte. Allerdings ergab sich ein linearer Zusammenhang zwischen

alleinigen Zigarettenkonsum und Mikrokernrate mit einem nahezu stetigem Anstieg der Mikrokernzahl in Abhängigkeit vom zunehmenden Tabakkonsum. Eine sprunghafte Erhöhung der Mikrokernzahl ab einer bestimmten Menge konsumierter Zigaretten konnte ebenfalls nicht festgestellt werden.

Wu et al. (1998) untersuchten die Wirkung des im Zigarettenrauch enthaltenen kanzerogenen Benzo(a)pyrens auf die Anzahl von Chromatid-Brüchen in Lymphocyten bei Rauchern und Nichtrauchern. In einer Fall-Kontroll-Studie zeigten sich nach Behandlung der Lymphozyten mit Benzo(a)pyren in vitro signifikant mehr Strangbrüche bei den Fällen, als bei den Kontrollen. Die Gruppe mit der höchsten Anzahl von Chromatidbrüchen hat ein annährend 20-fach erhöhtes Krebsrisiko gegenüber der Gruppe mit der niedrigsten Anzahl von Chromatidbrüchen. Der Zusammenhang zwischen Benzo(a)pyren- Sensibilität und Krebsrisiko war stärker bei ehemaligen Rauchern als bei momentanen Rauchern und ebenfalls stärker bei jungen Patienten als bei älteren Patienten. Die Mutagensensibilität scheint ein wesentlicher individueller, genetisch determinierter Faktor bei der Entstehung von Karzinomen zu sein (Hart 1997).

5.2.2.Mutagensensibilität und Suszeptibilität

Ein wesentlicher Grund für das 8,04-fach erhöhte Risiko der Raucher mit einer Mikrokernzahl von mehr als 19,5 Mikronuclei pro 1000 Schleimhautzellen an einem Kopf-Hals-Karzinom zu erkranken, könnte neben der gentoxischen Wirkung von Tabakkomponenten in der unterschiedlichen Suszeptibilität der verschiedenen Individuen Unter Suszeptibilität versteht man die Tumorempfänglichkeit", welche u.a. auf der Fähigkeit beruht, kanzerogene Noxen oder Noxengemische zu eliminieren bzw. aufgetretene DNA- Schädigungen zu reparieren (Schantz et al. 1997). Die kanzerogene Wirkung von Noxen und Noxengemischen ist also zusätzlich auch von verschiedenen individuellen und endogenen Faktoren (hereditären Faktoren) abhängig (Johnson et al. 1996, Ishibe et al. 1997). Menschen mit ähnlichem Lebensstil können einerseits an Krebs erkranken, andere erreichen ohne an einem bösartigen Tumor zu erkranken ein hohes Lebensalter. Die genetische Prädisposition ist also ein wesentlicher Risikofaktor für die Entwicklung von Plattenepithelkarzinomen im Kopf-Hals-Bereich (Copper et al. 1995).

Eine 12-tägige Untersuchung von Clausmeier et al. zur Auswirkung von Zigarettenrauch auf die Mikrokernrate von Mundschleimhautzellen zeigte im Nichtraucherversuch einen Anstieg der Mikrokernrate ab dem 3. Tag nach täglichem Konsum von 1-3 Zigaretten über 5 Tage. Ab dem 6. Tag nahm die Mikrokernzahl wieder ab. Zur Erklärung wird auf die Umsatzrate des Gewebes verwiesen, in dem die Zellen aus der Basalschicht in einem Zeitraum von 4-6 Tagen an die Oberfläche gelangen. Frühestens am 4. Tag nach der letzten gerauchten Zigarette, wäre ein Rückgang der Mikrokernzahl zu erwarten. Allerdings zeigte sich schon am 6. Untersuchungstag, also 1 Tag nach der letzten gerauchten Zigarette, ein Abfall der Mikrokernzahl. Als mögliche Ursache für den früheren Abfall der Mikrokernzahl wird die Aktivierung des DNA- Reparatursystems bei den Nichtrauchern in Betracht gezogen (Clausmeier 1991).

In den Boxplottdarstellungen (Abb.9 und 10) zeigt sich eine signifikante Erhöhung der Mikrokernraten im Mittel bei den Patienten gegenüber der Kontrollgruppe. Insbesondere trifft dies bei mittlerer Belastung mit Tabak einerseits und Alkohol / Tabak andererseits zu. Diese signifikant erhöhten Mikrokernraten der Patienten könnten durch einen gestörten DNA-Reparaturmechanismus und Enzympolymorphismen zu erklären sein. Gleichzeitig muß dies auch für die Kontrollpersonen zutreffen, deren mittlere Mikrokernrate sich bei hoher Belastung derjenigen der Patienten nähert. Liegen die Mikrokernraten dieser Personen innerhalb der Standardabweichung der Mikrokernfrequenzen von Tumor- und Leukoplakiepatienten, müssen sie als Hochrisikopersonen betrachtet werden.

Spitz et al. (1997) untersuchten in einer Studie die Korrelation der Mutationssensibilität mit Rauchen, Alkoholkonsum und Nahrungsmittel-Antioxidantien bei Patienten mit Kopf-Hals-Karzinomen. Es zeigten sich keine signifikanten Unterschiede in der Verteilung der Mutationssensibilität bei Geschlecht oder Alkoholkonsum. Es war allerdings eine höhere Sensibilität gegenüber Mutagenen bei Patienten mit Kopf- Hals-Karzinomen die niemals rauchten zu beobachten, als bei Patienten mit Nikotinabusus. Sie kamen zu dem Ergebnis, daß die Mutagensensibilität ein unabhängiger Faktor bei der Krebsentwicklung ist, also unabhängig von bekannten exogenen Risikofaktoren bei der Tumorentwicklung eine Rolle spielt.

Bei Betrachtung der Ergebnisse zum Risiko einer malignen Entartung im Bereich des oberen Aerodigestivtraktes ergibt sich ein 15,5-fach erhöhtes Risiko bei einer Mikrokernrate von über 19,5 pro 1000 Schleimhautzellen. Dieser Wert bezieht sich auf die Mikrokerne an sich, ohne die Einflußgrößen differenziert zu betrachten. Als wichtigste Einflußgröße stellte sich der Tabakkonsum (Packungsjahre) heraus. Unter Berücksichtigung des Rauchens ergibt sich ein 8,04-faches Risiko ein Kopf-Hals-Karzinom zu entwickeln, wenn der Cut-Point von 19,5 Mikrokernen pro 1000 Zellen überschritten wird. Unter zusätzlicher Betrachtung der Lösungsmittelexposition beträgt das Risiko einer malignen Entartung den ungefähr gleichen Wert von 7,92. D.h., daß eine hier nicht bestimmbare Größe zum Entartungsrisiko beiträgt, wenn man die Differenz zum 15,5-fach erhöhten Risiko betrachtet. Diese Einflußgröße könnte als Mutationssensibilität betrachtet werden.

Die Mutationssensibilität ist als wichtiger Biomarker der Suszeptibilität gegenüber der Karzinomentwicklung zu betrachten (Cloos et al. 1996). Diese genetischen Faktoren spielen eine wesentliche Rolle bei der Modifizierung der Karzinogen-Aktivität bzw. der Resistenz gegenüber Kanzerogenen (Foulkers et al. 1996). Spezifische Tests zur Erforschung der Suszeptibilität von Individuen gegenüber exogenen Noxen helfen bei der Früherkennung von mutationssensiblen Personen und bei der Entwicklung wirksamer Präventivmaßnahmen bzw. früh einzusetzenden Therapiemaßnahmen, insbesondere der Gentherapie (Schantz et al 1995, Spitz et al 1995). Der Nachweis von Mikrokernen als Biomarker in dieser und oben zitierten Untersuchungen, zeigt das individuelle Tumorentwicklungsrisiko, abhängig von verschiedenen Suszeptibilitätsfaktoren, an. Ein möglicher Einsatz des Mikrokerntests als Biomarker zur Erkennung von Hochrisikopatienten erscheint somit neben anderen Biomarkern möglich.

5.2.3. Beurteilung der Untersuchungsergebnisse der weiteren untersuchten Kanzerogene

Neben der Wirkung des chronischen Tabakkonsums auf die Mundschleimhaut wurde der Effekt weiterer exogener Noxen auf die buccale Mikrokernrate untersucht. Lediglich bei der Exposition von organischen Lösungsmitteln zeigte sich eine signifikante, schwach positive Korrelation [r=0,161; (p<0,05)] innerhalb unserer Untersuchungsmodelle. Bei allen anderen aufgeführten Noxen war kein signifikanter Zusammenhang zwischen Exposition und Mikrokernrate nachweisbar.

In verschiedenen Studien zur Untersuchung der Kanzerogenität von Stoffen kamen die Autoren zu unterschiedlichen Ergebnissen. Insbesondere zur Exposition radioaktiver Strahlung und deren Einfluß auf die Mikrokernrate der buccalen Schleimhaut konnten eindeutige Aussagen getroffen werden. In unserer Studie gingen 2 Kontrollpersonen und 3 Patienten mit Kopf-Hals-Karzinomen ein, die angaben, radioaktiver Strahlung ausgesetzt gewesen zu sein. Bei diesen Personen fand sich kein Zusammenhang zwischen Exposition und Mikrokernrate. Ursachen dafür sind in erster Linie in den ungenügenden Angaben dieser Personen zu sehen, die keine genauen Daten zum Zeitraum oder zur Dosis der Exposition machen konnten. Unter den 5 exponierten Personen fanden sich allerdings 2 Tumorpatienten, die in den 50-er Jahren im Wismut-Bergbau tätig waren. Auch bei ihnen fand sich kein signifikanter Unterschied der Mikrokernraten (0,016 bzw. 0,012 Mikrokerne pro Zelle) gegenüber den anderen Tumorpatienten ohne radiogene Exposition.

In der Literatur finden sich Studien, die einen linearen Anstieg der Mikrokernrate in Abhängigkeit der Strahlendosis (γ-Strahlen) bei Tumorpatienten (Kopf-Hals-Tumoren) nach Radiatio beobachteten (Sarto et al. 1987). Allerdings wurden nur 2 Patienten in dieser Studie unter Radiatio untersucht.

In einer weiteren Studie untersuchten Moore et al den Einfluß von Photonenbestrahlung vor, während und nach Radiatio von Kopf und Hals. Sie beobachteten einen 16,6-fachen Anstieg der buccalen Mikrokernrate und einen Abfall der Mikrokernfrequenz auf den Ausgangswert vor der Therapie nach 2 Wochen (Moore et al. 1996). Loomis et al untersuchten die Mikrokernfrequenz des Sputums von Arbeitern einer Uran-Mine, konnten allerdings keinen Unterschied der Mikrokernrate im Vergleich zu nichtexponierten Personen herausstellen (Loomis et al. 1992).

Es zeigt sich, daß weitere Untersuchungen in Hinsicht auf Radioaktivität und Mikrokernrate notwendig sind, um reproduzierbare Ergebnisse zu erhalten. Die in unserer Studie vorliegenden Ergebnisse zur Strahlenexposition und Mikrokernrate ist auf Grund der oben genannten Kritikpunkte nur bedingt aussagefähig.

Auch zur Untersuchung der Pestizid-Exposition und deren Einflußnahme auf die Mikrokernrate gelten die o.g. Kritikpunkte. In unserer Studie konnte kein Zusammmenhang zwischen beiden Variablen herausgestellt werden. Bolognesi et al stellten eine signifikant höhere MK-Rate in den Lymphozyten italienischer Bauern mit Pestizid-Exposition gegenüber der Kontrollgruppe fest (Bolognesi et al. 1993).

Zu den Ergebnissen unserer Studie bezüglich der Exposition von Schwermetallen sind ebenfalls o.g. Kritikpunke anzuführen. Ungenaue Angaben der Probanden zur Dauer und

Dosis der Exposition lassen keine allgemeingültigen Aussagen zum Zusammenhang von Mikrokernrate und Schwermetallexposition zu. In der Literatur finden sich allerdings verschiedene Arbeiten in Hinsicht des Zusammenhangs von Schwermetallexposition und Mikrokernrate:

Bei Untersuchungen chilenischer, taiwanesischer und mexikanischer Personen, die Arsenkontaminiertes Trinkwasser zu sich nahmen, ergab sich ein signifikanter Anstieg der MK-Rate in den zytologischen Abstrichen der Blasenschleimhaut (Smith et al 1993, Moore et al 1996 und 1997) und Mundschleimhaut (Gonsebatt et al 1997). Die Mikrokernraten in den Mumdschleimhautabstrichen waren bei exponierten Männern höher als bei exponierten Frauen und höher bei Personen mit arsenbedingten Hautläsionen, gegenüber nichtexponierten Personen.

Berces et al. (1993) untersuchten mit Hilfe des Mikrokerntests Schwermetalle in Hinsicht auf deren Kanzerogenität. Sie fanden bei Cadmium-, Selen- und Quecksilberexposition einen signifikanten Anstieg der Mikrokernrate in Lymphozyten des peripheren Blutes.

Eine chinesische Studie untersuchte mit Hilfe des Mikrokerntests chromosomale Schäden bei Patienten mit Lungenkrebs, Arbeitern einer Zinn-Mine und Kontrollpersonen. Es zeigte sich ein signifikanter Unterschied der Mikrokernzahl in den Lymphozyten des peripheren Blutes bei den Tumorpatienten gegenüber der Kontrollgruppe. Ein signifikanter Unterschied der Mikrokernrate bei den Minenarbeitern und Kontrollpersonen konnte nicht festgestellt werden (Hu et al. 1987).

Untersuchungen an finnischen Arbeitern einer Nickelraffinerie, die täglich hohen Nickelkonzentrationen ausgesetzt sind, zeigten in den Abstrichen der Wangenschleimhäute keine erhöhte Mikrokernrate. Allerdings gibt es unter den Nickel-Arbeitern eine erhöhte Inzidenz von nasalen Karzinomen (Kiilunen et al. 1997).

Insgesamt sind in der Literatur Untersuchungen zur Wirkung von Umwelt- und Arbeitsplatzkanzerogenen auf die Mikrokernrate der buccalen Schleimhaut, mit Ausnahme des chronischen Tabakkonsums, relativ rar.

Torres et al untersuchten Mundschleimhautabstiche von Feuerspuckern, die Diesel zu diesem Zweck in ihre Mundhöhle aufnahmen. Er konnte bei diesen Personen, Straßenkünstlern, die unter anderem auf diese Weise ihren Lebensunterhalt verdienen, keine erhöhte Mikrokernrate finden, obwohl Diesel als potentielles Kanzerogen gilt (Torres et al. 1998).

In einer Arbeit zur Auswirkung von Verkehrsabgasen auf die Mikrokernrate von Lymphozyten des peripheren Blutes wurde kein signifikanter Unterschied zwischen den Mikrokernraten von exponierten Arbeitern und nichtexponierten Personen beobachtet (Parry et al. 1997).

In unserer Studie konnte ebenfalls kein Zusammenhang zwischen Mikrokernrate der Mundschleimhaut und Abgasen, Kunststoffen, Benzin oder Staub festgestellt werden.

Eine Untersuchung zur Exposition von Arbeitern in der Farben-Industrie, die entsprechenden Substanzen (z.B. organische Lösungsmittel) chronisch ausgesetzt sind, zeigte einen signifikanten Anstieg der Mikrokernrate in deren Mundschleimhautabstrichen (Diaz et al. 1990). Auch in unserer Studie zeigt sich eine signifikante Einflußnahme der Lösungsmittelexposition auf die Mikrokernraten (p<0,05). Diese Ergebnisse decken sich mit den Arbeiten von Maier et al., die ein erhöhtes relatives

Risiko für Plattenepithelkarzinome des Larynx (RR = 2,3) und der Mundhöhle (RR = 3,6) bei exponierten Personen ermittelten (Maier et al. 1997).

Untersuchungen zur kanzerogenen Wirkung des Formaldehyds, das als Desinfektionsund Konservierungsmittel sowie als Antiseptikum eingesetzt wird, zeigten in den nasalen und buccalen Schleimhautabstrichen von Studenten, die an Leichen wissenschaftlich arbeiteten und Formaldehyd enthaltenden Balsamierungen ausgesetzt waren, einen Anstieg der Mikrokernrate, der auf Chromosomenbrüche zurückzuführen war (Titenko et al. 1996).

Zu ähnlichen Ergebnissen kam eine chinesische Studie (Ying et al. 1997), die nasale und buccale Schleimhautabstriche von Studenten der Anatomie, nach Formaldehydexposition, untersuchte. Es ergab sich nach Exposition ein deutlicher Anstieg der Mikrokernrate in den Schleimhautabstrichen. Laut einer amerikanischen Studie war nach Formaldehyd-Exposition ein 12-facher Anstieg der buccalen Mikrokernrate bei den Studenten der Anatomie zu beobachten (Surunda et al. 1993).

Ballarin et al (Ballarin et al. 1992) fanden eine erhöhte Mikrokernrate in den nasalen Abstrichen bei Arbeitern einer Holzfabrik, die einer chronischen Formaldehydbelastung ausgesetzt waren.

Eine baltische Studie zur Gentoxizität von Formaldehyd zeigte einen 4-5-fachen Anstieg der buccalen Mikrokernzahl nach Exposition (Kitaeva et al. 1996).

Eine finnische Studie untersuchte die Auswirkung von Benzolexposition auf die Mikrokernrate der Mundschleimhaut von estnischen Arbeitern in der Petrochemie. Benzol gilt als kanzerogen wirksamer Aromat (TRK= 5ml/m³). Surrales et al. (1997) konnten allerdings keinerlei Einfluß der Benzolexposition auf die Mikrokernrate feststellen.

In einer japanischen Studie der "Collaborative Study Group for the Micronucleus test" (Shizuyo et al. 1996) wurden die Wirkungen der unterschiedlichsten Kanzerogene auf die Mikrokernbildung untersucht. Über 100 Chemikalien wurden von verschiedenen Arbeitsgruppen getestet und die Karzinogene laut IARC (International Agency for Research Cancer) in drei Gruppen unterteilt: humane Kanzerogene (Gruppe I), wahrscheinliche Kanzerogene (Gruppe 2A) und mögliche Kanzerogene (Gruppe 2B). Es zeigte sich zwischen humanen Kanzerogenen und Mikronucleus-Induktion eine Übereinstimmung von 71,4%, 54,5% und 43,3% für Gruppe I, 2A und 2B. Aus diesen Ergebnissen schlußfolgerte man eine Unterteilung in hoch sensitive und niedrig sensitive Klassen von Chemikalien, die zu einer Mikronucleus-Induktion führen. Zu den hoch Mikronucleus-Induktoren zählen sensitiven laut dieser Studie Alkylantien, Alkylsulfonate, Sulfate, Nitrosoureasen und Hydrazine. Zu den niedrig sensitiven Mikronucleus-Induktoren werden die Nitrosamine, aromatischen Amine, halogenisierte Verbindungen und Steroid-Hormone gerechnet.

Diese Untersuchungen beziehen sich allerdings auf den Nachweis von Mikrokernen im Knochenmark bzw. in Lymphozyten des peripheren Blutes in Versuchstieren.

Es ist insgesamt festzustellen, daß es zu den bisher untersuchten exogenen Noxen und ihren Auswirkungen auf chromosomaler Ebene, insbesondere auf die Mikrokernzahl, widersprüchliche Ergebnisse auch in der internationalen Literatur zu finden sind.

Gründe für das Ausbleiben chromosomaler Effekte von beschriebenen Kanzerogenen auf

die Mucosa der Mundhöhle können unterschiedlichster Natur sein.

Die Ursachen dafür innerhalb unserer Studie sind in erster Linie in der schwer eruierbaren Menge und Dauer der jeweiligen Exposition zu finden, während man dies für Alkohol in Gramm pro Tag und das Rauchen in Zigaretten pro Tag bzw. Packungsjahre relativ genau bestimmen kann.

Bei den weiteren Expositionen waren die Angaben der Patienten und Kontrollpersonen häufig unsicher und nach eigenen Angaben ungenau, da durch Arbeitsplatzwechsel oder Verlust des Arbeitsplatzes keine kontinuierliche Exposition vorlag.

Voraussetzung reproduzierbarer Ergebnisse sind genaue Angaben der zu untersuchenden Personen, von denen der Untersucher und dessen Ergebnisse abhängig sind. Die hier liegende Fehlerquelle hat sicherlich einen relativ hohen Toleranzbereich. Weiterhin können unterschiedliche Vorgehensweisen bei Behandlung, Färbung und Auszählung der Schleimhautabstriche bzw. der Mikrokerne (siehe Material und Methoden) Ursache für Differenzen der in der Literatur angegebenen Ergebnisse sein.

Mitte der 90-er Jahre kam deshalb die Forderung nach einer Standardisierung des MK-Tests auf. Diese soll dem Zweck einer besseren Vergleichbarkeit unterschiedlicher Untersuchungsergebnisse dienen. M. Fenech verwies auf die Notwendigkeit der Schaffung von MK-Basisdaten innerhalb einer Population, in Hinsicht des Abschätzens von spontanen MK-Bildungen in Abwesenheit von exogenen Noxen oder bei vorliegender Schadstoffexposition.

Die Schaffung von MK-Basisdaten hat außerdem zum Ziel, Vergleiche zwischen verschiedenen Populationen und Ländern in Hinsicht unterschiedlicher Lebensstile mit möglichen Auswirkungen auf chromosomaler Ebene zu ermöglichen. Weiterhin dient dies der Evaluierung mutationssensibler Personen (Fenech 1993).

Nach Situationen, die einen Anstieg der MK- Frequenz zur Folge haben können, ständen Vergleichsdaten zur Verfügung. Dies gilt für längere Zeiträume, in denen sich der Lebensstil einer Bevölkerung verändert, aber natürlich auch für plötzlich eintretende Ereignisse, wie z.B. Umweltkatastrophen oder Havarien, z.B.Tschernobyl 1986 (Wuttke et al. 1996).

Aus ähnlichen Beweggründen schlugen Belien et al eine Standardisierung des MK- Tests in Bezug auf zytologische Präparation, Definition der MK, Instrumentation und mikroskopische Auszählungsverfahren vor, der wir in unserer Studie folgten. Solch ein standardisiertes Vorgehen ermöglicht die Schaffung eines reproduzierbaren und sensitiven Indikators zur Abschätzung des Krebsrisikos in Hinblick auf Schadstoffexpositionen (Belien et al. 1995). Eine Automatisierung der mikroskopischen Auszählung der MK-Frequenz ist dabei von großem Nutzen.

5.3. Methodenkritik

Folgende Kritikpunkte an den vorliegenden Untersuchungen sind diskussionswürdig:

 In dieser Arbeit wurden die untersuchten Personen, mit Ausnahme der berücksichtigten Alters- und Geschlechtssstruktur sowie der Medikamentenanamnese (Patienten mit Zustand nach Chemotherapie und/oder Radiatio gingen nicht in die Studie ein), zufällig ausgewählt. Die Alters- und Geschlechtsstruktur der Probanden entspricht ungefähr der der Tumorpatienten (s.o.), da M. Fenech eine Alters- und Geschlechtsabhängigkeit der Mikrokernraten mit Hilfe der Cytokinesis-block-Methode an humanen Lymphozyten feststellte (Fenech 1993, 1998).

Neben dem Alkohol- und Tabakkonsum wurden weitere 9 exogene Noxen zusätzlich ausgewertet, die nach unseren Ergebnissen mit Ausnahme der Lösungsmittelexposition keinen Einfluß auf die Mikrokernrate zeigten. Dies steht im Gegensatz zu anderen Untersuchungen, insbesondere zur Exposition radioaktiver Strahlung (s.o.). So erscheint es notwendig, Untersuchungen exponierter Personen in Hinsicht auf Dauer und Dosis der jeweiligen Exposition vorzunehmen, um reproduzierbare Ergebnisse zu erhalten.

Von Vorteil wäre es, Meßdaten der realen Arbeitsplatzkonzentration von entsprechenden Expositionen über längere Zeiträume aufzunehmen und die Mikrokernraten in Abständen über diesen Zeitraum hin zu bestimmen und anschließend die Ergebnisse mit nicht exponierten Personen zu vergleichen. Hierzu sind noch weitere Untersuchungen notwendig.

2. Die Frage, welche Anzahl von Zellen der Mundschleimhaut ausgezählt werden sollten, wurde oben schon diskutiert. Die Auffassung, daß durch eine höhere Anzahl ausgezählter Schleimhautzellen sicherere Ergebnisse in Hinsicht auf die Mikrokernzahl zu erwarten sind, wird von uns geteilt. Allerdings ist beim Analysieren von ca. 10.000 Zellen pro Proband ein wesentlich höherer Zeitaufwand notwendig. Bei einer größeren Patienten- bzw. Probandenzahl würde demzufolge auch die 10-fache Zeit zur Ergebnisfindung benötigt. Verfahren, die eine automatisierte Auszählung von Mikrokernen ermöglichen, wurden schon getestet. Erste Erfahrungen liegen mit der "Computerised Image Analysis" an Lymphozyten des peripheren Blutes vor. Die automatisierte Zählung von Mikrokernen an Lymphozyten des peripheren Blutes steht in Bezug auf die akkurate Erkennung von Mikrokernen der manuellen Auszählung durch erfahrene Mitarbeiter in nichts nach und es besteht eine höhere Reproduzierbarkeit der Ergebnisse im Vergleich zur manuellen Auszählung. (Thierens et al 1998).

Eine Automatisierung des Auszählverfahrens von Mikrokernen in Zellen der Mundschleimhaut wird von unserer Arbeitsgruppe untersucht. In der Literatur konnten hierzu keine Angaben gefunden werden.

5.4. Mögliche weitere Untersuchungen

Aus den o.g. Kritikpunkten ist ersichtlich, daß weitere Untersuchungen, insbesondere zu den exogenen Noxen, die durch ungenügende Angaben der Probanden bzw. durch ungenügende Anzahl von exponierten Personen nicht beurteilbar waren, notwendig sind. In Verbindung mit weiteren Untersuchungen zur Mutationssensiblität und der kanzerogenen Wirkung von Noxen und Noxengemischen, kann der Mikrokerntest einen hilfreicher Biomarker zur Erkennung von Hochrisikopatienten darstellen.

Bei der Verlaufsbeobachtung von Tumorpatienten hat der Mikrokerntest seine Grenzen, da therapeutische Maßnahmen, wie Chemotherapie oder Radiatio, zu einer Erhöhung der Mikrokernrate im behandelten Gebiet bzw. generell führen (Schlegel et al. 1986, Fenech et al. 1990, Nersesian et al. 1993).

Vergleichenden Untersuchungen von Mikrokerntest und quantitativen immunzytochemischen Untersuchungen zum Proliferationsstatus und zur Expression von Tumorsupressorgen- und Onkogenprodukten könnten weiteren Aufschluß über den Nutzen dieser Analyseverfahren, allein oder in Verbindung miteinander, geben.

Es könnte weiterhin die Möglichkeit bestehen, den Mikrokerntest bei der Abschätzung von Komplikationen während einer bestimmten Therapieform einzusetzen. Es besteht also insgesamt ein weites Spektrum der Anwendungsmöglichkeiten des Mikrokerntests, die auf den vielseitigen Nachweis von Mikrokernen in unterschiedlichen Geweben zurückzuführen sind.

6. Zusammenfassung

In dieser Studie wurde der Zusammenhang zwischen Mikrokernrate in Zellen der Mundschleimhaut und Exposition von exogenen Noxen bei Tumorpatienten, Leukoplakiepatienten und Kontrollpersonen dargestellt. Die mittlere Mikrokernrate der Tumorpatienten zeigte eine signifikant höhere Frequenz als die der Probanden mit täglichem Alkohol- und Zigarettenkonsum. Am geringsten fiel die Mikrokernrate im Mittel bei den Non-Abusern aus.

Es zeigte sich ein Zusammenhang von Mikrokernrate und Tabakkonsum mit positiver Korrelation und hoher Signifikanz bei Tumorpatienten und exponierten Probanden. Für die weiteren untersuchten Noxen ließ sich lediglich bei Exposition mit Lösungsmitteln ein Zusammenhang mit der Mikrokernrate von Mundschleimhautzellen im Sinne einer signifikant positiven Korrelation herausstellen. Alle anderen untersuchten Noxen zeigten keine Einflußnahme auf die Mikrokernrate.

Das relative Risiko für einen gesunden Probanden, an einem Kopf-Hals-Karzinom zu erkranken, ist unter Berücksichtigung des Rauchverhaltens um das 8,04-fache erhöht, wenn er eine Mikrokernrate von mehr als 19,5 pro 1000 Mundschleimhautzellen aufweist.

Hinsichtlich der Seitendifferenz konnte kein signifikanter Unterschied zwischen den Mikrokernraten herausgestellt werden. Dies unterstützt die These einer vorliegenden Feldkanzerisierung. Schlußfolgernd würde die Entnahme des Schleimhautabstriches einer Wangeninnenseite unter o.g. Bedingungen genügen, um die Mikrokernzahl zu bestimmen

Der Mikrokerntest weist chromosomale Schädigungen der Schleimhaut des oberen Aerodigestivtraktes in Hinsicht des chronischen Tabakkonsums und damit verbundenem Krebsrisiko zweifelsfrei nach. Die epidemiologisch-statistischen Arbeiten von Maier et al konnten in Hinsicht eines erhöhten Krebsrisikos bei chronischem Tabakkonsum bzw. Exposition von organischen Lösungsmitteln auf zellulärer Ebene bestätigt werden. Bei den anderen untersuchten kanzerogenen Noxen zeigte sich kein Zusammenhang zwischen Mikrokernrate und Exposition.

Langzeitbeobachtungen innerhalb von Personengruppen, die einer chronischen Exposition bestimmter Industrie- und Umweltgifte ausgesetzt sind, können mit Hilfe des Mikrokerntests Aufschluß über mögliche Schäden am genetischen Endpunkt geben. Der Mikrokerntest ist kein spezifisches Verfahren zur Erkennung spezieller Krebsarten, er spiegelt die Gesamtschädigung der Schleimhaut auf chromosomaler Ebene im Sinne einer Feldkanzerisierung wieder. Deshalb ist er dazu geeignet, ihn in Verbindung mit anderen Testverfahren, z.B. Tests zur Mutationssensibilität, einzusetzen. Auch in Kombination weitergehenden quantitativen immuncytochemischen Untersuchungen Proliferationsstatus und zur Tumorsupressorgen-Expression von und Onkogenprodukten an gesunden Schleimhautzellen, kann der Mikrokerntest zur Früherkennung von Hochrisikopatienten bzw. mutationssensiblen Personen eingesetzt werden.

7. Literatur:

- Adams JD, O'Mara-Adams KJ 1987:

Toxic and carcinogenic agents in undiluted mainstream smoke and sidestream smoke of different types of cigarettes.

Carcinogenesis, 8 (5), 729-731

- Adlkofer FX 1991:

Passivrauchen - Ein Risikofaktor aus: Krebsrisiken im Kopf-Hals-Bereich, hrsg. v. Maier H und Weidauer H Springer Verlag Berlin Heidelberg 1991, 38-51

- Amin S, Desai D, Hecht SS, Hoffmann D 1996:

Synthesis of tobacco-specific N-Nitrosamines and their metabolites of related bioassays.

Crit Rev Toxicol, 26 (2), 139-147

- Andrae U 1996:

Gentoxizitätstests in vitro

aus: Toxikologie

Hrsg. Greim H, Deml E

VCH Verlagsgesellschft mbH Weinheim 1996, 135-160

- Bache CA, Lisk DJ, Doss GJ, Hoffmann D, Adams JD 1985:

Cadmium and nickel in mainstream particulates of cigarettes containing tobacco grown on a low-cadmium soil-sludge mixture.

J Toxicol Environ Health, 16 (2), 547-552

- Bache CA, Lisk DJ, Shane BS, Hoffmann D, Adamms JD1987:

Effectives of cigarette filter tips for reducing cadmium in relation to other mainstream smoke constituents.

Drug Chem Toxicol, 10 (3-4), 189-193

- Ballarin C, Sarto F, Giacomelli L, Bartolucci GB, Clofero E 1992:

Micronucleated cells in nasal mucosa of Formaldehyd-exposed workers.

Mutat Res, 280 (1), 1-7

- Belien JA, Copper MP, Braakhuis BJ, Snow GB, Baak JP 1995:

Standardization of counting micronuclei; definition of a protocol to measure genotoxic damage in human exfoliated cells.

Carcinogenesis, 16 (10), 2395-2400

- Berces J, Otos M, Szirmai S, Crane-Uruena C, Köteles GJ 1993:

Using the micronucleus assay to detect genotoxic effects of metalions.

Environ health Pers, 101 (3), 11-13

- Beerenblum I 1941:

The mechanism of carcinogenesis: A study of the significance of carcinogenic actions and related phenomena.

Cancer Research, 1, 807-814

- Bolognesi C, Parrini M, Merlo F, Bonassi S 1993:

Frequency of micronuclei in lymphocytes from a group of floricultures exposed to pesticides.

J Toxicol Environ Health, 40 (2-3), 405-411

- Born IA, Zöller J, Weidauer H, Maier H 1996:

Auswirkungen des chronischen Alkoholkonsums auf die Mundschleimhaut.

Laryngo-Rhino-Otolog, 75, 754-758

- Bosch FX 1991:

Was wissen wir heute über die Bedeutung genetischer Faktoren für die Entstehung maligner Tumoren?

aus: Krebsrisiken im Kopf- Hals- Bereich;

Hrsg. Maier H, Weidauer H, Springer Verlag 1991, 239-255

- Carrano AV, Natarajan AT 1987:

Considerations for population monitoring using cytogenetic techniques.

Mutation research, 204, 379-406

- Cardenas VM, Thun MJ, Austin H, Lally CA, Clark WS, Greenberg RS, Heath CW Jr 1997:

Environmental tobacco smoke and lung cancer mortality in the american cancer society's cancer prevention, Study II.

Cancer Causes Control, 8 (1), 57-64

- Chakrabarti RN, Dutta K 1988:

Micronuclei test in routine smears from uterine cervix.

Eur J Gynaecol Onkol, 9 (5), 370-372

- Cheng TJ, Christiani DC, Xu X, Wain JC, Wiencke JK, Kelsey KT 1996:

Increased micronucleus frequency in lymphocytes from smokers with lung Cancer.

Mutation Research, 349 (1), 43-50

- Clausmeier A 1991:

Untersuchung über die Auswirkung von Zigarettenrauch auf die Mikronuclei-Rate von Mundschleimhautzellen in vivo und in vitro

Diplomarbeit der Abteilung Humanbiologie und Humangenetik des Fachbereiches Biologie der Universität Kaiserslautern

- Cloos J, Spitz MR, Schantz SP, Zhang ZF, Tobi H, Braakhuis BJ, Snow GB 1996:

Genetic susceptibility to head and neck squamos cell carcinoma.

J Natl Cancer Inst, 88 (8), 530-535

- Copper MP, Jovanovic Am, Nauta JJ, Braakhuis BJ, de Vries N, van der Waal I, Snow GB 1995:

Role of genetic factors in the etiology of squamous cell carcinoma of head and neck. Arch Otolaryngol Head Neck Surg, 121 (2), 157-160

- Countryman PI, Heddle JA 1976:

The production of Micronuclei from Chromosome aberrations in irradiated cultures of human lymphocytes.

Mut Research, 41, 321-332

- Countryman PI, Heddle JA, Crawford E 1977:

The repair of X-ray induced chromosomal damage in trisomy 21 and normal diploid lymphocytes.

Cancer research, 37, 52-58

- Dauffaud F, Orisiere T, Pellisier AL, Volot F, Botta A 1997:

Comparison between micronucleated lymphocyte rates observed in healthy subjects and cancer patients.

Mutagenesis, 12 (4), 227-231

- Deitmer T 1991:

Larynxkarzinom und Asbestexposition aus Krebsrisiken im Kopf-Hals-Bereich, hrsg. v. Maier H und Weidauer H Springer Verlag Berlin Heidelberg 1991, 91-123

- Deml E, Oesterle D 1996:

Chemische Kanzerogenese

aus: Toxikologie

Hrsg. Greim H, Deml E

VCH Verlagsgesellschft mbH Weinheim 1996, 135-160

- Deutsche Forschungsgemeinschaft 1998:

MAK- und BAK-Werte-Liste 1998

02.07.1998, Nr. 28

- Diaz S, Fonseca G, Fernandez I 1990:

Analysis of lymphocyte and oral mucosa cell micronuclei in Cuban paint industry workers.

Hereditas, 113 (1) 77-80

- Esteve J, Riboli E, Pequignot G, Merletti F, Crosignani P, Ascunce N, Zubiri L, Blanchet F, Raymond L, Repetto F, Tuyns AJ 1996:

Diet an cancers of the larynx and hypopharynx: the IARC multi-center study in southwestern Europe.

Cancer Causes Control, 7(2), 240-252

- Evans, H. J., Neary G., Williamson F 1959:

Part II Chromosome damage: the production of micronuclei.

Int.J.Rad.Biol., 3, 216-229

- Fenech M, Morley A 1986:

Cytokinesis-block micronucleus method in human lymphocytes: effect of in vivo ageing and low dose X-irradiation.

Mutat Res, 161, 193-198

- Fenech M, Morley A 1989:

Kinetocore detection in Micronuclei; an alternative method for measuring chromosome loss.

Mutagenesis, 4 (2), 98-104

- Fenech M, Denham J, Francis W, Morley A 1990:

Micronuclei in cytokinesis-blocked lymphocytes of cancer patients following fractionated partial-body radiotherapie.

Int J Radiat Biol, 57 (2), 373-383

- Fenech M 1993:

The cytogenesis- block micronucleus technique and its application to gentoxicity studies in Human populations.

Environmental Health Perspective, 101 (3), 101-107

- Fenech M 1998:

Important variables that influence base-line micronucleus frequency in cytokinesis-blocked lymphocytes – a biomarker for DANN damage in human populations. Mutat Res 1998, 404 (1-2), 155-165

- Foulkers WD, Brunet JS, Black MJ, Shenouda G, Narod SA 1996:

Familial risk of squamous cell carcinoma of the head and neck: retrospektive case-control study.

BMJ, 313 (7059), 716-721

- Ghose UR, Parida BB 1995:

Cytological study of exfoliated buccal mucosa cells of tribes in Orissa State (India) with high risk for oral cancer.

Indian J Cancer, 32 (3), 95-99

- Gluckmann JL, Zitsch RP1990:

Screening for multiple primary tumors

aus: Multiple primary tumors in head and neck

Hrsg. Vries N de, Gluckmann JL

Thieme Verlag Stuttgart, 1990, 55-73

- Gonsebatt ME; Vega L, Salazar AM, Montero R, Blas J, Guzman P, Del Razo LM, Garcia-Vargas G, Albores A, Cebrian ME, Kelsh M, Ostrosky-Wegman P 1997: Cytogenetic effects in human exposure to arsenic.

Mutat Res, 386 (3), 219-228

Gutemann WH, Lisk DJ, Shane BS, Hoffmann D, Adams JD 1987:
 Selenium in mainstream and sidestream smoke of cigarette containing fly ash-grown Tobacco.

Drug Chem Toxicol, 10 (3-4), 181-187

- Hart TC 1997:

Applications of molecular epidemiology to head and neck cancer. Otolaryngol Clin North Am, 30 (1), 21-34

 Hecht SS, Carmella SG, Foiles PG, Foiles PG, Trushin N, Lin D, Chung FL 1987: Investigations on the molecular dosimetry of tobacco-specific N-nitrosamines. IARC Sci Publ. 84, 423-429

- Hecht SS, Hoffmann D 1991:

N-Nitroso compounds and tobacco-induced cancer in men. IARC, 105, 54-61

Hecht SS, Carmella SG, Murphy SE, Foiles PG, Chung FL 1993:
 Carcinogen biomarkers related to smoking and upper aerodigestive tract cancer.
 Cell Biochem Suppl, 17 F, 27-35

- Hecht SS, Carmella SG, Foiles PG, Murphy SE 1994:

Biomarkers for human uptake and metabolic activation of tobacco-specific nitrosamines.

Cancer Res, 54 (7), 1912s-1917s

- Hecht SS 1997:

Approaches to cancer prevention based on an understanding of N-Nitrosamine carcinogenesis.

Proc Soc Exp Biol Med, 216 (2), 181-191

- Heddle JA 1973:

A rapid in vivo Test for chromosomal damage.

Mutat Res, 18, 187-190

- Hillebrandt W 1995:

Rebschutz

Fach-Verlag-Fraund, 10. Aufl. 1995, 161

- Hoffmann D, Wynder EI, Valhalla NY 1994:

Aktives und passives Rauchen

aus: Lehrbuch der Toxikologie

BI-Wiss.-Verl. Mannheim, Leipzig, Wien, Zürich, 1994, 589-605

- Hoffmann D, Rivenson A, Chung FL, Hecht SS 1991:

Nicotine-derived N-Nitrosamines (TSNA) and their relevance in tobacco Carcinogenes.

Crit Rev Toxicol, 21 (4), 305-311

Hu GG, Luo XM, Liu J, Gu M, Mao BL, Chen ZY, Wang LJ 1987:
 Sister chromatid exchange, chromosomal aberrations and micronuclei of cultured peripheral lymphocytes in patients with lung cancer, miners and non mining workers of the mine in Yunnan.

Chung-Hua-Chung-Liu-Tsa-Chih, 9 (1), 29-32

- IARC (International Agency for Research on Cancer) 1986: Cancer related to passiv exposure to tobacco smoke. IARC, 40, 2898-2903

Ishibe N, Kelsey KT 1997:
 Genetic susceptibility to environmental and occupational cancers.
 Cancer Causes Control, 8 (3), 504-513

- Jones AS, Morar P, Phillips DE, Fied JK, Husband D, Helliwell TR 1995: Second Primary Tumors in Patients with Head and Neck Squamous Cell Carcinoma. Cancer, 75 (6), 134-1352
- Johnson NW, Waranakulasuriy S, Tavassoli M 1996:
 Hereditary and environmental risk factors; clinical and laboratory risk matters for head and neck, especially oral, cancer and precancer.
 Eur J Cancer Prev, 5 (1), 5-17
- Kayal JI, Trivedi AH, Dave BJ, Nair UJ, Bhide SV, Goswami UC 1993;
 Incidence of micronuclei in oral buccosa of users of tobacco products singly or in various combinationes.
 Mutagenesis, 8 (1), 31-33
- Kiilunen M, Utela J, Rantanen T, Norppa H, Tossavainen A, Koponen M, Paakkulainen H, Aitio A 1997:
 Exposure to soluble nickel in electrolytic nickel refining.
 Am Occup Hyg, 41 (2), 167-188
- Kitaeva LV, Mikheeva EA, Shelomova LF, Shvartsman PI 1996:
 Gentoxic effects of formaldehyd in somatic human cells.
 Genetika, 32 (9), 1287-1290
- Leon X, Quer M, Diez S, Orus C, Lopez-Pousa A, Burgues J 1998:
 Second neoplasm in patients with head and neck cancer.
 Head and Neck 21, 204-210
- Leonhardt H 1990:
 Histologie, Zytologie und Mikroanatomie des Menschen 8.Aufl., Thieme Verl. Stuttgart-New York 1990, 45

- Lippman SM, Peters EJ, Wargovich MJ, Stadnyk AN, Dixon DO, Dekmezian RH, Loewy JW, Morice RC, Hong WK 1990:

Bronchial micronuclei as a maker of an early stage of carcinogenesis in the human tracheobronchial epithelium.

Int. J Cancer, 45 (5), 811-815

- Loomis DP, Shy CM, Allen JW, Saccomanno G 1990: Micronuclei in epithelial cells from sputum of uranium workers. Scan J Work Environ Health, 16 (5), 355-362

- Maier H, Born IA, Mall G 1988:

Effect of chronic ethanol and nicotine consumption on the function and morphology of the salivary glands.

Klin. Wochenschrift, 66 (12), 140-150

Maier H, Seitz HK, Mayer B, Adler D, Mall G, Born IA 1990:
 Lipomatöse Atrophie der Glandula Parotis bei chronischem Alkoholkonsum.
 Laryngo-Rhino-Otolog, 69, 600-604

Maier H, Dietz A, Gewelke U, Seitz HK, Heller WD 1990:
 Tabak- und alkoholassoziiertes Risiko im Bereich des oberen Atmungs- und Verdauungstraktes.
 Laryngo-Rhino-Otol, 69, 505-511

 Maier H, Dietz A, Gewelke U, Heller WD 1991:
 Berufliche Exposition gegenüber Schadstoffen und Krebsrisiko im Bereich von Mundhöhle, Oropharynx, Hypopharynx und Larynx.
 Laryngo-Rhino-Otol, 70, 93-98

Maier H, Gewelke U, Dietz A, Heller WD 1991:
 Kehlkopfrisiko bei chronischem Tabak- und Alkoholkonsum.
 Otorhinolaryngol Nova, 191, 271-277

 Maier H, Fischer G, Sennewald E, Heller WD 1994:
 Berufliche Risikofaktoren für Rachenkrebs - Ergebnisse der Heidelberger Rachenkrebsstudie.
 HNO, 42, 530-540

Maier H, Tisch M, Enderle G, Dietz A, Weidauer H 1997:
 Berufliche Exposition gegenüber Farben, lacken und Lösungsmitteln und Krebsrisiko im Bereich des oberen Aerodigestivtraktes
 HNO, 45 (11), 905-908

Malter M, Süss 1989:
 Krebs im Blickpunkt
 Hüthig Verlagsgesellschaft Decker und Müller, 1989, 102-109

- Marquart 1994:

Chemische Kanzerogenese

aus: Lehrbuch der Toxikologie

Hrsg. Marquart H, Schäfer SG

BI-Wiss.-Verl. Mannheim, Leipzig, Wien, Zürich 1994, 124-147

- Merkblatt zur Berufskrankheit Nr. 4104 der Anlage zur Berufskrankheiten-Verordnung "Lungenkrebs oder Kehlkopfkrebs"

Barb Bl. 12/97, 32

- Mohadjer C, Dietz A, Maier H, Weidauer H 1996:

Fernmetastasierung und Zweitkarzinomhäufigkeit von Patienten mit Oropharynxund Hypopharynxkarzinomen.

HNO, 44, 134-139

- Moore LE, Smith AH, Kalman DA, Smith MT, Warner 1996:

Use of the fluorescent micronucleus assay to detect the genotxic effects of radiation and arsenic exposure in exfoliated human epithelial cells.

Environ Mol Mutagen, 27 (3), 176-184

 Moore LE, Smith AH, Hopenhayn RC, Biggs ML, Kalman DA, Smith MT 1997: Micronuclei in exfoliated bladder cells among individuals chronically exposed to arsenic in drinking water.

Cancer epidomol Biomarkers Prev, 6 (1), 31-36

Nair U, Obe G, Nair J, Maru GB, Bhide SV, Peiper R, Bartsch H 1991:
 Evaluation of frequency of micronucleated oral mucosa cells as a marker for gentoxic damage in chewers of betel quid with or without tobacco.
 Mutat Res, 261 (3), 163-168

- Nersesian AK, Zil'vian VN, Kumkumadzhian VA 1993:

An analysis of the micronucleui in the oral mucosa of cancer patients for assessing the clastogenic effect of chemical preparations.

Tsitol Genet, 27 (1), 77-80

- Neumann G 1988:

Bösartige Neubildungen von Lippe, Mundhöhle, Rachen, Nase, Ohr und Kehlkopf Eine deskriptiv-epidemiologische Untersuchung.

HNO, 36, 345

- Papadimitrakopoulou VA, Dong MS, Waun KH 1996:

Molecular and cellular biomarkers for field cancerization and multistep process in head and neck tumorigenesis.

Cancer and Metastasis Reviews, 15, 53-56

- Parry EM, Ballantine JA, Ellard S, Evans WE, Jones C, Kilic N, Lewis RI 1997: Biomonitoring study of a group of workers potentially exposed to traffic fumes. Environ Mol Mutagen, 30 (2), 119-130

- Puri S, Dani HM, Singh J 1998:

Assay of carcinogenicity of tobacco metabolites employing microsomal degranulation technique.

Indian J Exp Biol, 36 (5), 483-487

- Ramalho A, Sunjevaric I, Natarajan AT 1988:

Use of the frequencies of Micronuclei as quantitative indicators of X-ray-induced chromosomal aberrations in human peripher blood lymphocytes: Comparison of two methods.

Mutat Res, 207 (1988), 141-146

- Roberts DM 1997:

Comparative cytologie of the oral cavities of snuff users.

Acta cytol, 41 (4), 1008-1014

- Sarto F, Finotto S, Giacomeli L, Mazzotti D, Tomanin R, Levis AG 1987:

The micronucleus assay in exfoliated cells of the human buccal mucosa.

Mutagenesis, 2 (1), 11-17

- Schantz SP 1995:

Basic science advances in head and neck oncology.

Semin surg Oncol, 11 (3), 272-279

- Schantz SP, Zhang ZF, Spitz MS, Sun M, Hsu TC 1997:

Genetic susceptibility to head and neck cancer; interaction between nutition and mutagen sensitivity.

Laryngoscope, 107 (6), 765-781

- Schlegel R, Mc Gregor JT, Everson RB 1986:

Assessment of cytogenetic damage by quantitaton of micronuclei in human peripheral blood erythrocytes.

Cancer Res, 46 (7), 3717-3721

- Schmähl D 1991:

Mechanismen der Tabakkarzinogenese

aus: Krebsrisiken im Kopf- Hals- Bereich,

Hrsg. Maier H, Weidauer H,

Springer Verlag Berlin Heidelberg 1991, 8-15

- Schmid W 1973:

Chemical mutagen testing on in vivo somatic mammilian cells.

Agent actions, 3, 77-85

- Schulte-Hermann R, Marian B, Bursch W 1994:

Tumorpromotion

aus: Lehrbuch der Toxikologie, Hrsg. Marquart H, Schäfer SG,

BI-Wiss.-Verl. Leipzig, Mannheim, Wien, Zürich 1994, 148-177

- Seitz HK, Poschl G, Simanowski UA 1998:

Alcohol and cancer.

Recent Dev Alcohol, 14, 67-95

Shapsay SM, Hong WK, Fried MP, Sismanis A, Vaughan CW, Strong MS 1980:
 Simultaneous carcinomas of the esophagus and upper aerodigestive tract.
 Otolaryngol Head Neck Surgery, 88, 373-377

- Shizuyo S 1996:

Achievements by CSGMT / JEMS and MMS: The collaborative study group for the Micronucleus test in the mammilian; Mutagenesis study group of the environmental mutagen society of Japan.

Mut Res, 340, 151-174

- Slaughter DP, Southwick HW, Smjekal W 1953:

"Field canzerisation" in oral stratifield squamous epithelium: clinical implications of multicentric origin.

Cancer (Phila.), 6, 963-968

- Smith AH, Hopenhayn-Rich C, Warner M, Biggs ML, Moore ML, Smith MT 1993: Rationale for selecting exfoliated bladder cell micronuclei as potential biomarkers for Arsenic genotoxicity.

J Toxicol Environ Health, 40 (2-3), 223-234

- Snow GB, de Vries N 1991:

Zweittumoren bei Patienten mit Plattenepithelkarzinomen im Kopf-Hals-Bereich aus: Krebsrisiken im Kopf- Hals- Bereich

Hrsg. Maier H, Weidauer H,

Springer Verlag Berlin Heidelberg 1991, 185-194

- Spitz MR 1995:

Risk factors and genetic susceptibility.

Cancer Treat Res, 74, 73-87

Spitz MR, McPherson RS, Jiang H, Hsu TC, Trinza Z, Lee JJ, Lippman SM, Khuri FR, Steffen-Batay L, Chamberlain, Schanz SP, Hong WK 1997:
 Correlates of mutagen sensitivity in patients with upper aerodigestive tract cancer.

Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev, 6(9), 687-92

- Statistisches Bundesamt: Todesursachenstatistik 1993 und 1994. Wiesbaden 1995

- Stich HF, Curtis JR, Bibhuti BP 1982:

Application of the micronucleus test to exfoliated cells of high cancer risk groups: Tobacco Chewers.

Int J Cancer, 30, 553-559

- Stich HF, Rosin MP 1983:

Quantitating the synergist effect of smoking and Alkohol consumtion with the Micronuclei test on human buccal mucosa. Inter J Cancer, 31, 305-308

- Stich HF, Rosin MP 1984:

Micronuclei in exfoliated human cells as a tool for studies in cancer risk and cancer Intervention.

Cancer letters, 22, 241-253

- Stich HF, Rosin MP, Hornby AP, Mathew B, Sankaranarayanan R, Nair MK 1988: Remission of oral leukoplakies and micronuclei in tobacco/betel quid chewers treated with Beta carotene and with beta carotene plus vitamine A. Int J Cancer, 42 (2), 195-199

- Stich HF, Mathew B, Sankaranarayanan R, Nair MK, Brunnemann KD 1989: Chemopreventive trials with vitamin A and beta-carotene: some unresolved issues. Prev Med 1989, 18 (5), 732-739
- Stich HF, Mathew B, Sankaranarayanan R, Nair MK 1991:
 Remission of precancerous lesions in the oral cavity of tobacco chewers and maintenance of the protective effect of beta-carotene or vitamin A
 Am J Clin Nutr, 53 (1), 298S-304S
- Stich HF, Parida BB, Brunnemann KD 1992:

Localized formation of micronuclei in the oral mucosa and tobacco-specific nitrosamines in the salivary of "reverse" smokers, Khaini-tobacco chewers and gudakhu users.

Int J Cancer, 50 (2), 172-176

- Surrales J, Autio K, Nylund L, Jarventaus H, Norppa H, Veidebaum T, Sorsa M, Peltonen K 1997:

Molecular cytogenetic analysis of buccal cells and lymphocytes from benzene exposed workers.

Carcinogenesis, 18 (4), 817-823

- Surunda A, Schulte P, Boeninger M, Hayes RB, Livingston GK, Steenland K, Stewart P, Herrick R, Douthit D, Fingerhut MA 1993:

Cytogenetic effects of formaldehyde exposure in students of mortuary science. Cancer Epidemiol Biomakers Prev, 2 (5), 453-460

- Szimai S, Berces J, Köteles GJ 1993:

Computerized Image Analysis for Determining Micronucleus Frequency. Environ Health Pers, 101 (3), 57-60

- Thierens H, Vral A, De Scheerder F, De Ridder L, Tates A 1998: Semi-automated micronucleus scoring in cytokinesis-blocked lymphocytes after irradiation. Int J Radiat Biol, 72 (3), 319-924 - Titenko-Holland N, Levine AJ, Smith MT, Quintana PJ, Boeninger M, Hayes R, Surunda A, Schulte P 1996:

Quantification of epithel cell micronuclei by fluorescence in situ hybridization in morutary science students exposed to formaldehyde.

Mutat Res, 371 (3-4), 237-248

- Tolbert PE, Shy CM, Allen JW 1991:

Micronuclei and other nuclear anomalies in buccal smears: a field test in snuff users. Am J Epidemiolog, 134 (8), 840-850

- Torres-Bugarin O, De Anda Csillas A, Ramirez-Munoz MP, Sanchez-Corona J, Cantu JM, Zuniga G 1998:

Determination of Diesel genotoxicity in firebreathers by micronuclei and nuclear abnormalities in buccal mucosa.

Mut Res, 413 (3), 277-281

- Valentine JA, Scott J, West CR, Hill CAS 1985:

A histological analysis of the early effects of alkohol and tobacco usage on human epithlium.

Oral Patholog, 14, 654-665

- Vries N de , Snow GB 1986:

Multiple primary tumors in laryngeal cancer.

J Laryngol Otol, 100, 915-918

- Wu X, Hong WK, Lee JJ, Amos CI, Winn RJ, Fu KK, Cooper J, Spitz MR 1998: Benzo(a)pyrene diol epoxide and bleomycin sensitivity and susceptibility to cancer of upper Aerodigestive tract.

J Natl Cancer Inst, 90 (18), 1393-1399

Wuttke K, Streffer C, Muller WU, Reiners C, Biko JU, Demidchik E 1996:
 Micronuclei in lymphocytes of children from the vicinity of Chernobyl before and after 131 J therapie for thyroid cancer.

Int J Radiat Biol, 69 (2), 259-268

Ying CJ, Yan WS, Zhao MYYe XL, Xie H, Yin SY, Zhu XS 1997:
 Micronuclei in nasal mucosa, oral mucosa and lymphocytes in students exposed to formaldehyde vapor in anatomy class.

Biomd Environ Science, 10(4), 451-455

- Zankl HZ 1987:

Gesundheitslehre

VCH Verlagsgesellschaft Weinheim 1987, 29-38

- Zatonski W, Tyczynski J, Didkowska J 1991:

Zur Epidemiologie des Kehlkopfkrebses in Polen

aus: Krebsrisiken im Kopf- Hals- Bereich;

Hrsg. Maier H, Weidauer H,

Springer Verlag 1991, 124-136

8. Anhang Datentabelle

Nr.	Geburtsjahr	Raucher	Packungsjahre	Zigaretten/d	Alkohol g/d	Lösung	Staub	Abgase	Benzin	Asbest	Pestizide	Strahlung	Schwermetalle	Kunststoffe	MN re	MN li	MN ges.	Zellen	pro Zelle	Status
1	1947	2	25	25	114	0	0	0	0	0	0	0	0	0	15	9	24	1000	0,0240	0
2	1925	1	0	0	25	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	2	5	1000	0,0050	0
3	1937	1	0	0	60	0	0	0	0	0	0	1	0	0	2	5	7	540	0,0130	0
4	1944	2	15	10	66	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	1	2	500	0,0040	0
5	1931	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	5	2	7	1000	0,0070	0
6	1928	1	0	0	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	4	7	1000	0,0070	0
7	1921	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	2	2	500	0,0040	0
8	1949	1	0	0	82	1	0	0	0	0	0	0	0	0	4	4	8	1000	0,0080	0
9	1961	2	7,5	10	25	1	1	0	0	0	0	0	0	0	3	4	7	750	0,0093	0
10	1937	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	4	2	6	1000	0,0060	0
11	1933	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	3	3	6	1000	0,0060	0
12	1963	1	0	0	155	0	0	0	0	0	0	0	1	1	7	2	9	1000	0,0090	0
13	1943	1	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	3	1	4	710	0,0056	0
14	1941	1	0	0	25	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	1	620	0,0016	0
15	1928	0	0	0	10	1	0	0	0	0	0	0	0	0	6	4	10	1000	0,0100	0
16	1930	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	3	0	3	1000	0,0030	0
17	1952	0	0	0	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2	500	0,0040	0
18	1925	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	1	3	800	0,0038	0
19	1944	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	7	4	11	900	0,0122	0
20	1957	0	0	0	82	1	0	0	0	1	0	1	0	0	4	7	11	1000	0.011	0
21	1940	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	3 7	5	1000	0.005	0
22	1939	0	0	0	10	0	0	1	0	0	0	0	0	0	3 8	7	10	1000 1000	0,01	0
23	1935	0	•			0	0	0	0		0	0	0				15		0,015	0
24	1964 1952	2	10 0	15 0	66	0	0	0	0	1	0	0	0	0	4	5 3	9 8	1000 1000	0,009	0
25 26	1932	0	0	0	10 0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	5 7	8	o 15	1000	0,008 0,015	0
27	1934	0	0	0	10	1	0	1	0	1	0	0	0	0	2	1	3	1000	0,003	0
28	1947	2	10	20	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	4	3	3 7	1000	0,003	0
29	1951	1	0	0	10	1	0	1	0	1	0	0	0	0	5	4	9	1000	0,007	0
						0		_		_			0							
30	1950 1938	2	28,5 0	30 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6 4	7 5	13 9	1000 1000	0,013 0,009	0
31	1938	1	0	0	10		0	0	0	0	0	0	0	0	2	2		1000	0,009	
		1	•	0									0	· ·	_					
32 33	1948	1	0	0	150	0	1	1	0	0	0	0	0	0	3	5	4 8	1000	0,004	0

Nr.	Geburtsjahr	Raucher	Packungsjahre	Zigaretten/d	Alkohol g/d	Lösung	Staub	Abgase	Benzin	Asbest	Pestizide	Strahlung	Schwermetalle	Kunststoffe	MN re	MN li	MN ges.	Zellen	pro Zelle	Status
34	1952	1	0	0	10	0	1	0	0	0	0	0	0	0	4	4	8	1000	0,008	0
35	1944	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	5	7	12	1000	0,012	0
36	1944	2	31	25	66	1	0	0	0	0	0	0	0	0	12	12	24	1000	0,024	0
37	1947	2	32	20	66	0	0	0	0	0	0	0	0	0	12	12	24	1000	0,024	0
38	1951	1	0	0	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	7	7	14	1000	0,014	0
39	1955	1	0	0	116	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2	4	1000	0,004	0
40	1937	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5	5	10	1000	0,01	0
41	1954	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	6	4	10	1000	0,01	0
42	1940	2	18,75	15	50	0	0	1	0	0	0	0	0	0	8	7	15	1000	0,015	0
43	1956	2	15	15	50	0	0	1	0	0	0	0	0	0	5	3	8	1000	0,008	0
44	1935	2	4	10	10	1	0	0	0	0	0	0	0	0	6	8	14	1000	0,014	0
45	1942	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	2	4	6	1000	0,006	0
46	1947	2	30	20	40	0	1	0	0	0	0	0	0	0	9	9	18	1000	0,018	0
47	1941	0	0	0	10	0	1	0	0	0	0	0	0	0	4	2	6	1000	0,006	0
48	1943	1	0	0	10	0	1	0	0	0	0	0	0	0	4	4	8	1000	0,008	0
49	1941	0	0	0	10	0	0	1	0	0	0	0	0	0	8	4	12	1000	0,012	0
50	1945	0	0	0	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	1	3	1000	0,003	0
51	1939	1	0	0	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	7	5	12	1000	0,012	0
52	1952	2	25	20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	6	10	1000	0,01	0
53	1956	0	0	0	10	0	0	1	0	0	0	0	0	0	6	5	11	1000	0,011	0
54	1943	2	25	25	25	1	0	1	1	0	0	0	0	0	7	4	11	1000	0,011	0
55	1927	0	0	0	10	0	1	0	0	0	0	0	1	0	3	3	6	1000	0,006	0
56	1948	2	30	20	50	1	0	0	0	0	0	0	0	0	6	12	18	1000	0,018	0
57	1926	1	0	0	50	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	3	4	1000	0,004	0
58	1929	1	0	0	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	9	8	17	1000	0,017	0
59	1923	1	0	0	10	1	0	0	0	0	0	0	0	0	14	11	25	1000	0,025	0
60	1963	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	3	1	4	1000	0,004	0
61	1926	1	0	0	66	0	1	0	0	0	0	0	0	0	4	3	7	1000	0,007	0
62	1923	0	0	0	80	0	1	1	0	0	0	0	0	0	9	6	15	1000	0,015	0
63	1929	0	0	0	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5	7	12	1000	0,012	0
64	1924	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	3	4	7	1000	0,007	0
65	1949	0	0	0	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	2	3	1000	0,003	0
66	1935	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	5	4	9	1000	0,009	0
67	1972	0	0	0	10	0	1	0	0	1	0	0	0	0	3	4	7	1000	0,007	0
68	1935	0	0	0	10	0	0	1	0	0	0	0	0	0	8	2	10	1000	0,01	0

Nr.	Geburtsjahr	Raucher	Packungsjahre	Zigaretten/d	Alkohol g/d	Lösung	Staub	Abgase	Benzin	Asbest	Pestizide	Strahlung	Schwermetalle	Kunststoffe	MN re	MN li	MN ges.	Zellen	pro Zelle	Status
69	1948	2	30	20	132	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5	5	10	1000	0,01	0
70	1934	2	33	15	50	0	1	0	0	0	0	0	1	0	8	7	15	1000	0,015	0
71	1934	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	2	1000	0,002	0
72	1932	1	0	0	82	1	0	1	0	0	0	0	0	0	3	4	7	1000	0,007	0
73	1951	2	22,5	15	100	0	0	1	0	1	0	0	0	0	6	4	10	1000	0,01	0
74	1939	1	0	0	10	1	1	0	0	0	0	0	1	1	5	4	9	1000	0,009	0
75	1960	1	0	0	50	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	4	6	1000	0,006	0
76	1958	2	18,75	15	75	0	1	0	0	0	0	0	0	0	4	2	6	1000	0,006	0
77	1970	1	3	10	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	2	6	1000	0,006	0
78	1939	2	52,5	30	25	1	1	0	0	0	0	0	0	0	6	6	12	1000	0,012	0
79	1944	2	16	10	25	1	0	0	0	0	0	0	0	0	5	6	11	1000	0,011	0
80	1955	1	0	0	10	1	1	0	0	1	0	0	0	0	3	3	6	1000	0,006	0
81	1940	1	0	0	10	0	0	0	0	0	0	0	0	1	2	3	5	1000	0,005	0
82	1934	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	3	6	1000	0,006	0
83	1935	1	0	0	50	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	3	6	1000	0,006	0
84	1947	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5	2	7	1000	0,007	0
85	1924	1	0	0	25	1	0	0	0	0	0	0	0	1	4	6	10	1000	0,01	0
86	1952	2	45	30	25	0	0	0	0	0	0	0	0	0	9	15	25	1000	0,025	0
87	1930	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	1	2	1000	0,002	0
89	1941	2	35	20	25	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	14	24	1000	0,024	0
89	1919	2	40,75	15	50	0	0	0	0	0	0	0	0	0	7	7	14	1000	0,014	0
90	1913	2	22,5	15	32	0	1	0	0	0	0	0	0	0	8	5	13	1000	0,013	0
91	1916	1	0	0	10	0	1	0	0	0	0	0	0	0	4	4	8	1000	0,008	0
92	1919	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1000	0,001	0
93	1914	2	60	20	100	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	3	4	1000	0,004	0
94	1910	1	0	0	25	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	1	3	1000	0,003	0
95	1941	1	0	0	66	0	0	1	0	0	0	0	0	0	2	3	5	1000	0,005	0
96	1908	1	0	0	10	0	0	1	0	0	0	0	0	0	3	3	6	1000	0,006	0
97	1950	2	2	10	50	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	2	5	1000	0,005	0
98	1970	2	2,5	10	40	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	3	7	1000	0,007	0
99	1933	2	15	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	5	9	1000	0,009	0
100	1941	2	50	40	100	0	1	0	0	0	1	0	0	0	3	6	9	800	0,0113	1
101	1950	2	25	20	12,5	0	0	1	0	0	0	0	1	0	14	9	23	1000	0,0230	1
102	1961	2	10	10	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	4	6	10	660	0,0152	1
103	1940	2	76	40	37,5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	7	11	1000	0,0110	1

Nr.	Geburtsjahr	Raucher	Packungsjahre	Zigaretten/d	Alkohol g/d	Lösung	Staub	Abgase	Benzin	Asbest	Pestizide	Strahlung	Schwermetalle	Kunststoffe	MN re	MN li	MN ges.	Zellen	pro Zelle	Status
104	1918	2	40	40	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	13	10	23	1000	0,0230	1
105	1941	2	60	40	50	0	0	0	0	0	0	0	0	0	8	8	16	1000	0,0160	1
106	1935	2	20	20	25	0	0	0	1	0	0	0	0	0	14	23	37	1000	0,0370	1
107	1942	2	35	20	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	6	10	16	1000	0,0160	1
108	1928	2	50	20	80	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	10	20	1000	0,0200	1
109	1933	2	20	20	50	0	0	0	0	0	0	1	0	0	7	9	16	1000	0,0160	1
110	1928	2	20	20	57	0	0	0	0	0	0	1	0	0	6	6	12	1000	0,0120	1
111	1935	2	60	40	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	9	5	14	1000	0,0140	1
112	1938	2	76	40	50	1	0	0	0	1	1	0	1	0	19	13	32	1000	0,032	1
113	1947	2	64	40	75	1	0	0	1	1	0	0	0	0	8	11	19	1000	0,019	1
114	1935	2	10	20	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	9	9	18	1000	0,018	1
115	1955	2	10	20	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	20	19	39	1000	0,039	1
116	1941	2	25	20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	12	10	22	1000	0,022	1
117	1937	2	38	20	800	0	0	0	0	0	0	0	0	0	24	18	17	1000	0,017	1
118	1922	2	45	20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	10	20	1000	0,02	1
119	1935	2	20	20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	24	18	42	1000	0,042	1
120	1921	2	12,5	10	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	10	10	20	1000	0,02	1
121	1949	2	29	20	130	0	0	1	0	0	0	0	0	0	7	6	13	1000	0,013	1
122	1940	2	40	20	207	0	1	0	0	1	0	0	0	0	20	16	36	1000	0,036	1
123	1932	2	60	40	87,5	0	1	0	0	1	0	0	1	0	8	7	15	1000	0,015	1
124	1929	2	50	20	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	10	10	20	1000	0,02	1
125	1938	2	52,5	30	66	0	0	0	0	0	0	0	0	0	7	8	15	1000	0,015	1
126	1932	2	30	20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	7	17	1000	0,017	1
127	1928	2	70	40	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	11	7	18	1000	0,018	1
128	1928	2	15	10	25	0	1	0	0	0	0	1	0	0	10	8	18	1000	0,018	1
129	1922	2	45	20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	13	7	20	1000	0,020	1
130	1930	2	33	20	107	0	0	0	0	0	0	0	0	0	9	11	20	1000	0,020	1
131	1929	2	30	20	25	0	0	0	0	0	0	0	0	0	8	8	16	1000	0,016	1
132	1930	2	25	20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	9	11	20	1000	0,020	1
133	1942	2	20	20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	13	23	1000	0,023	1
134	1941	2	40	20	205	1	1	0	0	0	0	0	0	0	11	14	25	1000	0,025	1
135	1912	2	30	20	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	13	10	23	1000	0,0230	1
136	1939	2	70	40	216	0	0	1	0	0	0	0	0	0	7	4	11	1000	0,011	1
137	1940	2	38	20	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	10	8	18	1000	0,0180	1
138	1929	2	30	20	66	1	1	0	0	0	1	0	0	0	13	8	21	1000	0,021	1

Nr.	Geburtsjahr	Raucher	Packungsjahre	Zigaretten/d	Alkohol g/d	Lösung	Staub	Abgase	Benzin	Asbest	Pestizide	Strahlung	Schwermetalle	Kunststoffe	MN re	MN li	MN ges.	Zellen	pro Zelle	Status
139	1945	2	25	20	50	1	0	1	0	1	0	0	0	0	12	11	23	1000	0,023	1
140	1932	2	15	10	72	0	0	0	0	0	0	0	0	1	8	7	15	1000	0,015	1
141	1936	2	20	20	25	0	1	0	0	0	0	0	0	0	13	18	31	1000	0,031	1
142	1924	1	25	20	50	0	0	1	0	0	0	0	0	0	13	11	24	1000	0.024	1
143	1939	2	70	40	82	0	0	1	1	0	0	0	0	0	6	9	15	1000	0.015	1
144	1933	2	40	40	76	1	1	0	0	0	0	0	0	0	10	12	22	1000	0,0220	2
145	1945	2	30	20	75	0	1	0	0	0	0	0	0	0	12	5	17	1000	0,0170	2
146	1936	2	35	20	140	0	1	0	0	0	0	0	0	1	4	8	12	1000	0,0120	2
147	1931	2	40	20	76	0	0	1	0	0	0	0	0	0	10	18	28	1000	0,0280	2
148	1936	2	20	20	25	0	1	0	0	0	0	0	0	0	11	20	31	1000	0,0310	2
149	1931	2	0	0	10	0	1	1	0	0	0	0	0	0	6	7	13	1000	0,0130	2
150	1933	1	35	20	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6	6	12	1000	0,0120	2
151	1936	2	35	20	75	1	0	0	1	0	0	0	0	0	8	7	15	1000	0,015	2
152	1933	2	35	20	57	1	0	0	0	0	0	0	0	1	11	13	24	1000	0,024	2
153	1946	2	36	20	363	0	0	0	0	0	0	0	0	0	7	8	15	1000	0,0150	2
154	1921	2	40	20	25	0	0	1	0	0	0	0	0	0	11	11	22	1000	0,022	2
155	1932	2	60	30	75	0	1	1	0	0	0	0	0	0	15	12	27	1000	0,0270	2
156	1922	2	26	20	66	1	0	0	0	0	0	0	0	0	9	10	19	1000	0,019	2
157	1938	2	20	20	80	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6	5	11	1000	0,011	2
158	1933	2	30	20	50	0	0	0	0	1	0	0	0	0	8	5	13	1000	0,013	2
159	1949	2	25	20	50	0	1	1	0	1	0	0	0	0	12	18	30	1000	0,03	2

Fragebogen zur Qualität der Mundschleimhaut und Kanzerogenese

01.	Name:	Vorname:	
02.	Datum der Probeentna	ahme:	
03.	Geburtsdatum:		
04.	Geschlecht: männlich weiblich	O O	
05.	Jetzige Arbeitsstelle:		
06.	Seit wieviel Jahren hie	r beschäftigt:	
07.	Haben Sie in den letzte	en 10 Jahren die Arbeitsstelle gewechselt?	O Ja O Nein
08.	vorherige Arbeitsstelle(i Welche Art der Tätigke	eit führen Sie aus / haben Sie ausgeführt?	Jahre

09. Mit welchen Schad- bzw. Arbeitsstoffen hatten Sie bis jetzt Kontakt oder arbeiten noch damit ?

	nein	ja	selten	häufig	Zeitraum
organ. Lösungsmittel					
(z.B. Lacke oder Farben)	О	О	О	О	
Schwermetalle	О	О	О	О	
Pestizide	О	О	О	О	
Asbest / Glasfasern	О	О	О	О	
Kunststoffe	О	О	О	О	
radioaktive Strahlung	О	О	О	0	
andere	О	О	0	0	

10. In welchem Wohnumfeld liegt Ihre Wohnung?

O Kleinstadt		
O reines Wohngebiet (S	tadtrand)	O auf dem Land
ımfeld		
O direkter Anlieger	O bis 500 m	O mehr als 1000 n
O direkter Anlieger	O bis 500 m	O mehr als 1000 r
O direkter Anlieger	O bis 500 m	O mehr als 1000 r
O direkter Anlieger	O bis 500 m	O mehr als 1000 r
O direkter Anlieger	O bis 500 m	O mehr als 1000 r
	O direkter Anlieger	O direkter Anlieger O bis 500 m

Wie wird Ihre W	Vohnung behe	eizt?	
O Zentralheizung	g O E	tagenheizung	O Einzelofen
O Nachtspeicher	O F	Fußbodenheizung	O anders:
Welches Brennn	naterial wird	benutzt?	
O Öl	O Gas	O Kohle	O Braunkohle
O Strom	O Holz		
Haben Sie eine o	offene Feuerst	elle in Ihrer Wohnu	ing?
(dazu zählt auch e	ein Gasdurchla	ufheizer)	
O nein	O ja		
Wie wird Ihr Ki	ichenherd bet	trieben?	
O Strom	O Gas	O Mikrowelle	O anders:
Kommen Sie in	Ihrer Freizeit	evtl. mit Schadstof	fen in Kontakt?
O nein			
O ja (wobei und	mit welchen)		
	una dan iatai	gen Reschwerden:	
Kurze Beschreib	oung der jetzig	gen besenwerden.	
Kurze Beschreib	oung der jetziş	gen besenwerden.	

Haben Sie Jema	ais geraucht?			
O Ja	O Nein			
Wie lange haber	Sie geraucht?			Jahr
Wann haben Sie	aufgehört zu rauchen?			
			Mona	t / Jahr
Rauchen Sie jetz	zt?		O Ja	O Nein
Rauchen Sie Zig	garetten		O Ja	O Nein
Wieviele Schach	nteln rauchen Sie pro Ta	g?	O wer	niger als 1/2
			O 1/2	bis 1
			O mel	nr als 1
			O wie	viele?
Rauchen Sie Zig	garren?		O Ja	O Nein
Wieviele Zig	arren pro Tag?		O 1	
			O 2-3	
			O 4 uı	nd mehr
Rauchen Sie Pfe	rife?		O Ja	O Nein
Wieviele Pfei	fenfüllungen pro Tag?		O 1	
			O 2-3	
			O 4 uı	nd mehr
Was haben sie ir	n der Vergangenheit ger	aucht?	O Zig	aretten
			O Pfe	ife
			O Zig	arren
Kauen sie Tabak	κ?		O Ja	O Nein
Schupfen Sie Ta	ıbak?		O Ja	O Nein

Nehmen Sie alkoholisch	iic Genanke					
O Ja O Nein O	nicht mehr	(Bitte	geber	Sie an	seit wann): se	eit
Wie oft, wiviel und was ungefähr zu sich? O täglich O wöc						nahmen Sie
Gläser						
Gläser						
Flaschen	_					
Haben Sie in den letzte Blutdruckmittel, Antib Medikament		lin, Tı	anqı		bei Frauen d Zeitr	lie Pille, u.a.) ^c aum
					Beginn	Ende
Nehmen Sie gegenwärt	ig Vitamine	oder l	naber	n Sie in	ı den vergang	genen 6 Mona
Nehmen Sie gegenwärt welche eingenommen?		oder l		n Sie im	den vergang	genen 6 Mona
welche eingenommen? Wenn ja:	О ја	ı		nein		
welche eingenommen?	О ја			nein	den vergang Wie häufig p	
welche eingenommen? Wenn ja: Welche Art von	О ја	ı		nein		
welche eingenommen? Wenn ja: Welche Art von	О ја	ı		nein		
welche eingenommen? Wenn ja: Welche Art von	О ја	ı		nein		
welche eingenommen? Wenn ja: Welche Art von	O ja	ı		nein		
welche eingenommen? Wenn ja: Welche Art von Vitaminen Hatten Sie folgende Kr Krebs	O ja N rankheiten?	lenge) Ja	0	nein		
welche eingenommen? Wenn ja: Welche Art von Vitaminen Hatten Sie folgende Kr Krebs Hepatitis	O ja N rankheiten?	Ienge Ja Ja	0	nein Nein Nein		
welche eingenommen? Wenn ja: Welche Art von Vitaminen Hatten Sie folgende Kr Krebs Hepatitis Herpes	O ja N ankheiten?	lenge Ja Ja Ja	0 0 0 0 0	Nein Nein Nein		
welche eingenommen? Wenn ja: Welche Art von Vitaminen Hatten Sie folgende Kr Krebs Hepatitis	O ja N ankheiten?	Ienge Ja Ja	0 0 0 0 0	nein Nein Nein		

7. I	Falls Sie Kro	ebs hatten, welche Art?			
8. V	Wie wurde d	ler Krebs behandelt?			
(O Operation	O Bestrahlung	O Chemoth	nerapie	
9. S	Sind Sie in d	len letzten 12 Monaten ge	impft worden?	O ja	
1	Wenn ja:			O nein	
Ī		Art der Impfu	ng	Datum	
Ī					
_					
		bitte therapeutisches und llung) der letzten 10 Jahr		löntgen (außer	
			e!	löntgen (außer Jahr	
		llung) der letzten 10 Jahr	e!		
		llung) der letzten 10 Jahr	e!		
		llung) der letzten 10 Jahr	e!		
[Zahnbehand	llung) der letzten 10 Jahr Anlaß für das Röi	e! ntgen		
[Zahnbehand	llung) der letzten 10 Jahr Anlaß für das Rön len Zähnen geröntgt word	e! ntgen		
S	Zahnbehand Sind Sie an d O ja	llung) der letzten 10 Jahr Anlaß für das Röi	e! ntgen		
S	Zahnbehand	Anlaß für das Rönden Zähnen geröntgt word O nein	e! ntgen		
	Zahnbehand Sind Sie an d O ja	Anlaß für das Rön Anlaß für das Rön den Zähnen geröntgt word O nein im letzten Monat	e! ntgen len?		

Familiengeschichte

O nein	
e Erläuterung:	
<u>-</u>	Frühgeburt, eine Fehlgeburt, oder einen
O nein	
n Kind mit einem Gebu	ırtsfehler, Erbfehler oder einer Erbkrankho
O nein en Sie bitte an, welches A	alter und welche Störung das Kind hat:
	sergebnisse unterliegt dem Datenschutz. Mi
_	ustimmung, daß meine Schleimhautabstric Speichel chemisch untersucht werden dar
	O nein O nein O nein O nein en Sie bitte an, welches A bung der Untersuchungs terschrift gebe ich die Z

9. Thesen

- 1. Der Mikrokerntest weist Schäden der Schleimhaut des oberen Aerodigestivtraktes auf chromosomaler Ebene zweifelsfrei nach. Das konnte in der vorliegenden Studie bewiesen werden.
- 2. Die epidemiologisch-statistischen Untersuchungen von Maier und Mitarbeitern zur kanzerogenen Wirkung chronischer Tabak- und Lösungsmittelexposition auf die Schleimhaut des oberen Aerodigestivtraktes konnten experimentell mit Hilfe des Mikrokerntests bestätigt werden. Die Schädigungen durch die exogenen Noxen Tabak und Lösungsmittel konnten am genetischen Endpunkt dargestellt werden.
- 3. Der Tabakkonsum stellt die wichtigste Einflußgröße auf die Mikrokernrate dar. Es zeigte sich eine hoch signifikante positive Korrelation von Tabakkonsum und Mikrokernrate. Alle weiteren untersuchten Arbeitsplatz- und Umweltnoxen zeigten keinen Einfluß auf die Mikrokernrate. Eine Ausnahme bildet die chronische Exposition von Lösungsmitteln, bei der eine signifikante Einflußnahme auf die Mikrokernrate mit schwach positiver Korrelation nachgewiesen werden konnte.
- 4. Die Theorie einer Feldkanzerisierung, die von Slaughter und Mitarbeitern beschrieben wurde, konnte ebenfalls mit Hilfe des Mikrokerntests auf zytologischer Ebene nachgewiesen werden. Die Mundschleimhautabstriche wurden unabhängig vom Primärtumor, makroskopisch mindestens 2 cm vom Prozeß entfernt, entnommen. Bei den Tumor- und Leukoplakiepatienten zeigte sich eine signifikant höhere Rate an Mikrokernen im Mittel als bei den Probanden.
- 5. Bei mittlerer Exposition von Tabak und Alkohol (allein und in Verbindung), ließ sich bei den Tumor- und Leukoplakiepatienten eine signifikant höhere Mikrokernrate gegenüber den Probanden feststellen. Die Ursache dafür könnte in der unterschiedlichen Suszeptibilität von Patienten und gesunden Probanden zu finden sein.
- 6. Die Mikrokernraten von linker und rechter Wangeninnenseite zeigten keinen signifikanten Unterschied. Dies unterstützt die These einer Feldkanzerisierung im Bereich der Schleimhaut des oberen Aerodigestivtraktes.
- 7. Wir schlußfolgern aus dem nicht signifikanten Unterschied der Mikrokernfrequenzen zwischen linker und rechter Wangeninnenseite, daß die Entnahme des Abstriches einer Wangeninnenseite genügt, um die Mikrokernrate eines Probanden auf 1000 Mundschleimhautzellen zuverlässig bestimmen zu können.
- 8. Die Ergebnisse zur Berechnung des Risikos für einen Probanden mit Zigarettenabusus an einem Kopf-Hals-Karzinom zu erkranken, stimmen mit denen von Maier und Mitarbeitern in etwa überein. Maier et al berechneten ein 5,6-fach bis 9,1-fach erhöhtes Risiko bei Tabakkonsum von 5-50 Packungsjahren, an einem Kopf-Hals-Karzinom zu erkranken (Maier et al. 1991). In unserer Studie ließ sich ein 8,04-fach erhöhtes Risiko an einem Kopf-Hals-Karzinom zu erkranken feststellen, wenn ein Proband mit Zigarettenabusus den Wert von 19,5 Mikrokernen auf 1000 Schleimhautzellen überschreitet.

Lebenslauf

Name: Hofmann

Vorname: Albrecht Michael
Geburtsdatum: 28.04.1970
Geburtsort: Leipzig
Nationalität: deutsch

Schulbildung

1976 – 1986 Grundschulausbildung Leipzig / Halle 1986 – 1988 Erweiterte Oberschule (Abitur)

Wehrdienst

11/88-4/90 Bausoldat der NVA in Saßnitz und den Buna Werken

Studium und ärzliche Weiterbildung

1990 – 1997 Studium der Humanmedizin an der Martin-Luther-Universität Halle

Famulaturen

- 1993 Innere Medizin am Evangelischen Krankenhaus in Saarbrücken
- 1994 Kinderchirurgie am Ostschweizerischen Kinderspital St. Gallen
- 1994 Innere Medizin Praxis Dr. E. Kanig Bautzen
- 1995 Klinik für Hals- Nasen- Ohrenkrankheiten, Gesichts- und Halschirurgie der Martin-Luther-Universität Halle

Praktisches Jahr

Jan.-Mai 1996 Klinik für Hals- Nasen- Ohrenkrankheiten, Gesichtsund Halschirurgie der Martin-Luther-Universität Halle

Mai-Aug. 1996 Innere Abteilung des St. Elisabeth Krankenhauses Halle

Sep.-Dez. 1996 Kinderchirurgische Abteilung des Ostschweizerischen Kinderspitals St. Gallen

ärztliche Weiterbildung

1997 – 1998 "Arzt im Praktikum" an der Klinik für Hals- Nasen-Ohrenkrankheiten, Gesichts- und Halschirurgie der Martin-Luther-Universität Halle seit 3/99 Assistenzarzt der Klinik für Hals- Nasen- Ohrenkrankheiten, Gesichts- und Halschirurgie der Martin-Luther-Universität Halle

Albrecht Hofmann

Erklärung

Hiermit erkläre ich an Eides statt, daß die vorliegende Dissertation von mir selbstständig und nur unter Verwendung der angegebenen Hilfsmittel erstellt wurde. Die Arbeit wurde in der Klinik für Hals-Nasen-Ohrenkrankheiten, Gesichts- und Halschirurgie der Martin-Luther-Universität Halle im Zeitraum von 1994 bis 1999 unter der wissenschaftlichen Betreuung von Herrn Prof. Dr.med. A. Berghaus¹, Frau Dr. Grummt² und Frau Dr. Lautenschläger³ angefertigt.

Die Dissertationsschrift wurde an keiner anderen Institution bzw. an keiner anderen Medizinischen Fakultät eingereicht.

Vorträge:

Jahresversammlung der Deutschen Gesellschaft für Hals-Nasen-Ohren-Heilkunde, Kopf- und Halschirurgie e.V. 1997 in Nürnberg Vortrag mit Poster zum Thema: "Quantitativer Nachweis von Mikrokernen an Schleimhautproben bei Patienten mit Kopf-Hals-Karzinomen und präneoplastischen Veränderungen"

Jahresversammlung der Deutschen Gesellschaft für Hals-Nasen-Ohren-Heilkunde, Kopf- und Halschirurgie e.V. 1998 in Hannover Vortrag mit Poster zum Thema: "Evaluierung chromosomaler Schäden der Schleimhaut des oberen Aerodigestivtraktes mit Hilfe des Mikrokerntests"

_

¹ Klinik für Hals-Nasen-Ohrenkrankheiten, Gesichts- und Halschirurgie der Martin-Luther-Universität Halle

² Forschungsstelle Bad Elster des Bundesumweltamtes

³ Institut für Medizinische Epidemiologie, Biometrie und Medizinische Informatik der Martin-Luther-Universität Halle

Danksagung

Herrn Prof. Dr. Berghaus danke ich für Überlassung dieses Themas.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Dr. Bloching, der durch wesentliche Anregungen am Zustandekommen dieser Studie als mein Betreuer einen großen Anteil hat.

Des Weiteren danke ich Frau Dr. Grummt und ihren Mitarbeitern von der

Forschungsstelle Bad Elster, die mir bei der Durchführung und Auswertung der Tests hilfreich zur Seite standen.

Für die Beratung bei der statistischen Datenanalyse bedanke ich mich besonders bei Frau Dr. Lautenschläger vom Institut für Medizinische Epidemiologie, Biometrie und Medizinische Informatik der Martin-Luther-Universität Halle.

Der Laboringeneurin Frau Pietz und der Medizinisch Technischen Assistentin Frau Wolfsteller danke ich für die Unterstützung bei der Behandlung der Schleimhautabstriche und die mir gewährten großzügigen Arbeitsbedingungen.

Die Untersuchung erfolgte mit Genehmigung der Ethikkommision der Martin-Luther-Universität Halle. Mit seiner Unterschrift gab der Proband die Zustimmung zur Untersuchung seiner Schleimhautabstriche und wurde über die Handhabung der Untersuchungsergebnisse, die dem Datenschutz unterliegen, informiert.