

Stickstoffmonoxid

MAK-Wert (2009)	0,5 ml/m³ (ppm) \pm 0,625 mg/m³
Spitzenbegrenzung (2009)	Kategorie I, Überschreitungsfaktor 2
Hautresorption	–
Sensibilisierende Wirkung	–
Krebserzeugende Wirkung	–
Fruchtschädigende Wirkung (2009)	D
Keimzellmutagene Wirkung	–
BAT-Wert	–
Synonyma	Stickstoffoxid Stickoxid
Chemische Bezeichnung	Stickstoffmonoxid
CAS-Nr.	10102-43-9
Formel	NO
Molmasse	30,01 g/mol
Schmelzpunkt	–163,6 °C (WHO 1997)
Siedepunkt bei 1013 hPa	–151,8 °C (ECB 2000; WHO 1997)
Wasserlöslichkeit bei 25 °C	94,9 g/l (ber.) (SRC 2008)
Henry-Konstante bei 25 °C	0,000102 atm \times m ³ /mol (ber.) (SRC 2008)
log K_{ow}	0,1 (ber.) (SRC 2008)
1 ml/m³ (ppm) \pm 1,25 mg/m³	1 mg/m³ \pm 0,80 ml/m³ (ppm)

Die vorliegende Begründung basiert im Wesentlichen auf bereits veröffentlichten Zusammenstellungen toxikologischer Daten (ACGIH 2001; ECB 2000; WHO 1997) und bewertungsrelevanter Primärliteratur.

Stickstoffmonoxid (NO) am Arbeitsplatz

Bei der technischen Herstellung von Salpetersäure tritt NO als Zwischenprodukt auf und wird zusammen mit Stickstoffdioxid (NO₂) zur Herstellung von Nitriten verwendet. Reinstes NO wird als Prüfgas zur Kalibrierung von Messgeräten eingesetzt. Medizinisch wird NO in der Intensivmedizin bei verschiedenen Formen akuten Lungenversagens verwandt, so beispielsweise zur Behandlung von Patienten mit COPD („chronic obstructive pulmonary disease“) oder Neugeborenen mit pulmonalem Hypertonus,

2 Stickstoffmonoxid

indem es der Atemluft des beatmeten Patienten beigemischt wird. Im Kohlebergbau werden Expositionskonzentrationen für Fahrer dieselbetriebener Fahrzeuge, Einschienenhängebahnfahrer und Sprengbeauftragte von 0,8 bis 1,4 ml NO/m³ gemessen. In einer Stickstoff-Düngemittel-Fabrik waren Arbeiter gegen $\leq 0,9$ ml NO/m³ exponiert. Im Kalibergbau werden Konzentrationen nach personenbezogenen Messungen von im Mittel 1,4–1,7 ml NO/m³ angegeben (siehe Kapitel 4.2).

NO in der Umwelt

NO-Konzentrationen (8-Stunden-Durchschnittswert) von 0,12–0,16 ml/m³ wurden in einer Region in Südkalifornien gemessen. Infolge von Kochen mit Gas treten Spitzenkonzentrationen von ca. 0,4 ml/m³ (24-Stunden-Durchschnittswert) und im Mittel von ca. 0,11 ml/m³ auf (Schlesinger 1992).

Die Hintergrundbelastung betrug an verkehrsreichen Straßen in Nordrhein-Westfalen 2005 im Jahresmittel ca. 0,06 ml NO/m³. Der Jahresmittelwert ist von 1990 bis 2005 von ca. 0,12 ml/m³ auf 0,06 ml/m³ kontinuierlich gesunken. Die Konzentration von NO₂ (0,03 ml/m³) ist dagegen im Zeitraum von 1990–2005 konstant geblieben. Zur NO₂-Belastung tragen die Stickstoffdioxidemissionen direkt und NO nach chemischer Umwandlung in NO₂ bei. Dabei stehen die Konzentrationen von NO, NO₂ und Ozon in einem Gleichgewicht („Photochemisches Gleichgewicht“), welches sich vor allem in Abhängigkeit von der Sonneneinstrahlung und der Temperatur ändert. NO aus Kraftfahrzeugen reagiert mit Ozon zu NO₂ (Lahl 2008).

Stabilität von NO

Der Oxidation von eingeatmetem NO zu NO₂ in der Lunge wird keine bedeutende Rolle zugeschrieben (Mercer 1999). Die Halbwertszeit von NO in Gegenwart von Sauerstoff ist invers proportional zur NO-Konzentration, da zwei NO-Moleküle mit einem O₂-Molekül zusammentreffen müssen ($2 \cdot \text{NO} + \text{O}_2 \rightarrow 2 \text{NO}_2$). Dadurch beträgt die Halbwertszeit von 1 μM NO in Wasser 10 Minuten, von 100 μM NO jedoch nur 6 Sekunden (Beckman und Koppenol 1996). Bei bis zu 80 ml NO/m³ Luft (= ca. 160 nM in Wasser, siehe Abschnitt 3) wurde eine Halbwertszeit von 2,5 Stunden angegeben (Higgenbotam 1993).

1 Allgemeiner Wirkungscharakter

NO wird beim Menschen endogen gebildet. Inhaliertes NO gelangt über die Nase und den oberen Respirationstrakt in die terminalen Atemwege und wird überwiegend in Form von Nitrat und Harnstoff über den Urin ausgeschieden. Tierexperimentelle Studien zeigen, dass es an den terminalen Atemwegen zu Gewebeschädigungen und zu emphysemähnlichen Veränderungen kommt. Bei Ratten führt die wiederholte nahezu kontinuierliche neunwöchige Exposition gegen 0,5 ml NO/m³ mit zweistündigen Spitzen von 1,5 ml/m³ zu strukturellen Veränderungen in der Lunge, wie fokale Degeneration der Zellen des Interstitiums, der interstitiellen Matrix und der Bindegewebsfasern sowie vermehrte Lücken in den alveolären Septen. Eine Zunahme an Typ-II-Epithelzellen und Atemwegsmakrophagen wird bei Ratten nach sechswöchiger, nahezu kontinuierlicher Exposition ab Konzentrationen von 2 ml NO/m³ beobachtet. Bei Proban-

den ist nach zweistündiger Exposition gegen 1 ml NO/m³ eine signifikant verringerte spezifische Leitfähigkeit der Atemwege aufgetreten, die aber noch im Normbereich liegt.

Systemisch wirkt NO vasodilatatorisch und bewirkt beim Menschen nach dreistündiger Exposition in Konzentrationen von 128 ml/m³ eine Bildung von etwa 4% Methämoglobin (MetHb).

NO wirkt in vitro in Bakterien und Säugerzellen mutagen. In der einzigen In-vivo-Studie, bei der Lungenzellen behandelte Ratten ex vivo kultiviert und untersucht worden sind, werden Genmutationen bei einer hohen Konzentration von 27 ml NO/m³ beobachtet, allerdings ist die Ex-vivo-Behandlungsmethode ungewöhnlich und als solche nicht validiert. Für die mutagenen Wirkungen könnten allerdings auch andere Stickoxide verantwortlich sein, deren Entstehung bei sehr geringen NO-Konzentrationen im physiologischen Bereich (< 1 µM) an Bedeutung verliert.

In einer chronischen Inhalationsstudie an weiblichen Mäusen tritt am Zielorgan Lunge keine erhöhte Tumorinzidenz im Vergleich zur Kontrolle auf.

Es liegen keine Untersuchungen zur entwicklungsstoxischen oder sensibilisierenden Wirkung von NO vor.

2 Wirkungsmechanismus

NO wirkt als diffundierbares „Messenger“-Molekül in verschiedenen Geweben. Mathematische Modelle erlauben dabei den Schluss, dass NO – von einer punktförmigen Quelle für einige Sekunden freigesetzt – in biologischen Systemen etwa 200 µm diffundieren kann. Aufgrund der sehr schnellen Diffusion spielt die Halbwertszeit von 0,5–5 Sekunden kaum eine Rolle (Wood und Garthwaite 1994).

Reaktionen von NO in der Zelle

NO ist ein freies Radikal, das ein ungepaartes Elektron besitzt. Gegenüber nicht radikalischen Verbindungen ist es nur mäßig reaktiv (vergleichbar mit molekularem Sauerstoff). NO kann leicht mit anderen radikalischen Verbindungen wie Superoxid-, Lipidalkoxy- und Peroxylradikalen sowie mit den metallischen Zentren von Metalloproteinen reagieren. NO reagiert bei physiologisch relevanten Konzentrationen nur sehr langsam mit Sauerstoff zu NO₂ und Distickstofftrioxid (N₂O₃). Indem NO mit radikalischen Verbindungen reagiert, kann es die Lipidperoxidation beenden und besitzt damit eine antioxidative Wirkung. Andererseits wird NO bei einem Überschuss oder bei äquimolaren Konzentrationen an Superoxid, das zusammen mit NO von endothelialen Zellen freigesetzt wird, zu Peroxynitrit umgesetzt. Peroxynitrit (ONOO⁻) wirkt stark oxidierend und führt zu Lipidperoxidation sowie Zellschädigung und trägt zur genotoxischen Wirkung von NO bei. Das Verhältnis von NO zu Superoxid ist daher entscheidend für die Toxizität von NO (Violi et al. 1999).

Das entstehende N₂O₃ reagiert mit Aminogruppen oder Thiolgruppen von Proteinen zu Nitrosaminen oder S-Nitrosothiolen. Wenn diese nitrosativen Addukte in biologischen Systemen gebildet werden (NO-Konzentrationen > 1 µM; Ridnour et al. (2008)), bezeichnet man das als „nitrosativen Stress“. Somit trägt auch die Bildung von N₂O₃ zur genotoxischen Wirkung von NO bei. Niedrige intrazelluläre Konzentrationen (< 1 µM)

4 Stickstoffmonoxid

liegen in nicht „gestressten“ Zellen mit normaler physiologischer Funktion vor (Bishop und Anderson 2005).

NO bewirkt eine Aktivierung der löslichen Guanylatzyklase schon bei Konzentrationen ab 5 nM (Beckman und Koppenol 1996; Thomas et al. 2004). Diese wiederum spaltet Guanosintriphosphat in zyklisches Guanosinmonophosphat (cGMP) und anorganisches Pyrophosphat. Eine Erhöhung der cGMP-Spiegel führt zu einem Absinken der intrazellulären Calciumkonzentration. Ferner reagiert NO mit Thiol-assoziiertem Eisen in Enzymen. Dies wäre ein denkbarer Mechanismus für die Zytotoxizität von NO. In vitro konnte gezeigt werden, dass der NO-Donor Natrium-Nitroprussid in der Lage ist, das Eisen von Ferritin zu mobilisieren. Es ist vorstellbar, dass NO den Arachidonsäure-Metabolismus über eine Interferenz mit Eisen moduliert (WHO 1997).

Wirkungsmechanismen von NO im Organismus

Atemtrakt

NO wird im Nasenrachenraum endogen freigesetzt (20,3 nmol NO/min bei Nichtrauchern und 15 nmol NO/min bei Rauchern) und führt zu einer Inhalation von 0,07–0,13 ml NO/m³ (siehe Abschnitt 3.1). Es wird postuliert, dass die Inhalation von NO bei Nasenatmung einen verminderten Gefäßwiderstand in der Lunge und damit eine verbesserte Sauerstoffaufnahme im Vergleich zur Mundatmung bewirkt. Nachgewiesen wurde diese Wirkung bei Patienten mit pulmonaler Hypertonie (Gerlach et al. 1994; Lundberg und Weitzberg 1999).

In den Nasennebenhöhlen gesunder Probanden wurden sehr hohe NO-Konzentrationen (2,5–10 ml/m³) gemessen (siehe Abschnitt 3.1). Verantwortlich für diese hohen NO-Konzentrationen ist eine induzierbare NO-Synthase in den Epithelzellen der Nasennebenhöhlen. Mehrere Gründe sprechen dafür, dass es sich hierbei um einen Abwehrmechanismus gegen Bakterien und Viren handelt. Tiere, die dieses Enzym nicht besaßen, waren wesentlich anfälliger für bakterielle und virale Entzündungen im Nasenraum als Tiere mit diesem Enzym. Patienten mit Nasennebenhöhlenentzündung hatten wesentlich niedrigere NO-Konzentrationen (im Bereich von 0,05 ml/m³). Es konnte gezeigt werden, dass bei Patienten mit Sinusitis die induzierbare NO-Synthase stark inhibiert war, was die niedrige NO-Konzentration erklärt. Man geht davon aus, dass Personen mit niedriger NO-Konzentration in den Nasennebenhöhlen anfälliger für Sinusitis sind als Personen mit hohen NO-Konzentrationen. Viele pathogene Bakterien für die Atemwege reagieren sensitiv auf NO. Die mukoziliäre Clearance wird durch NO stimuliert (Lundberg 2008).

Blut- und Gefäßsystem

Eine Freisetzung von NO durch die endotheliale NO-Synthase, die an der Innenseite von Blutgefäßen lokalisiert ist, bewirkt indirekt, durch Erhöhung des cGMP-Spiegels, die Relaxation der glatten Gefäßmuskulatur in Darm und Lunge, was zu einer Vasodilatation und damit zu einer Absenkung der Nachlast des Herzens und des Blutdrucks führt (Arnal et al. 1999; Dejam et al. 2004).

NO als Neurotransmitter

Die neuronale NO-Synthase ist im Gehirn nachweisbar. Dort übernimmt NO die Funktion eines Neurotransmitters, wobei es unter anderem die Synthese von cGMP erhöht (Garthwaite 2008). Endogen gebildetes NO wirkt im zentralen und peripheren Nervensystem hemmend auf die Neurotransmission und bewirkt damit z. B. eine Erschlaffung der glatten Muskulatur im Darm und in der Lunge.

Nitrosativer Stress bzw. oxidativer Stress

Bei chronischer Entzündung und damit einer anhaltenden hohen Konzentration von NO in der Zelle könnte es, z. B. über die Bildung von Peroxynitrit, auch zu einer mutagenen Wirkung von NO kommen. Eine DNA-Schädigung aufgrund einer Desaminierung wurde in zellfreien Systemen, Bakterien und Makrophagen nachgewiesen (Lala und Chakraborty 2001; Wink et al. 1991), ebenso Transition oder Transversion in Plasmid-DNA (Lala und Chakraborty 2001). Indirekt kanzerogen könnte NO über die Inaktivierung von DNA-Reparatur-Proteinen, z. B. Alkyltransferase oder DNA-Ligase, wirken sowie über die Inaktivierung des Tumor-Suppressor-Proteins p53 (Calmels et al. 1997; Lala und Chakraborty 2001). Damit nimmt NO indirekt auch Einfluss auf die Zellzykluskontrolle.

Methämoglobinbildung

Da NO elektrisch neutral ist, diffundiert es frei durch Zytosol und Membranen (Beckman und Koppenol 1996). Es gelangt unverändert durch die Lunge in die Blutbahn, wird von den Erythrozyten aufgenommen und führt zur Bildung von Nitrosylhämoglobin. MetHb wird aus Nitrosylhämoglobin in Gegenwart von Sauerstoff durch die Oxidation des zwei- zum dreiwertigen Eisen gebildet (Maeda et al. 1987).

Eine Übersicht über die Reaktionen von NO zeigt Abbildung 1.

Wirkungsmechanismus von NO im Vergleich zu NO₂

Im Gegensatz zu NO₂ ist NO kein Reizgas. Der Oxidation von eingeatmetem NO zu NO₂ in der Lunge wird keine bedeutende Rolle zugeschrieben, da nach Einatmung NO schneller ausgewaschen als oxidiert wird (Mercer 1999).

Für akute toxische Wirkungen stehen beim NO₂ mehr emphysemartige Veränderungen, bei NO eher die vasodilatatorischen Effekte und bei hohen Konzentrationen die MetHb-Bildung im Vordergrund.

Im Tierexperiment führen jedoch sowohl NO als auch NO₂ (siehe Begründung „Stickstoffdioxid“ 2003, 2010) zu Lungenveränderungen mit Schädigungen von Typ-I-Zellen und Zilien-tragenden Epithelzellen, die durch weniger sensitive Zellen wie Typ-II-Zellen ersetzt werden. Auch werden mit beiden Stoffen Entzündungserscheinungen beobachtet. Ursache sind bei beiden Substanzen Zellschädigungen insbesondere durch oxidativen Stress (siehe „Reaktionen von NO“).

6 Stickstoffmonoxid

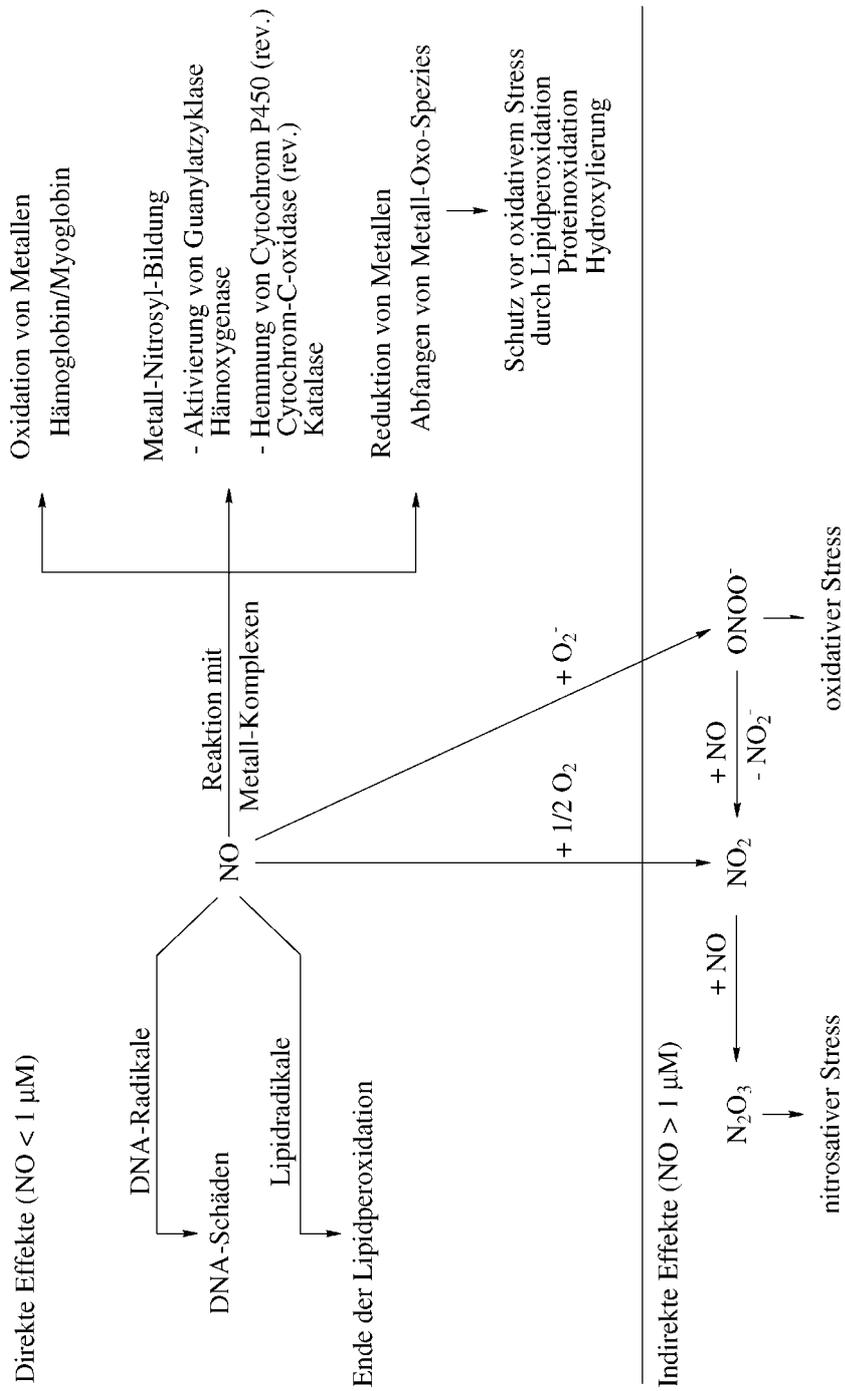


Abb. 1. Reaktionen von NO (nach Thomas et al. 2008; Wink und Mitchell et al. 1998)

3 Toxikokinetik und Metabolismus

Aus dem Verteilungskoeffizient von NO zwischen Luft und Wasser ergibt sich rechnerisch, dass 1 ml NO/m³ in der Gasphase einer Gleichgewichtskonzentration von 1,6 bzw. 2,0 nM in Wasser entspricht (Dweik et al. 1998; Jeh und Georg 2002).

3.1 Endogene Bildung von NO

NO wird endogen durch NO-Synthasen aus L-Arginin unter Verbrauch von Sauerstoff und NADPH gebildet. Konzentrationen von endogen gebildetem NO reichen von mehr als 1 nM in Endothelzellen bis zu mehr als 1 µM in aktivierten Makrophagen (Thomas et al. 2008). Bisher sind zwei konstitutive, eine neuronale und eine endotheliale, eine induzierbare sowie mitochondriale NO-Synthasen bekannt. Die induzierbare NO-Synthase wird hauptsächlich bei entzündlichen Prozessen oder Infektionen exprimiert und vermag sehr viel mehr NO freizusetzen als die konstitutiven Formen. Die konstitutiven Formen kommen hauptsächlich in Endothelzellen, Neuronen, Neutrophilen und Mastzellen vor. Die induzierbare Form ist bisher in Makrophagen, Kupferzellen, Hepatozyten, glatten Muskelzellen, Chondrozyten, Endothelzellen und Fibroblasten nachgewiesen worden (Heß et al. 2000; Huot und Hacker 1995). Die Bildung von NO in Mitochondrien erfolgt über die mitochondriale NO-Synthase und ist ein Stoffwechselmodulator für Zellproliferation, Apoptose und Regulation des Sauerstoffverbrauchs. NO hemmt in niedrigen Konzentrationen (50–100 nM) reversibel die Cytochrom-c-Oxidase. Abhängig von NO-Konzentrationen und antioxidativen Schutzmechanismen akkumuliert mehr oder weniger Wasserstoffperoxid (H₂O₂) im Zytosol oder im Zellkern. Mitochondriale NO-Synthasen werden in der Leber, im Thymus und im Gehirn von Ratten beschrieben (Carreras und Poderoso 2007).

Durch die endogene Bildung von NO ist beim Menschen natürlicherweise NO im Atemtrakt und in der Ausatemluft messbar. Beim gesunden Menschen wird die Konzentration an NO in der Ausatemluft mit 0,008–0,02 ml/m³ angegeben. Als Messmethode wurde die Bestimmung von NO über Gaschromatographie-Massenspektrometrie verwendet (Gustafsson et al. 1991; Heutelbeck et al. 2007).

Bei je zehn gesunden Rauchern und Nichtrauchern wurde NO in der Luftröhre, im Nasenrachenraum und im Mund während der Einatmung und Ausatmung getrennt gemessen. Die NO-Konzentrationen im Mund waren sehr gering. Während der Mundatmung betragen die Konzentrationen im Nasenrachenraum 0,65 ml NO/m³ für Nichtraucher und 0,49 ml NO/m³ für Raucher. Beim Einatmen durch die Nase wurden Konzentrationen zwischen 0,099 und 0,112 ml NO/m³ bei Nichtrauchern im Nasenrachenraum gemessen. Beim Ausatmen betragen diese 0,072 bis 0,086 ml NO/m³. Es kann nicht ausgeschlossen werden, dass auch im unteren Atemtrakt gebildetes NO wieder abgeatmet wird. 20,3 nmol NO/min werden bei Nichtrauchern und 15 nmol NO/min bei Rauchern im Nasenrachenraum synthetisiert. Die Autoren geben an, dass dies zu einer Inhalation von 0,07–0,13 ml NO/m³ führt. Die NO-Konzentrationen wurden mit Hilfe eines Chemiluminometers bestimmt (k. w. A.) (Gerlach et al. 1994; Lundberg und Weitzberg 1999).

In einer weiteren Studie wurden bei vier gesunden Nichtrauchern NO-Konzentrationen in der Nase im Bereich von 0,21–0,3 ml/m³ gemessen (Lundberg et al. 1994).

8 Stickstoffmonoxid

Sehr hohe NO-Konzentrationen, im Bereich von 2,5 bis maximal 10 ml/m³, sind auch in den Nasennebenhöhlen von gesunden Probanden gemessen worden. Gleichzeitig wurde bei diesen Probanden eine NO₂-Konzentration von 0,16 ml/m³ bestimmt (Deja et al. 2003; Gilian et al. 2002; Lundberg et al. 1995).

3.2 Aufnahme, Verteilung, Ausscheidung

Inhalative Aufnahme

Tier

Nach Exposition von Ratten gegen ca. 170, 330 oder 1080 mg/m³ (138, 270 oder 880 ml/m³) wurden 90%, 60% bzw. 20% der inhalierten NO-Konzentration aufgenommen. Die relative Abnahme der Resorption wird dabei auf einen expositionsbedingten Rückgang der Atmung zurückgeführt (WHO 1997). Bei Hunden, die gegen Fahrzeugabgase exponiert worden waren, wurden 73% des enthaltenen NO durch den Nasenrachenraum entfernt, im Vergleich dazu 90% des enthaltenen NO₂. Wie bei NO₂ sind die Zielorgane die terminalen Atemwege, wobei NO im Vergleich zu NO₂ noch geringer wasserlöslich ist. Dadurch erreichen noch größere Mengen die pulmonale Region, wo eine Diffusion ins Blut und eine Reaktion mit Hämoglobin erfolgen kann (WHO 1997). In einer Metabolismusstudie an Ratten wurden nach einer 123-minütigen Exposition gegen 143 ml radioaktiv markiertes ¹⁵NO/m³ ca. 55% der Radioaktivität im Urin ausgeschieden (Yoshida und Kasama 1987).

Mensch

NO wird vom Menschen bei Exposition gegen 0,32–4,88 ml NO/m³ und bei normaler Atmung zu 85–92% und bei Atmung nach körperlicher Anstrengung zu 91–93% aufgenommen (WHO 1997).

Bei den meisten der im Folgenden beschriebenen Studien erfolgte die Messung der NO-Konzentration in der Luft über Chemilumineszenz nach Reaktion mit Ozon, sofern nicht anders angegeben.

Sechs männliche Probanden (30–38 Jahre alt, 67–106 kg KG) wurden drei Stunden lang einer inhalativen NO-Belastung von 100 ml/m³ ausgesetzt. Durch den Vergleich der inhalativen und der exhalierten NO-Konzentration wurde eine pulmonale Retention von 64% ermittelt. Dadurch wurde eine mittlere NO-Aufnahmerate von 0,49 ± 0,08 ml/min errechnet, was nach Anwendung des idealen Gasvolumens einer Rate von 0,61 mg/min entspricht (Young et al. 1996). Demzufolge ergibt sich bei einer NO-Aufnahmerate von 0,61 mg/min (bei 100 ml/m³) nach dreistündiger Exposition eine kumulative inhalative Aufnahme von 109,8 mg NO.

In einer weiteren Studie wurde an einer weiblichen und vier männlichen gesunden Personen (30–36 Jahre alt) der MetHb-Spiegel nach dreistündiger inhalativer Exposition gegen 32, 64, 128 oder 512 ml NO/m³ untersucht (Young et al. 1994). Bei 128 ml/m³ ergibt sich eine kumulative inhalative Aufnahme von 140,5 mg NO.

In Tabelle 1 sind Angaben zur NO_x-Konzentration im Plasma bei unterschiedlichen Berufsgruppen und Patienten zusammengestellt. Zur Bestimmung der NO_x (NO₂⁻, NO₃⁻)-Konzentration wird zu Blutplasma eine gesättigte Vanadiumchlorid-Lösung gegeben, die Nitrit und Nitrat zu NO reduziert. Anschließend reagiert das NO mit Ozon zu NO₂, das mit Hilfe von Chemilumineszenz detektiert wird.

Tab. 1. Angaben zu NO_x-Konzentrationen im Plasma bei unterschiedlichen Personengruppen

Personengruppe (Anzahl)	NO _x (µM)	NO ₂ ⁻ (µM)	Literatur
Taxifahrer			Chuang et al. 2003
Raucher (55)	47,9±9,7		
Nichtraucher (40)	42,4±6,0		
Büroangestellte			
Raucher (32)	43,1±5,8		
Nichtraucher (43)	37,7±7,5		
Patienten			
Patienten mit Leberzirrhose (k.A.)	42,2±26,9		
Patienten mit hepatozellulären Karzinomen (k.A.)	49,4±49,1		
Patienten mit chronischer Hepatitis C (k.A.)	32,3±8,9		
Gesunde (k.A.)	35,5±15,1		
Fussballspieler (8), Nichtraucher ohne Belastung		41,4±6,1	Franco et al. 2001
nach 10 min Ergometer		56,0±9,9	
Personen mit vorwiegend sitzender Beschäftigung (24), Nichtraucher			
ohne Belastung (Alter 22±3 Jahre)		23,8±5,7	
ohne Belastung (Alter 66±6 Jahre)		22,2±6,1	
nach 10 min Ergometer (Alter 22±3 Jahre)		44,7±6,5	
nach 10 min Ergometer (Alter 66±6 Jahre)		45,9±9,8	

Mehr als 70% des inhalierten NO wurden beim Erwachsenen in Form von Nitrat mit dem Urin ausgeschieden. Nitrat wird durch die Nieren aus dem Plasma mit einer Geschwindigkeit entfernt, die annähernd der glomerulären Filtration entspricht (FDA 2001).

Dermale Aufnahme

Zur dermalen Aufnahme liegen keine Untersuchungen vor. Ausgehend von der Wasserlöslichkeit von 94,9 g/l und dem log K_{OW} von 0,1 ergeben sich für eine gesättigte wässrige NO-Lösung mit den Modellen von Fiserova-Bergerova et al. (1990), Guy und Potts (1993) sowie Wilschut et al. (1995) dermale Fluxe von 0,903; 0,133 bzw. 0,538 mg/cm² und Stunde. Das würde bei einer einstündigen Exposition von beiden Händen und Vorderarmen (ca. 2000 cm²) einer Gesamtaufnahme von 1805, 267 bzw. 1075 mg entsprechen.

Aus der Henry-Konstante kann abgeschätzt werden, dass sich bei einer Exposition gegen 1 ml/m³ eine Gleichgewichtskonzentration von 0,3 mg/l in einem wässrigen Medium einstellt. Mit dieser Konzentration liegt die dermale Aufnahme auch bei 8-stündiger Ganzkörperexposition nach den obigen Modellen unter 1 mg und beträgt damit weniger als ein Hundertstel der Menge, die noch nicht zu einem kritischen MetHb-Spiegel (5%) nach Inhalation führte (siehe Abschnitt 4.1).

10 Stickstoffmonoxid

NO in der Ausatemluft

NO in der Ausatemluft dient als Marker für chronische und allergische Entzündungen der Atemwege.

Bei 8 nichtrauchenden Bäckern mit einer Mehlstaub-Sensibilisierung wurden signifikant höhere NO-Konzentrationen ($0,05 \pm 0,009 \text{ ml/m}^3$) in der Ausatemluft im Vergleich zu den gesunden Kontrollpersonen ($0,014 \pm 0,003 \text{ ml/m}^3$) gemessen. Bei 10 nichtrauchenden Friseurinnen mit Exposition gegen ein Gemisch aus irritativ wirkenden Arbeitsstoffen wurden keine erhöhten NO-Konzentrationen festgestellt ($0,013 \pm 0,002 \text{ ml/m}^3$) (Barbinova et al. 2007).

Die Konzentration von NO in der Ausatemluft wurde von 186 Beschäftigten in einer Aluminiumgießerei (Gießhalle) mit 40 Kontrollpersonen, beschäftigt in der gleichen Firma außerhalb der Gießhalle, verglichen. Die Konzentration von NO in der Ausatemluft war bei den exponierten Nichtrauchern höher (Median $0,009 \text{ ml/m}^3$; Interquartil-Range: $0,006 - 0,016 \text{ ml/m}^3$) als bei den Kontrollpersonen ($0,0057 \text{ ml/m}^3$; $0,0046 - 0,0083 \text{ ml/m}^3$). Bei diesen zwei Gruppen unterschieden sich die Spirometrie-Werte und Symptome bezüglich Asthma nicht. Die höchsten Konzentrationen wurden bei den Nichtrauchern mit Asthma, die in der Gießhalle tätig waren, gemessen ($0,021 \text{ ml/m}^3$; $0,019 - 0,041 \text{ ml/m}^3$). Die Konzentrationen von NO lagen bei den exponierten nichtrauchenden Beschäftigten ohne Asthma-Symptome ($0,0085 \text{ ml/m}^3$; $0,006 - 0,013 \text{ ml/m}^3$) im Bereich der Kontrollpersonen ($0,0057 \text{ ml/m}^3$; $0,0046 - 0,0083 \text{ ml/m}^3$). Die Spirometrie-Werte bei den exponierten Nichtrauchern mit und ohne Asthma-Symptome lagen in der gleichen Größenordnung. Bei Rauchern war ebenfalls kein signifikanter Unterschied in der NO-Konzentration zwischen Exponierten und Nicht-Exponierten feststellbar. Bei den angegebenen Werten handelt es sich um Medianwerte. Es wurde keine signifikante Korrelation zwischen der ausgeatmeten NO-Konzentration und dem gemessenen Gesamtstaub- bzw. den Fluoridkonzentrationen oder der Dauer der Beschäftigung festgestellt (Lund et al. 2000).

In einer Querschnittsstudie wurde bei 246 Beschäftigten in einer Bleicherei und Papierfabrik der Zusammenhang zwischen den Konzentrationen an ausgeatmetem NO und nasalem NO, Erkrankungen der Atemwege und Atopie untersucht.

Atopiker und Nicht-Atopiker ohne Rhinitis oder Asthma wiesen NO-Konzentrationen in gleicher Größenordnung auf. Bei Atopikern mit Asthma oder Rhinitis wurden signifikant erhöhte Konzentrationen an NO im Vergleich zu denen ohne Rhinitis oder Asthma festgestellt. Auch beim Vergleich von an Asthma oder Rhinitis erkrankten Nicht-

Tab. 2. Konzentrationen an ausgeatmetem NO und Erkrankungen der Atemwege bei Atopikern und Nicht-Atopikern (Medianwerte) (Olin et al. 2004)

	Alle (n = 246) [ppb]	Nicht-Atopiker [ppb]	Atopiker [ppb]
ohne Rhinitis oder Asthma (n = 170)	15,8 (11,4–22,4)	15,8 (11,9–21,4)	16,5 (11,3–27,6)
nur Rhinitis (n = 27)	20,6 (14,1–30,8)	19,2 (14,1–22,0)	31,0 ¹⁾ (16,5–50,5)
nur Asthma (n = 49)	22,5 ²⁾ (16–31,2)	18,8 (14,6–26,5)	29,8 ²⁾ (18,2–47,8)

¹⁾ p = 0,06; ²⁾ p = 0,004

Atopikern mit Atopikern atmeten letztere höhere Konzentrationen an NO aus. Die Konzentrationen an NO in der Nase korrelierten nicht mit Symptomen in der Nase oder Atopie (Olin et al. 2004; siehe Tabelle 2).

3.3 Metabolismus

NO reagiert bei physiologisch relevanten Konzentrationen nur sehr langsam mit Sauerstoff zu NO₂ und N₂O₃. Die Halbwertszeit von NO in Gegenwart von Sauerstoff ist invers proportional zur NO-Konzentration, da zwei NO-Moleküle mit einem O₂-Molekül zusammentreffen müssen. Dadurch beträgt die Halbwertszeit von 1 µM NO in Wasser 10 Minuten, von 100 µM NO jedoch nur 6 Sekunden (Beckman und Koppenol 1996). Bei bis zu 80 ml NO/m³ Luft (= ca. 160 nM in Wasser, siehe Abschnitt 3) wurde eine Halbwertszeit von 2,5 Stunden angegeben (Higgenbottam 1993). Neben der Reaktion mit Sauerstoff zu NO₂ und N₂O₃ wird NO mit Superoxid (O₂⁻; bei Überschuss oder äquimolaren Konzentrationen an Superoxid), das zusammen mit NO von endothelialen Zellen freigesetzt wird, zu ONOO⁻ umgesetzt (siehe Abschnitt 2).

Ein kleiner Teil des inhalierten NO reagiert mit Komponenten des Lungengewebes (siehe Abschnitt 2), der größte Teil gelangt jedoch über die Alveolen in das Blut, reagiert dort mit dem Hämoglobin der Erythrozyten und bildet Nitrosylhämoglobin (Yoshida und Kasama 1987).

Nitrosylhämoglobin wird hauptsächlich zu Nitrit (NO₂⁻), Nitrat (NO₃⁻) und MetHb abgebaut. Der größte Teil des Nitrats wird mit dem Urin ausgeschieden, nur ein Teil wird über die Speicheldrüsen in die Mundhöhle abgegeben. Die dort befindlichen Bakterien wandeln es zu Nitrit um. Ein Teil des Nitrits, das den Magen erreicht, wird mit den Proteinen der Nahrung zu Stickstoff umgeformt und entweicht. Das durch Blut und Magen in den Darm gelangte Nitrat wird über die Bildung von Nitrit zu Ammoniak reduziert. Dieser wird reabsorbiert, zu Harnstoff umgewandelt und mit dem Urin ausgeschieden (Yoshida und Kasama 1987).

Die MetHb-Bildung aus Nitrosylhämoglobin verläuft schneller als die MetHb-Reduktion zur Eisen(II)-Form und die Dissoziation von Nitrosylhämoglobin mit der Folge, dass der MetHb-Spiegel im Blut immer größer ist als der Nitrosylhämoglobin-Spiegel. Dies konnte an Ratten gezeigt werden, die eine Stunde lang gegen 100 oder 200 ml NO/m³ exponiert wurden. Nach 30–60 Minuten wurde für Nitrosylhämoglobin ein Fließgleichgewicht erreicht, gefolgt von einem Fließgleichgewicht für MetHb. Die Konzentrationen beider Verbindungen nahmen nach der Exposition mit einer Halbwertszeit von ca. 20 Minuten ab (Maeda et al. 1987).

In der in Abschnitt 3.2 erwähnten Metabolismusstudie an Ratten, bei der ca. 55% der Radioaktivität des inhalierten ¹⁵NO mit dem Urin ausgeschieden wurden, lagen 75% davon als NO₃⁻ und 24% als Harnstoff vor (Yoshida und Kasama 1987).

4 Erfahrungen beim Menschen

Bei den meisten in diesem Abschnitt aufgeführten Studien erfolgte die Messung der NO-Konzentration über Chemilumineszenz nach Reaktion mit Ozon, wenn nicht anders angegeben.

12 Stickstoffmonoxid

4.1 Einmalige Exposition

Die Geruchsschwelle liegt zwischen 0,3 und 1 ml/m³ (ACGIH 2001).

Inhalierete NO-Konzentrationen über 6 mg/m³ (5 ml/m³) können zu Vasodilatation im Lungenkreislauf führen, ohne den systemischen Kreislauf zu beeinflussen (WHO 1997).

191 gesunde Probanden im Alter von 20–50 Jahren wurden 15 Minuten lang gegen NO-Konzentrationen im Bereich von 10–39 ml NO/m³ exponiert. Der Anteil an NO₂ betrug 1–2% der eingeatmeten Konzentration. Es liegen keine Angaben vor, wie viele Probanden gegen welche Konzentrationen exponiert waren. Im Konzentrationsbereich von 10–15 ml NO/m³ trat keine Veränderung des arteriellen Sauerstoff-Partialdrucks auf. Ab 15 ml NO/m³ nahm der arterielle Sauerstoff-Partialdruck um 7 Torr (ca. 9,3 hPa) und ab 20 ml NO/m³ um 8 Torr (ca. 10,6 hPa) ab. Der alveolare Sauerstoff-Partialdruck, der Kohlendioxid-Gasaustausch und der pH-Wert blieben unverändert, ebenso das thorakale Gasvolumen. Die Diffusionskapazität von CO nahm bei Konzentrationen von über 30 ml NO/m³ im Durchschnitt um 0,4 ml/min × Torr (bei Normaldruck) nicht statistisch signifikant ab. Der Atemwegswiderstand stieg statistisch signifikant nach Exposition gegen 20 ml NO/m³ an. Die MetHb-Bildung nahm ab 10 ml NO/m³ zu und sie war ab 15 ml NO/m³ um 0,22% statistisch signifikant erhöht (von Nieding et al. 1973). Acht Nichtraucher im Alter von 19–24 Jahre wurden zwei Stunden gegen 1 ml NO/m³ (0,9–1,1 ml NO/m³) exponiert. Die Konzentration an NO₂ betrug 0,02–0,05 ml NO₂/m³. Während der Exposition traten keine Symptome auf. Bei der Hälfte der Probanden war nach zwei Stunden die spezifische Leitfähigkeit der Atemwege (sG_{aw} ; reziproker Wert des spezifischen Atemwegswiderstands (sR_{aw})) signifikant verringert. Eine Stunde nach Expositionsende war dieser Effekt noch bei zwei Probanden signifikant nachweisbar. Somit treten bereits bei einer Konzentration von 1 ml NO/m³ Effekte auf (Kagawa 1982). Hierbei ist aber zu bedenken, dass ein mittlerer sG_{aw} -Wert von 0,3 (1/(cmH₂O × s)) zusammen mit einem mittleren thorakalen Gasvolumen (TGV) von 3,56 l (der Einfachheit halber gleich der funktionellen Residualkapazität gesetzt) einen spezifischen Atemwegswiderstand von 3,3 cmH₂O × s und einen Atemwegswiderstand von ca. 1 cmH₂O × s/l impliziert. Die Grenze zu pathologischen Werten wird für sR_{aw} bei 12 cmH₂O × s und für R_{aw} bei 3 cmH₂O × s/l angenommen. Eine relative Zunahme von sR_{aw} oder R_{aw} um ca. 10% bleibt daher im Normbereich, wenn die Ausgangswerte nur ca. 30% der Normgrenze betragen. Dies ist um so bedeutsamer, als bekannt ist, dass gerade sehr niedrige Werte von R_{aw} bzw. hohe Werte von G_{aw} bei Gesunden relativ stark schwanken können, zumal der Atemwegswiderstand bei diesen Personen fast ausschließlich zentral bestimmt ist und auch Effekte wie Stimmbandweite etc. eingehen. Aus diesen Gründen werden die beobachteten Effekte nicht als relevante adverse Reaktion des Bronchialsystems gewertet.

Sechs Nichtraucherinnen wurden zwei Stunden gegen ein Gemisch mit Konzentrationen von 0,6 ml NO/m³ und 0,3 ml NO₂/m³ exponiert. Jede halbe Stunde betätigten sich die Probandinnen 15 Minuten auf einem Ergometer mit einer Umdrehungszahl von 50 Umdrehungen/Minute (k. w. A.). Es traten keine Symptome und keine Änderungen der gemessenen Blutparameter auf, auch keine bronchiale Reaktivität. Mögliche minimale funktionale Effekte der Luftwege wurden erwähnt, aber nicht näher beschrieben. Die Autoren weisen darauf hin, dass es der weiteren Abklärung bedarf, ob diese Effekte auch nach kontinuierlicher Exposition oder bei höheren Konzentrationen verstärkt auf-

treten (Kagawa 1990). Da diese Studie nur als Abstract vorliegt, kann sie zur Bewertung nicht herangezogen werden.

Bei neun gesunden Probanden, die durch Einatmen von 12% Sauerstoff in Stickstoff hypoxisch wurden, verhinderte die Inhalation von 49,4 mg NO/m³ (40 ml/m³) den Hypoxie-bedingten Anstieg des Blutdrucks der Pulmonalarterie. Der systemische arterielle Blutdruck blieb unverändert. Untersuchungen zur Lungenfunktion wurden nicht durchgeführt (Frostell et al. 1993; WHO 1997).

Bei einer Frau und vier Männern (30–36 Jahre alt) wurde der MetHb-Spiegel nach dreistündiger inhalativer Exposition gegen 32, 64, 128 und 512 ml NO/m³ untersucht. Die gemessenen MetHb-Spiegel stiegen dabei von 0,64% MetHb im Verlaufe der Expositionszeit konzentrationsabhängig an und lagen bei höheren NO-Inhalationskonzentrationen jeweils höher als bei den niedrigeren. Die berechneten MetHb-Plateau-Spiegel (Plateau-Spiegel von MetHb + MetHb-Spiegel vor Exposition) betragen für die vier Expositionskonzentrationen 1,04; 1,75; 3,75 und 6,93% (Young et al. 1994). Gemessen an einem tolerablen MetHb-Spiegel von 5% ist der systemische NOAEL für NO aufgrund dieser Daten bei 128 ml/m³ eingehalten.

Bei sechs männlichen Probanden, die drei Stunden lang einer inhalativen NO-Belastung von 100 ml/m³ ausgesetzt wurden, wurden mittlere MetHb-Gehalte von 2,65 ± 0,46% ermittelt (Young et al. 1996).

4.2 Wiederholte Exposition

332 Arbeiter einer Stickstoff-Düngemittel-Fabrik waren gegen unterschiedliche Konzentrationen von NO ($\leq 1,1$ mg/m³, entspr. $\leq 0,9$ ml/m³), NO₂ ($\leq 1,3$ mg/m³), NO₃⁻ ($\leq 0,2$ mg/m³) und NH₃ ($\leq 2,8$ mg/m³) exponiert. Die Arbeiter wurden je nach Arbeitsplatzexposition in Gruppen unterteilt. Gemessen wurden im Serum MetHb-Gehalt, Nitrat-, Harnstoff- und Kreatinin-Konzentrationen, und diese wurden mit einer externen Kontrollgruppe verglichen. Die höchsten Nitrat-Werte im Serum traten bei den Arbeitern auf, die gegen die hohen Konzentrationen an Nitrat und Ammoniak exponiert waren. Der Kreatinin-Gehalt im Serum korrelierte mit der NO-Konzentration ($r = 0,87$; $p < 0,05$) und der NO₃⁻-Konzentration ($r = 0,84$; $p < 0,05$). Es konnte bei keiner Gruppe eine Korrelation zwischen der Harnstoff-Konzentration im Serum und der Exposition einer Verbindung in der Einatemluft festgestellt werden. Der MetHb-Gehalt war bei den Arbeitern mit Salpetersäure- und Nitrat-Exposition, die gegen die höchste NO-Konzentration exponiert waren, am größten (Giroux und Ferrieres 1998; siehe Tabelle 3), lag aber mit maximal 0,53% im Normbereich. Die Messung der Stickoxide in der Luft erfolgte über eine molekulare Absorptions-Spektrophotometrie.

In einer Längsschnittstudie wurden bei 402 sowie 438 Arbeitern aus zwei Kalibergwerken Lungenfunktionsmessungen durchgeführt. Nach Ablauf von fünf Jahren wurden 290 sowie 278 Arbeiter nachuntersucht. Die medizinischen Untersuchungen beinhalteten einen standardisierten Fragebogen, eine klinische Untersuchung und die Lungenfunktionsdiagnostik. Die Arbeiter waren gegen eine Vielzahl von Noxen (NO und NO₂, Salzstaub und Dieselruß) exponiert. Die mittleren personenbezogenen Konzentrationen für NO in der Umgebungsluft, gemessen mittels elektrochemischer, direktanzeigender Sensoren, lagen zwischen 1,4 und 1,7 ml/m³, die Schichtmesswerte (95-Perzentil) wurden mit 4,2 und 6,4 ml/m³ angegeben. In dem Beobachtungszeitraum von fünf Jahren

14 Stickstoffmonoxid

Tab. 3. Angaben zur Exposition und zu Serumkonzentrationen von Arbeitern in einer Düngemittel-Fabrik (Giroux und Ferrieres 1998)

Personengruppe (Anzahl)	Konzentration in der Luft ($\mu\text{g}/\text{m}^3$)				Konzentration im Serum			
	NO	NO ₂	NO ₃ ⁻	NH ₃	Nitrat (mg/l)	Kreatinin (mg/l)	Harnstoff (mg/l)	MetHb (%)
Kontrollen (51)	22	11	1,9	5,8	2,37	8,36	300	0,14
Büroangestellte (80)	150	57	9,5	250	2,24	8,07	365	0,14
Techniker (44)	–	–	–	–	3,47	8,64	353	0,13
Arbeiter mit Salpetersäure- Exposition (67)	1125	1352	74	2413	5,6	9,60 ¹⁾	349	0,53
Arbeiter mit Nitrat- und Ammoniumnitrat- Exposition (67)	1147	340	227	2360	7,67	10,40 ¹⁾	316	0,45
Arbeiter mit Ammoniak- Exposition (26)	190	47	15	2800	6,79	8,08	355	0,19
Arbeiter mit Harnstoff- Exposition (48)	275	41	9,5	290	3,32	9,34 ¹⁾	324	0,18

¹⁾ signifikant $p < 0,001$

wurde bei den Arbeitern der beiden Minen ein Abfall der Einsekundenkapazität (FEV₁) von – 10 ml/Jahr bzw. von – 18 ml/Jahr (adjustiert nach Alter und Rauchen) beobachtet. Die Autoren bezeichnen die Effekte auf die FEV₁ als gering. Diese Aussage basiert im Wesentlichen auf dem Anteil an Arbeitern mit obstruktiven Funktionseinschränkungen der Lunge. In beiden Minen hatten 6% bzw. 15% der Arbeiter entsprechende Befunde, die als „leicht“ beurteilt wurden. Auch wenn die Effekte gering waren, sind sie als advers anzusehen. Die Autoren schreiben ebenfalls, dass die Mischexposition über einen längeren Zeitraum zu Einschränkungen der Lungenfunktion führen kann und bei höheren Expositionen (ohne Angabe, ab welchen) insbesondere bei Rauchern Funktionsstörungen mit klinischer Relevanz entstehen können. Die Autoren weisen auf das Problem hin, dass es nicht möglich ist, die einzelnen Stoffkomponenten zu beurteilen. Durch die hohe Korrelation der Expositionskomponenten untereinander ist die Wirkung der einzelnen Komponenten nicht zu ermitteln (Lotz et al. 2006, 2008). Bei den statistischen Analysen wurden zudem lineare Dosis-Wirkungsbeziehungen angenommen. In Anbetracht einer fehlenden Konzentration ohne Wirkung, der Mischexposition, der Variabilität von FEV₁ und dem starken Einfluss des Rauchens kann diese Studie nicht zur Ableitung des MAK-Wertes herangezogen werden.

In einer Kohorten-Studie (1974–1998) an 1369 Bergarbeitern im Steinkohlenbergbau wurden die Konzentrationen an Steinkohlengrubenstaub, Quarz-Staub und Stickoxiden (NO und NO₂) gemessen und die Lungenfunktionsparameter FVC, FEV₁ und FEV₁/FVC untersucht. Durchschnittliche Expositionskonzentrationen während einer Schicht wurden für unterschiedliche Tätigkeiten (Eisenbahnfahrer, Fahrer dieselbetriebener

Fahrzeuge, Einschienenhängebahnfahrer und Sprengbeauftragte) bei NO₂ mit 0,52; 0,21; 0,023 und 0,014 ml/m³ und bei NO mit 1,35; 1,35; 1,36 und 0,84 ml/m³ gemessen. Durchschnittliche Langzeit-Expositionskonzentrationen für NO₂ wurden mit 0,007 ml NO₂/m³ und für NO mit 0,58 ml NO/m³ berechnet. Konzentrationen für Steinkohlengrubenstaub wurden mit 1,89 mg/m³ (Quarz 0,067 mg/m³) angegeben. Zur Untersuchung der Lungenfunktion wurden im Mittel zehn Untersuchungen pro Person durchgeführt. Die Rauchgewohnheiten wurden berücksichtigt. Unter Verwendung des GEE („general estimation equation“-)Regressions-Modells wurden allein aufgrund der Staubexposition keine Effekte auf die untersuchten Lungenfunktionsparameter beobachtet. Bezogen auf die NO_x-Konzentrationen (NO+NO₂) traten geringe, aber statistisch nicht signifikante Effekte auf die gemessenen Lungenfunktionsparameter auf (Dahmann et al. 2009; Morfeld et al. 2010). FVC und FEV₁ können als relevante Parameter zur Erfassung potenzieller Lungeneffekte von NO_x gelten. Jedoch muss berücksichtigt werden, dass die Sensitivität dieser gemessenen klinischen Parameter nicht ausreichend ist und Gewebeschädigungen in den terminalen Atemwegen, die durch Radikalreaktionen von NO mit Bestandteilen der alveolären Flüssigkeit und der Epithelzellen hervorgerufen werden, damit nicht zu erfassen sind. Diesbezüglich sind z. B. lösliche und zelluläre Entzündungsmarker in der bronchoalveolären Lavage sensitiver (Dahl und Nordestgaard 2009; Stockley 2002). Da keine spezifischen Auswertungen höher Exponierter vorliegen, kann nicht beurteilt werden, ob auch bei Langzeit-Exposition gegen höhere Konzentrationen Effekte sicher ausgeschlossen werden können. Diese Studie spricht damit nicht gegen den MAK-Wert für NO von 0,5 ml/m³.

4.3 Wirkung auf Haut und Schleimhäute

Hierzu liegen keine Angaben vor.

4.4 Allergene Wirkung

Hierzu liegen keine Angaben vor.

4.5 Reproduktionstoxizität

Hierzu liegen keine Angaben vor.

4.6 Genotoxizität

In Lymphozyten des peripheren Blutes von 45 Goldschmieden, die gegen 1770 mg Stickoxide (NO_x)/m³ in der Raumluft exponiert waren, zeigte sich eine signifikante Zunahme an chromosomalen Aberrationen, Schwesterchromatidaustauschen, Satelliten-Assoziationen und des Mitose-Indexes mit zunehmender Zeitdauer der Exposition zwischen 0 und 20 Jahren im Vergleich zur Kontrollgruppe, deren Raumluft einen Wert von 50 µg Stickoxide (NO_x)/m³ aufwies (Yadav und Seth 1998). Es bestehen

16 Stickstoffmonoxid

Zweifel an der korrekten Angabe der Expositionskonzentration von nahezu 2 g/m³, da diese sehr hoch erscheint. Es handelt sich außerdem um eine Mischexposition gegen verschiedene Stickoxide, so dass keine Aussage zu NO getroffen werden kann. Diese Arbeit wird somit nicht zur Bewertung von NO herangezogen.

4.7 Kanzerogenität

Hierzu liegen keine Angaben vor.

5 Tierexperimentelle Befunde und In-vitro-Untersuchungen

5.1 Akute Toxizität

Nach akuter Exposition gegen NO steht die Bildung von MetHb im Vordergrund, gefolgt von Wirkungen auf das zentrale Nervensystem. Die Untersuchungen zur akuten Toxizität nach inhalativer Exposition sind in Tabelle 4 zusammengefasst.

Ratte

Gruppen von männlichen F344-Ratten wurden 5–30 Minuten gegen 500–1500 ml NO/m³ mit einem NO₂-Gehalt <30 ml/m³ exponiert. Es wurden keine histopathologischen Effekte an der Lunge festgestellt, jedoch zeigten die Tiere, die 30 Minuten gegen 1000 ml/m³ exponiert wurden, Zyanose. 11 der 20 behandelten Tiere dieser Expositionsgruppe starben innerhalb von 30 Minuten nach Expositionsende. Die Autoren erklären diesen Effekt mit der Bildung von MetHb, jedoch wurde dieser Parameter bei dieser Studie nicht bestimmt. Die Autoren verweisen auf Ergebnisse aus einer anderen Studie, wonach bei einer 30-minütigen Exposition von Ratten gegen 1000 ml/m³ ein MetHb-Gehalt von >65% bestimmt wurde (Stavert und Lehnert 1990).

Tab. 4. Untersuchungen zur akuten Toxizität nach inhalativer Exposition (ACGIH 2001; ECB 2000)

Spezies	Konzentration		Expositions- dauer	Endpunkt
	mg/m ³	ml/m ³		
Maus	398	318	n. a.	LC _{Lo}
	400	320	n. a.	LC ₅₀
	3 125	2 500	12 min	Letalität
	6 250	5 000	6–8 min	Letalität
Ratte	1 068	854	n. a.	LC ₅₀
	160	128	n. a.	LC ₅₀
	1 250	1 000	30 min	Letalität: 11/20
Meerschweinchen	219	175	n. a.	keine Letalität
Hund	6 250	5 000	24 min	Letalität
	25 000	20 000	n. a.	Letalität

n. a.: nicht angegeben

Die 60-minütige Exposition von Sprague-Dawley-Ratten gegen 25–250 ml NO/m³ führte zu einem Anstieg des MetHb-Gehaltes (0,6–20%), gleichzeitig nahm auch die Konzentration des Nitrosylhämoglobins zu (0,08–3%). Das molare Verhältnis von MetHb zu Nitrosylhämoglobin stieg um das 7–15-fache an. Ferner waren die MetHb und Nitrosylhämoglobinkonzentrationen in arteriellem und venösem Blut gleich. Die Aktivität der MetHb-Reduktase wurde bei hohen NO-Konzentrationen gehemmt, aber nach Expositionsende wieder regeneriert. Nach Expositionsende nahmen die Gehalte an MetHb- und Nitrosylhämoglobin mit einer Halbwertszeit von 20 Minuten ab (Maeda et al. 1987).

Auch nach einstündiger Exposition von Ratten gegen 10,6 ml NO/m³ (verunreinigt mit 0,8 ml NO₂/m³) wurde Nitrosylhämoglobin im Blut nachgewiesen (k. w. A.; Oda et al. 1975).

Männliche Long-Evans-Ratten wurden 180 Minuten gegen 12,5 oder 62,5 mg NO/m³ (10 oder 50 ml/m³) exponiert (Kopf-Nasen-Exposition), ihr Lernverhalten untersucht, ein EEG aufgezeichnet sowie der MetHb-Gehalt bestimmt. Eine mögliche Kontamination mit NO₂ wurde nicht untersucht. Die Exposition gegen NO führte bei den frühen evozierten Potenzialkomponenten (AEPs) zu Amplitudenvergrößerungen und Verlängerungen der Latenzzeit, bei den späten Potenzialkomponenten zu einer Abnahme der Amplitude. Diese teilweise konzentrationsabhängigen Veränderungen wurden bei MetHb-Gehalten von 1,22 bzw. 3,98% festgestellt. Nach Exposition gegen 50 ml NO/m³ kam es zu einer Abnahme der Lernleistung (Groll-Knapp et al. 1988).

Maus

Die 6–8-minütigen Expositionen von Albino-Mäusen gegen 5000 ml NO/m³ sowie die 12-minütige Exposition gegen 2500 mg NO/m³ (3125 ml/m³) waren letal. Nach wenigen Minuten trat Zyanose auf, der rote Augenhintergrund der Mäuse wurde grau-blau, gefolgt von Dyspnoe, Paralyse und Krämpfen. Die LC₅₀ für die Maus beträgt 320 ml/m³ (ohne Angaben der Expositionsdauer). Nach 6-stündiger Exposition von Mäusen gegen 322 ml/m³ wurden 60% MetHb gebildet (ACGIH 2001; ECB 2000).

Bei Mäusen, die eine Stunde gegen 20–80 ml NO/m³ exponiert worden waren, nahm der Gehalt an Nitrosylhämoglobin mit steigender NO-Konzentration linear zu, der Gehalt an MetHb stieg exponentiell und erreichte insbesondere bei den höheren NO-Konzentrationen bis zu 15fach höhere Spiegel im Vergleich zum Nitrosylhämoglobin (Oda et al. 1980 b). Mäuse, die 16 Stunden gegen 11 mg NO/m³ (9 ml/m³) exponiert wurden, zeigten eine Abnahme des Eisen-Transferrins (WHO 1997).

Bei Mäusen wurde die Bildung von Nitrosylhämoglobin mit Hilfe der Elektronenspinresonanz-Spektrometrie nachgewiesen. 20 Minuten nach Beginn der einstündigen Exposition von weiblichen JCL-ICR-Mäusen gegen 10,6 ml NO/m³ (verunreinigt mit 0,8 ml NO₂/m³) war das Maximum der Nitrosylhämoglobin-Konzentration mit 0,13% im Blut erreicht, und die Konzentration blieb für die Dauer der Exposition konstant. Nach Expositionsende nahm die Nitrosylhämoglobin-Konzentration mit einer Halbwertszeit von 10 Minuten ab. 30 Minuten nach Expositionsende war noch Nitrosylhämoglobin nachweisbar. Bei Mäusen, die eine Stunde lang gegen 2,6; 5,9 oder 10,6 ml NO/m³ (verunreinigt mit 0,1; 0,3 oder 0,8 ml NO₂/m³) exponiert worden waren, nahm der Gehalt an Nitrosylhämoglobin konzentrationsabhängig mit 0,02; 0,04 bzw. 0,13% zu (ohne Angaben der statistischen Signifikanz; Oda et al. 1975).

18 Stickstoffmonoxid

Meerschweinchen

Meerschweinchen überlebten eine Exposition von 175 ml NO/m³, wobei auch hier Angaben über die Expositionsdauer fehlen (ACGIH 2001).

Kaninchen

Bei Kaninchen konnte nach einstündiger Exposition gegen 10,6 ml NO/m³ (verunreinigt mit 0,8 ml NO₂/m³) die Bildung von Nitrosylhämoglobin nachgewiesen werden, nachdem Natriumdithionit der Blutprobe zugesetzt worden war (k.w.A.; Oda et al. 1975).

Hund

Wurden Hunde 24 Minuten gegen 5000 ml NO/m³ exponiert, kam es zu einem Abfall des arteriellen Sauerstoffgehalts sowie zu einem Anstieg des MethHb-Gehaltes und des zirkulierenden Kohlendioxidgehaltes. Die Hunde starben innerhalb von 7–120 Minuten. Die Inhalation von 20000 ml NO/m³ führte zu einer massiven (k.w.A.) MethHb-Bildung und zum Absinken des Blut-pH-Wertes. Der Tod trat innerhalb von 15–50 Minuten ein, begleitet von akutem Lungenödem (ACGIH 2001; ECB 2000).

5.2 Subakute, subchronische und chronische Toxizität

5.2.1 Inhalative Aufnahme

Nach wiederholter inhalativer Exposition gegen NO werden als Haupteffekte Schädigungen der Lunge sowie die Bildung von MethHb beobachtet. Die Untersuchungen zeigen, dass die Lungenschädigung den empfindlichsten Endpunkt darstellt. Die Studien nach wiederholter inhalativer Exposition gegen NO sind in Tabelle 5 aufgeführt. Sofern nicht anders angegeben, erfolgte die Erfassung der NO-Konzentration in der Luft über Chemilumineszenz.

Ratte

Bei der Ratte liegen zwei von der gleichen Arbeitsgruppe durchgeführte Inhalationsstudien vor. In der ersten Studie wurden je 5 männliche F344-Ratten 9 Wochen lang kontinuierlich 20 Stunden pro Tag gegen 0,5 ml NO/m³ sowie zweimalig pro Tag je 1 Stunde lang gegen 1,5 ml NO/m³ exponiert. In den Lungen wurden strukturelle Veränderungen, wie eine verringerte Anzahl an Typ-I-Zellen, fokale Degeneration der Zellen des Interstitiums, der interstitiellen Matrix sowie der Bindegewebsfasern und vermehrt Lücken in den alveolären Septen festgestellt, beides Effekte, die im Frühstadium des Emphysems auftreten. Eine Gruppe von Tieren wurde unter den gleichen Expositionsbedingungen mit NO₂ behandelt, wobei sich NO im Hinblick auf die beobachteten Lungeneffekte als stärker wirksam erwies (Mercer et al. 1995).

In der zweiten Studie, die einige Jahre später an dem selben Rattenstamm durchgeführt wurde und bei der je 18 männliche Tiere 6 Wochen lang jeweils 22 Stunden pro Tag gegen 0, 2 oder 6 ml NO/m³ exponiert wurden, wurde jedoch kein Anstieg der Lücken in den alveolären Septen festgestellt. Die histopathologische Untersuchung

Tab. 5. Wirkung von NO nach wiederholter inhalativer Exposition

Spezies, Stamm, Tierzahl pro Geschlecht und Gruppe	Expositionsbedingungen	Befunde	Literatur
Ratte , k. w.A.	1 Monat , 0, 50 mg/m ³ (40 ml/m ³), k. w.A.	40 ml/m³ : Emphysem, bronchiale Entzündungen; periphere Leukozyten ↑, MetHb ↑, Diphosphoglycerat im Blut ↑, Erythrozyten ↓, Hb ↓	ECB 2000
Ratte , Wistar, 4 Tiere, 2 Monate alt, k. w.A.	bis zu 6 Wochen , 0, 2 ml/m ³ , kontinuierlich (NO ₂ = 0,08 ml/m ³)	2 ml/m³ : leichte emphysemartige Veränderungen der Alveolen	Azoulay et al. 1977
Ratte , F344, 18 ♂, 7 Wochen alt, davon 5 für Lungen- morphologie, 5 für Elektronen- mikroskopie, 8 für bronchio- alveoläre Lavage	6 Wochen , 0, 2, 6 ml/m ³ , 22 h/d	ab 2 ml/m³ : Dicke des alveolären Typ-II-Epithels ↓ (n. s.), Anteil der mit Typ-II-Zellen bedeckten Epithelfläche ↑, Anteil der mit Typ-I-Zellen bedeckten Epithelfläche ↓, alveoläre Typ-II-Zellen/mm ² ↑ (n. s.), Atemwegsmakrophagen/mm ² ↑ (n. s.), Volumendichte der Blutplättchen in den Lungenkapillaren ↑ (2fach) 6 ml/m³ : Harnsäure in der Lavageflüssigkeit ↑, alveoläre Typ-II-Zellen/mm ² ↑, Atemwegsmakrophagen/mm ² ↑	Mercer 1999
Ratte , F344, 5 ♂, 7 Wochen alt	9 Wochen , 0; 0,5 ml/m ³ , 20 h/d, + 1,5 ml/m ³ , 2 × 1 h/d	0,5 + 1,5 ml/m³ : Volumen des Lungengewebes ↓, Volumen des interstitiellen Gewebes ↓, Dicke des Interstitiums ↓, alveoläre Septen dünner, Volumen des Typ-I-Epithels und des Endotheliums ↓ (n. s.), fokale Degeneration des alveolären Interstitiums, vermehrt Lücken in den alveolären Septen der Lunge (Anzahl 3fach höher im Vergleich zu NO ₂), Gesamtanzahl an Zellen pro Lunge ↓ (n. s.), Anzahl alveolärer Typ-I-Zellen ↓ (n. s.), Anzahl an Zellen des Interstitiums ↓	Mercer et al. 1995
Maus , ICR-JCL, 8–10 ♂, 5 Wochen alt	7 Tage , 0, 10–21 ml/m ³ , 3 h/d	bis 21 ml/m³ : GSH-Spiegel in Lungenhomogenat unverändert	Watanabe et al. 1980
Maus , OF1, ♂/♀, k. w.A.	bis zu 4 Wochen , 0, 2 ml/m ³ , 6 h/d	2 ml/m³ : ♀: Mortalität ↑ (nach Infektion mit <i>Pasteurella multocida</i>), Überlebensdauer ↓ (n. s.)	ECB 2000; Schlesinger 1992

20 Stickstoffmonoxid

Tab. 5. Fortsetzung

Spezies, Stamm, Tierzahl pro Geschlecht und Gruppe	Expositionsbedingungen	Befunde	Literatur
Maus, ICL-ICR, ♀, 4 Wochen alt, k. w.A.	6,5 Monate, 0, 10 ml/m ³ , kontinuierlich, (NO ₂ = 1–1,5 ml/m ³)	10 ml/m³: rel. Lungen- und Milzgew. ↑; Leukozytenzahl ↑, Neutrozyten-Lym- phozyten-Verhältnis ↑, Erythrozyten mit Heinz-Körpern ↑, Nitrosylhämoglobin, Bilirubin ↑, Cholinesterase ↓; Lunge: Degeneration und Nekrose der Schleimhaut, Hyperplasie des Bronchial- epithels, hypertrophe Vergrößerung der alveolären Septen durch Hyperämie und Kongestion	Nakajima et al. 1980
Maus, BALB/c, bis zu 20 ♀, 6–8 Wochen alt	bis zu 30 Wochen, 0, 10 ml/m ³ , 2 h/d, 5 d/w	10 ml/m³: vergrößerte Lücken in der Lungenperipherie (als paraseptales Em- physem diagnostiziert), Blutungen, Stauung in den alveolären Septen, Be- cherzellen in der Bronchialschleimhaut ↑, Foci interstitieller Lungenentzündung; immunologische Reaktivität ↑ bei kür- zerer Expositionsdauer (5–20 Wochen) (Leukozytose, humorale Immunantwort auf i.p. Injektion von Schafserythrozyten ↑, Graft-versus-Host-Reaktion ↑, aber Antwort der Milzzellen auf Phytohämag- glutinin ↓); Suppression des Immunsys- tems bei längerer Expositionsdauer (ab 23 Wochen) (Graft-versus-Host-Reaktion ↓, Abstoßungsfähigkeit des transplantierten Virus-produzierenden TKL5-Tumors ↓, aber Antwort der Milzzellen auf Phyto- hämagglutinin ↑)	Holt et al. 1979
Maus, JCL-ICR, 65 ♀ (NO-Exposition), 64 ♀ (Kontrolle), 4 Wochen alt	bis 23 bzw. 29 Monate, 0; 2,4 ml/m ³ , kontinuierlich (NO ₂ = 0,01–0,04 ml/m ³)	2,4 ml/m³: Veränderungen der osmoti- schen Resistenz der Erythrozyten und des Gehalts an Serum-Haptoglobin (Hinweis auf leichte Hämolyse, 13 Mo.), Nitrosyl- Hb ↑, keine Effekte im Vergleich zur Kontrolle bzgl. Histologie der Lunge und MetHb-Bildung	Nakajima et al. 1980; Oda et al. 1980 a
Kaninchen, 4 ♂, k. w.A.	14 Tage, 0, 5 ml/m ³ , kontinuierlich (NO ₂ ≤ 0,1 ml/m ³)	5 ml/m³: Ödeme, Verdickung der Alveolarkapillar-Membran durch Ödem- flüssigkeit im Interstitialraum, flüssig- keitsgefüllte Vakuolen in Endothelzellen der Arteriolen und an Verbindungen der Epithelzellen	ECB 2000; WHO 1997
Hund, Beagle, 12 ♀ (NO-Exposition), 20 ♀ (Kontrolle), k. w.A.	18 Monate, 0; 1,5–2 ml NO/m ³ + 0,2 ml NO ₂ /m ³ , 16 h/d, 7 d/w	1,5–2 ml/m³+ 0,2 ml NO₂/m³: NOAEC (Lungenfunktion)	Vaughan et al. 1969

Tab. 5. Fortsetzung

Spezies, Stamm, Tierzahl pro Geschlecht und Gruppe	Expositionsbedingungen	Befunde	Literatur
Hund, Beagle, 11 (NO-Expos.), 19 (Kontrolle), k. w. A.	61 Monate, 0; 1,84–2,45 mg NO/m ³ + 0,38 mg NO ₂ /m ³ (1,5–2 ml NO/m ³ + 0,2 ml NO ₂ /m ³), 16 h/d, 7 d/w	1,5–2 ml NO/m³ + 0,2 ml NO₂/m³: NOAEC (kardiovaskuläre Funktion)	Bloch et al. 1972
Hund, Beagle, 12 (NO-Expos.), 20 (Kontrolle), k. w. A.	61 Monate, 0; 2,05 mg NO/m ³ + 0,27 mg NO ₂ /m ³ (1,6 ml NO/m ³ + 0,14 ml NO ₂ /m ³), 16/d, 7 d/w	1,6 ml NO/m³ + 0,14 ml NO₂/m³: Residualvolumen der Lunge ↑	Lewis et al. 1974
Hund, Beagle, 12 ♀ (NO-Expos.), 20 ♀ (Kontrolle), (Nekropsie: 10 NO-Expos., 12 Kontrolle)	68 Monate, 32–36 Monate Nachbeobachtung, 0; 2,05 mg NO/m ³ + 0,27 mg NO ₂ /m ³ (1,6 ml NO/m ³ + 0,14 ml NO ₂ /m ³), 16 h/d, 7 d/w	1,6 ml NO/m³ + 0,14 ml NO₂/m³: Hyperplasie bronchiolärer (nicht Zilien- tragender) Zellen, Oberflächendichte der Alveolen verringert, vergrößerter alveolärer Zwischenraum, Zerstörung der alveolären Septen, alveoläre Poren ↑ (Emphysem-ähnliche Veränderungen)	Hyde et al. 1978

n. s.: statistisch nicht signifikant

ergab vielmehr eine konzentrationsabhängige, bei 6 ml/m³ statistisch signifikante Zunahme von alveolären Typ-II-Zellen und Makrophagen als Ersatz für eine verringerte Anzahl an Typ-I-Zellen sowie eine Zunahme des Anteils der Epithelfläche, die von Typ-II-Zellen bedeckt war. Diese Effekte, die in der ersten Studie bei der niedrigen Konzentration noch nicht beobachtet wurden, wurden vom Autor als proinflammatorische Antwort gewertet. Bei der hohen Konzentration kam es zu einem Anstieg der Harnsäure-Konzentration um 56% in der bronchioalveolären Lavageflüssigkeit. Die Ergebnisse dieser Studie wurden mit zwei Studien verglichen, in denen Ratten ebenfalls 6 Wochen lang gegen 0 oder 0,25 ml Ozon/m³ (12 Stunden/Tag, 7 Tage/Woche) bzw. 0 oder 2 ml NO₂/m³ (23 Stunden/Tag, 7 Tage/Woche) exponiert wurden. Die drei Oxidantien zeigten ähnliche Muster sowohl bei der Zunahme an epithelialen Zellen und Alveolarmakrophagen sowie dem prozentualen Anstieg der Oberfläche der mit Typ-II-Zellen bedeckten epithelialen Basalmembran (Mercer 1999). Weshalb die strukturellen Veränderungen, wie die vermehrten Lücken in den alveolären Septen, die in der ersten Studie bei 0,5 ml/m³ und zweistündigen Spitzen von 1,5 ml/m³ auftraten, in der zweiten Studie mit höherer Tierzahl nicht beobachtet wurden, ist unklar. Auch der Autor gibt keine Erklärung dafür, weist aber auf einen möglichen Zufallsbefund hin. Ein Schwachpunkt der ersten Studie liegt in der Verwendung von nur einer Konzentration. Dadurch ist die Relevanz dieses Befundes schwer zu beur-

22 Stickstoffmonoxid

teilen. Auch die unterschiedliche Dauer der Exposition (9 bzw. 6 Wochen) und die Verwendung unterschiedlicher Messeinheiten für den Parameter „alveoläres Volumen“ erschweren einen direkten Vergleich der Studien.

Gruppen von je 4 Wistar-Ratten wurden über einen Zeitraum von bis zu 6 Wochen kontinuierlich gegen 2 ml NO/m³, das mit 0,08 ml NO₂/m³ verunreinigt war, exponiert. Nach 2 Wochen Exposition wiesen 3 von 4 behandelten Tieren leichte entzündliche Veränderungen, einschließlich Infiltrationen der Alveolarwände und Flecken von intraalveolären Ödemen auf. Auch ein Kontrolltier zeigte die gleichen entzündlichen Veränderungen. Zudem wurden emphysemartige Veränderungen festgestellt, die bis zum Ende der Exposition zunahmen. Nach 5 und 6 Wochen Behandlung wurde bei allen behandelten Ratten eine Überdehnung der Alveolarwand mit Rissen beobachtet, eines der Kontrolltiere zeigte die gleichen Symptome. Die untersuchten Blutparameter, die Aufschluss über die Sauerstoff-Affinität des Blutes geben, darunter der MetHb-Gehalt und der pH-Wert des Blutes, wiesen keine signifikanten Unterschiede zur Kontrolle auf (Azoulay et al. 1977).

Maus

Bei der Maus beträgt die NOAEC für Lungenschädigungen und für MetHb-Bildung nach 23–29-monatiger, kontinuierlicher Exposition 2,4 ml/m³, allerdings waren nach 13 Monaten Parameter verändert, die nach Aussagen der Autoren auf eine leichte Hämolyse hinweisen (Oda et al. 1980 a). Da diese Parameter nach Expositionsende nicht mehr verändert waren, werden sie als nicht advers angesehen.

In einer Studie an weiblichen BALB/c-Mäusen wurden Effekte auf das Immunsystem nach Exposition gegen NO beobachtet. Die Tiere wurden bis zu 30 Wochen lang jeweils 2 Stunden pro Tag an 5 Tagen pro Woche gegen 10 ml NO/m³ exponiert. Angaben über die Analytik zur Überprüfung der NO-Konzentration liegen nicht vor. Verschiedene Gruppen wurden neben Routinehämatologie einer Reihe immunologischer Untersuchungen unterzogen, wie Antikörperbildung im Serum auf T-Zell-abhängige und -unabhängige Antigene, Reaktion der Milzzellen auf PHA (Phytohämagglutinin), Graft-versus-Host-Reaktionen und die Fähigkeit, einen transplantierten Tumor abzuwehren. Die meisten Untersuchungen zeigten, dass eine kurzzeitige Exposition zu einem Anstieg der immunologischen Reaktivität führte. Eine Langzeit-Exposition führte zu einer Immunsuppression. In der Lunge dominierten Effekte, die als paraseptales Emphysem diagnostiziert wurden (Holt et al. 1979).

Kaninchen

Bei Kaninchen wurden nach 14-tägiger Exposition gegen 5 ml NO/m³ Ödeme in der Lunge beobachtet (k. w. A.; ECB 2000; WHO 1997).

Hund

Bei Beagle-Hunden kam es zu einem Anstieg des Residual-Volumens nach 61-monatiger, täglich 16-stündiger Exposition gegen bis zu 2 ml NO/m³ (Lewis et al. 1974) und zu emphysemartigen Veränderungen nach 68-monatiger, ebenfalls täglich 16-stündiger Exposition gegen 1,6 ml NO/m³ (Hyde et al. 1978), wobei die NO₂-Konzentration mit 0,14 ml/m³ relativ hoch war. Angaben über die Analytik zur Überprüfung der NO-Konzentration liegen nicht vor.

Zusammenfassung

Nachfolgend sind die wichtigsten Lungeneffekte nach mehrwöchiger inhalativer Exposition zusammengefasst:

Tab. 6. Zusammenfassung der wichtigsten Lungeneffekte von NO nach mehrwöchiger inhalativer kontinuierlicher bzw. nahezu kontinuierlicher Exposition

Exposition (ml/m ³)	Dauer (Wochen)	Spezies	Effekt	Literatur
0,5 + 1,5	9	Ratte	alveoläre Veränderungen: u. a. vermehrt Lücken in den alveolären Septen der Lunge	Mercer et al. 1995
1,6 (NO ₂ : 0,14)	68 Mo	Hund	emphysemähnliche Veränderungen	Hyde et al. 1978
2	2	Ratte	leichte entzündliche Veränderungen	Azoulay et al. 1977
2	6	Ratte	Zunahme der Anzahl an Typ-II-Zellen und Makrophagen in den Alveolen (n. s.)	Mercer 1999
2	6	Ratte	alveoläres Ödem, „emphysemartige Veränderungen“	Azoulay et al. 1977
2,4	116	Maus	keine Effekte	Oda et al. 1980 a
5	2	Kaninchen	alveoläres Ödem	ECB 2000; WHO 1997

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass NO in den vorliegenden Studien an Ratten, Kaninchen und Hunden mit kontinuierlicher bzw. nahezu kontinuierlicher Exposition zu Lungenschädigungen führt. Die Schädigung des interstitiellen Raumes bei Ratten nach 9-wöchiger Exposition gegen 0,5 ml/m³ und 1,5 ml/m³ als früher Hinweis auf emphysemartige Veränderungen (Mercer et al. 1995) konnte in der Nachfolgestudie nach 6-wöchiger Exposition mit Konzentrationen von 2 bzw. 6 ml/m³ zwar nicht beobachtet werden (Mercer 1999), allerdings fanden sich in dieser Studie ab der niedrigen Konzentration eine Hyperplasie von Typ-II-Zellen und vermehrt Makrophagen in den Alveolen, was ebenfalls auf eine Lungenschädigung hinweist. „Emphysemartige“ Veränderungen wurden auch in einer älteren Studie an Ratten nach 6-wöchiger kontinuierlicher Exposition gegen 2 ml/m³ beobachtet (Azoulay et al. 1977). Auch bei Hunden traten nach 68-monatiger Exposition mit bis zu 36-monatiger Nachbeobachtungszeit gegen 1,6 ml/m³ zusätzlich zu einer bronchiolären Hyperplasie emphysemähnliche Effekte auf, wobei in dieser Studie die NO₂-Konzentration mit 0,14 ml/m³ vergleichsweise hoch war (Hyde et al. 1978). Eine NOAEC aus den Tierversuchen kann demnach nicht abgeleitet werden.

5.2.2 Orale Aufnahme

Hierzu liegen keine Angaben vor.

24 Stickstoffmonoxid

5.2.3 Dermale Aufnahme

Hierzu liegen keine Angaben vor.

5.3 Wirkung auf Haut und Schleimhäute

Hierzu liegen keine Angaben vor.

5.4 Allergene Wirkung

Hierzu liegen keine Angaben vor.

5.5 Reproduktionstoxizität

5.5.1 Fertilität

In der bereits in Abschnitt 5.2 und Tabelle 5 beschriebenen Studie an Mäusen, in der Gruppen von weiblichen Mäusen kontinuierlich bis zu 29 Monate lang gegen 0 oder 2,4 ml NO/m³ exponiert wurden, ergab die histopathologische Untersuchung der Ovarien keinen behandlungsbedingten Befund (Oda et al. 1980 a). Weitere Studien zum Endpunkt Fertilität liegen nicht vor.

5.5.2 Entwicklungstoxizität

Hierzu liegen keine Angaben vor.

5.6 Genotoxizität

5.6.1 In vitro

Unter aeroben, pH-neutralen Bedingungen desaminiert NO Desoxynukleotide und -nukleoside und intakte DNA (Felley-Bosco 1998; Liu und Hotchkiss 1995; Victorin 1994). Allerdings könnten unter den meist hohen eingesetzten NO-Konzentrationen auch andere Stickoxide wie N₂O₃ für diese Wirkung verantwortlich sein.

Die Behandlung von Cytosin-Nukleosid mit NO-Gas im Konzentrationsbereich von 1–5 mM führte unter aeroben Bedingungen zur Desaminierung, unter anaeroben Bedingungen nicht. Ebenso wurde 5-Methylcytosin und intakte Kalbsthymus-DNA unter aeroben pH-neutralen Bedingungen desaminiert (Wink et al. 1991).

Im Gegensatz dazu rief NO-Gas unter physiologischen Bedingungen im Konzentrationsbereich von 0–450 mM keine Desaminierung von Cytosin oder 5-Methylcytosin im Plasmid pSV2neo nach Transformation in *Escherichia coli* hervor (Schmutte et al. 1994). In *Salmonella typhimurium* TA1535 wurden jedoch unter gleichen Expositionsbedingungen Mutationen beobachtet (Wink et al. 1991).

Nach Behandlung von Kalbsthymus-DNA mit 0,125; 0,25 oder 0,5 ml NO-Gas/ml (5,5; 11 oder 22 mM) in Anwesenheit von Sauerstoff, verabreicht über eine Spritze,

zeigte sich eine monotone Dosis-Wirkungsbeziehung. Depurinierung führte zu dosisabhängig vermehrter Bildung von Xanthin und Hypoxanthin. In den ebenso behandelten TK6-Zellen wurden in 625 µg DNA 39- bzw. 47fach höhere Hypoxanthin- bzw. Xanthin-Mengen (5,3 nmol Hypoxanthin/mg DNA bzw. 2,8 nmol Xanthin/mg DNA) als in der Kontrolle nachgewiesen (Nguyen et al. 1992).

Die Behandlung von pSP189-Plasmiden in Lösung mit NO-Gas (10–1000 mmol/l) unter aeroben, pH-neutralen Bedingungen führte im untersuchten supF-Gen dosisabhängig hauptsächlich zur Induktion von Punktmutationen in Form von A:T → G:C-Transitionen, nachdem die Plasmide entweder 48 Stunden lang in menschliche Ad293-Zellen oder über Nacht in *Escherchia coli* MBM7070 transfiziert worden waren. Dagegen traten nach Gabe von NO-Donatoren in der Mehrheit G:C → T:A-Transitionen auf (Felley-Bosco 1998; Kelman et al. 1997; Routledge et al. 1993; Wink et al. 1991). Mit der gleichen Versuchsanordnung induzierte Distickstofftrioxid und nicht Stickstoffdioxid Mutationen im supF-Gen. Es wurden wie bei Exposition gegen NO zu 68% A:T → G:C- und zu 30% G:C → A:T-Transitionen hervorgerufen (Felley-Bosco 1998; Kelman et al. 1997).

Unter aeroben Bedingungen erwies sich NO im Salmonella-Mutagenitätstest in den Stämmen TA1535 und TA7004 als mutagen. Die Mutagenität konnte durch β-Karotin inhibiert werden (Felley-Bosco 1998; Liu und Hotchkiss 1995; Victorin 1994). Ferner induzierte NO nach zweistündiger Exposition von 0,3–1,2 mM im Medium unter aeroben pH-neutralen Bedingungen konzentrationsabhängig Mutationen in dem Salmonella-Stamm TA7004 (Zhuang et al. 2000).

In V79-Zellen riefen Konzentrationen bis zu 500 ml NO/m³ nach 30 Minuten unter anaeroben Bedingungen keine DNA-Einzelstrangbrüche hervor (Görsdorf et al. 1990). In menschlichen TK6-Lymphoblasten induzierte NO in der Konzentration 0,5 ml/ml Medium, mittels einer Spritze in Anwesenheit von Sauerstoff verabreicht, ab einer Stunde nach Behandlung zeitabhängig DNA-Einzelstrangbrüche. Nach 4 Stunden Inkubation riefen auch die Konzentrationen von 0,125 bzw. 0,25 ml/ml Medium DNA-Schäden hervor. 24 Stunden nach der Behandlung wurde keine DNA-Schädigung mehr nachgewiesen (Nguyen et al. 1992). Die Behandlung von TK6-Zellen mit einer Steady-State-Konzentration von 0,65 µM NO für 12 Stunden führte zu einer nachweisbaren Desaminierung von DNA-Basen; diese Behandlung war bereits deutlich zytotoxisch (Dong und Dedon 2006).

In menschlichen lymphoblastoiden TK6-Zellen (Wild-Typ) oder WTK-1-Zellen (p53-Mutante) wurde nach zweistündiger Exposition mit konstanten NO-Raten von 100, 300 oder 533 nM/s (70, 210, 390 µmol; ungefähr dem Wert entsprechend bei entzündetem Gewebe in der In-vivo-Situation) eine Erhöhung der DNA-Doppelstrangbrüche und Fragmentation 8–48 Stunden nach Behandlung im neutralen Comet-Assay festgestellt. Dabei zeigten sich in den TK6-Zellen mehr DNA-Doppelstrangbrüche als in den WTK-1-Zellen. In den HPRT- und TK1-Genen induzierte die NO-Behandlung, nur in der hohen Konzentration getestet, signifikant weniger Mutanten in den TK6-Zellen als in den WTK-1-Zellen. Als Negativkontrolle wurden die Zellen statt mit NO mit Argon behandelt und für die Positivkontrolle mit 4-Nitrochinolin-1-oxid. In den TK6-Zellen wurde die Apoptose stark erhöht, hingegen zeigte sich in den WTK-1-Zellen eine verzögerte und um einige Größenordnungen reduzierte Apoptose, gemessen mit dem Flow-Cytometer. Nur in den TK6-Zellen war die Menge des apoptotischen Protease-Aktivierungsfaktor-1 (Apaf-1)-Proteins erhöht und das des X-chromosomal-gebunde-

26 Stickstoffmonoxid

nen Inhibitorproteins der Apoptose (XIAP) erniedrigt. Die Toxizität des NO zeigte sich in verzögertem Wachstum und erhöhter Verdopplungszeit bei 300 nM/s und führte zur Zytostase bei 533 nM/s in beiden Zelllinien (Li et al. 2002).

Im Vergleich zur mit Argon behandelten Kontrollgruppe stieg die Mutationsrate im TK1-Lokus der TK6-Zellen nach Behandlung mit 1% NO-Gas 24 Stunden lang bzw. 10% 3 Stunden lang (0,6 μM bzw. 1,8 μM) um das Drei- bis Vierfache an. Ab 8-stündiger Exposition zeigte sich bei der Behandlung mit 1% NO-Gas eine Verlangsamung der Zellteilung und ab 24-stündiger Exposition eine Abnahme der überlebenden TK6-Zellen sowie eine Erhöhung der Apoptose. Nach der Behandlung mit 10% NO für 12 Stunden trat eine Abnahme der Zahl der lebenden Zellen auf, und die Zahl an apoptotischen TK6-Zellen war 48 Stunden nach der Behandlung maximal erhöht. Bei NH32-Zellen, die eine p53-null-Mutante der TK6-Zellen sind, wurden unter gleichen Versuchsbedingungen keine Genmutationen induziert. Die Versuche an TK6-Zellen zeigten nach Meinung der Autoren, dass eine Dosis-Wirkungs-Beziehung für die Überlebensrate gegeben ist und dass bis zu einer Konzentration von 0,5 μM NO bzw. einer Gesamtdosis über die Zeit von 150 $\mu\text{M} \times \text{min}$ keine Effekte auftreten. Ab 0,5 μM NO und 150 $\mu\text{M} \times \text{min}$ nahm die Überlebensrate bei ansteigender Konzentration exponentiell ab. Die NO-Verbrauchsraten von den TK6- und NH32-Zellen wurden bei Anwesenheit von O_2 bestimmt. Bei einer gleichmäßigen NO-Gabe betrug die NO-Verbrauchsrate $0,05 \pm 0,02$ nmol/min pro 10^6 Zellen und bei Bolusgabe von NO $0,02 \pm 0,01$ nmol/min pro 10^6 Zellen (Wang et al. 2003). Bei einer Steady-State-Konzentration von 0,6 μM zeigte sich in TK6-Zellen ab 150 $\mu\text{M} \times \text{min}$ und in NH32-Zellen ab 300 $\mu\text{M} \times \text{min}$ Zytotoxizität und Apoptose (Li et al. 2006).

Im Genmutationstest am TK6- und HPRT-Gen erhöhte sich nach einstündiger Zugabe von 0,125; 0,25 und 0,375 ml NO-Gas/ml Kulturmedium (5,5; 11; 22 mM) konzentrationsabhängig die Zunahme der Mutationen in beiden Genloci in den menschlichen TK6-Lymphoblasten. Mit der hohen Konzentration zeigte sich eine 15–18fache Erhöhung. Der pH-Wert wurde mit untersucht und beeinflusste die Ergebnisse nicht. Mit zunehmender Konzentration nahm auch die Zytotoxizität zu (Felley-Bosco 1998; Nguyen et al. 1992). Nach Behandlung von TK6-Zellen mittels eines Membransystems mit 0,7 mM NO über eine Zeitdauer von 1,5 Stunden erhöhte sich die Mutationsrate im HPRT-Lokus um das Sechsfache und die Zytotoxizität um das Fünffache im Vergleich zur Verabreichung der Menge an NO mittels Spritze (Tamir et al. 1996). Eine sechsfache Erhöhung der Mutationsrate im HPRT-Gen induzierte NO nach einstündiger Behandlung von TK6-Zellen mit 0,1 mmol. Die meisten Basensubstitutionen (12 von 18) traten von A:T zu G:C auf (Zhuang et al. 2000).

NO-Donatoren

NO wird auch nach Behandlung mit sogenannten NO-Donatoren (NONOaten), wie Natriumnitroprussid oder SIN-1 (3-Morpholino-sydnominin), freigesetzt. Im Falle von SIN-1 entstehen gleichzeitig stöchiometrische Mengen von Superoxid, das mit dem NO sofort zu Peroxynitrit abreagiert.

Diese NO-Donatoren riefen in vitro DNA-Schäden (Stopper et al. 1999), Mutationen in *Salmonella typhimurium* und im supF-Gen, im gpt-Gen sowie im c-II-Gen in Säugerzellen (Lee und Pfeifer 2007; Lin et al. 1998; Liu und Hotchkiss 1995) ebenso wie Mikronuklei in gp12-Zellen (Lin et al. 1998) und in menschlichen Blutlymphozyten

(Andreassi et al. 2001) hervor. Das Mutationsspektrum der NO-Donatoren mit hauptsächlich G:C → A:T-Transitionen unterscheidet sich von dem des NO-Gases (Liu und Hotchkiss 1995). Oxidative DNA-Schäden wurden nach Behandlung von B6-Mausfibroblasten mit einem NO-Donator erst bei sehr hohen zytotoxischen Konzentrationen von 1–3 mM beobachtet (Phoa und Epe 2002).

5.6.2 In vivo

Je 5 männliche Sprague-Dawley-Ratten wurden 3 Stunden lang gegen 9, 19 oder 27 ml NO/m³ exponiert. Während der NO-Exposition betrug das NO₂/NO-Verhältnis weniger als 0,05. Die Kontrollgruppe bestand aus 40 Tieren. Nach 18 Stunden wurden von jeder Ratte Lungenzellen präpariert und in Kultur genommen. Ca. 6 Tage nach Expositionsende (18 Stunden in vivo sowie 5 Tage In-vitro-Kultur) wurde dem Zellmedium 1 mM Ouabain zur Selektion zugesetzt und nach einer weiteren Woche die Mutationsrate bestimmt. Ab 9 ml/m³ trat im Vergleich zur Kontrolle eine nicht signifikante und nicht konzentrationsabhängige Erhöhung der Mutationsrate auf. Bei 27 ml/m³ erhöhte NO signifikant die Mutationen im Ouabain-Lokus um das Fünffache. Im parallelen Experiment mit NO₂ (0, 8, 15, 21, 27 ml/m³) waren in den Lungenzellen bereits ab 15 ml/m³ solche Genmutationen um das Zehnfache erhöht und bei 8 sowie 27 ml/m³ wurden chromosomale Aberrationen, meist Chromatidenbrüche, nachgewiesen (Isomura et al. 1984). Dieser Test wurde nicht nach einer validierten Methode durchgeführt. Die Studie weist hinsichtlich des experimentellen Designs einige ungewöhnliche Aspekte auf, die eine eindeutige Interpretation der Ergebnisse erschweren. Die Tiere wurden erst 18 Stunden nach der Exposition getötet und die primären Lungenzellen für 5 Tage kultiviert, ehe der Genmutationstest durchgeführt wurde. Die Induktion Ouabain-resistenter Zellen im Genmutationstest wird als sehr spezifisch für Basenpaarsubstitutionen angesehen, hat sich aber in Standardtests als vergleichsweise unempfindlich erwiesen. Die hier verwendeten Versuchsbedingungen (Expressionszeit, Selektionszeit) sind aufgrund der Durchführung des Tests als Ex-vivo-Variante nicht validiert, und eine Positivkontrolle fehlt. Die eingesetzten Zellzahlen für die Mutantenselektion lagen auf Grund der geringen Plattierungseffizienz der verwendeten Lungenzellen (10 bis 15%) bei 2×10^5 und waren damit sehr klein. Die Ergebnisse dieser Studie werden aufgrund ihrer unklaren Aussagekraft als nicht geeignet angesehen, eine In-vivo-Genotoxizität von NO zu belegen.

Die Produktion von endogenem NO in einem Entzündungsmodell mit SJL-Mäusen ist mit DNA-Schädigung und Induktion von Mutationen verbunden (Gal und Wogan 1996; Pang et al. 2007).

Zusammenfassung

NO wirkt in vitro in Bakterien und Säugerzellen mutagen. Bei diesen Untersuchungen wurden jedoch zum Teil sehr hohe Dosierungen (>5 mM) eingesetzt (Nguyen et al. 1992), die in vivo wahrscheinlich nicht auftreten und bei denen andere Stickstoffoxide gebildet werden. In vivo liegt nur eine Studie nach einer nicht-validierten Ex-vivo-Methode vor, in der Genmutationen an Lungenzellen beobachtet wurden, deren Aussagekraft jedoch nicht klar ist. Die Ergebnisse dieser Studie werden daher als nicht geeignet angesehen, eine In-vivo-Genotoxizität von NO zu belegen.

5.7 Kanzerogenität

Langzeitstudien

In der bereits in Abschnitt 5.2.1 und Tabelle 5 beschriebenen Studie, in der Gruppen von weiblichen Mäusen kontinuierlich bis zu 29 Monate gegen 0 oder 2,4 ml NO/m³ exponiert wurden, traten am Zielorgan Lunge keine erhöhten Tumorinzidenzen im Vergleich zur Kontrolle auf (Nakajima et al. 1980; Oda et al. 1980 a). Obwohl nur weibliche Tiere exponiert und nur wenige Organe untersucht wurden und nur eine Konzentration getestet wurde, zeigt diese Studie, dass bei einer Konzentration von 2,4 ml NO/m³ keine Tumoren am Zielorgan Lunge auftraten. Ein geschlechtsspezifischer Effekt hinsichtlich der Wirkung von NO auf die Lunge ist nicht zu erwarten. Somit ist diese Studie trotz der oben genannten Einschränkungen dazu geeignet, eine Aussage zur kanzerogenen Wirkung von 2,4 ml NO/m³ auf die Lunge von Mäusen zu treffen. Weitere Untersuchungen zur Kanzerogenität von NO liegen nicht vor.

6 Bewertung

NO wird endogen gebildet, bei inhalativer Exposition kommt es lokal zu Lungenschädigungen. Systemisch führt die NO-Inhalation zur Vasodilatation.

MAK-Wert. Die vorliegenden Daten aus Probandenstudien zu NO sind nicht dazu geeignet, einen MAK-Wert abzuleiten. Tierexperimentelle Studien mit arbeitsplatzrelevanter (intermittierender) Expositionsdauer liegen nicht vor. Inhalationsstudien an Ratten mit mehrwöchiger nahezu kontinuierlicher Exposition und Konzentrationen zwischen 0,5 und 2 ml NO/m³ (Mercer et al. 1995, 1999) sowie eine Inhalationsstudie an Hunden mit 68-monatiger Exposition gegen 1,6 ml NO/m³ (Hyde et al. 1978) führten zu Lungenveränderungen im alveolären Bereich. Eine NOAEC konnte nicht abgeleitet werden. In einer Inhalationsstudie (Mercer et al. 1995), in der NO und NO₂ jedoch parallel in Konzentrationen von 0,5 ml/m³ mit zweistündigen Spitzen von 1,5 ml/m³ getestet wurden und in einer zweiten Inhalationsstudie (Mercer 1999), deren Expositionsbedingungen (6 Wochen Dauer, 2 ml/m³) einer früheren Studie mit NO₂ entsprach, haben sich mit beiden Stoffen ähnliche Effekte an der Lunge von Ratten gezeigt. Daher wird, obwohl NO und NO₂ unterschiedliche Wirkungsmechanismen besitzen (siehe Abschnitt 2), bei der Ableitung des MAK-Wertes für NO die bessere Datenlage zum NO₂ mit berücksichtigt. In einer Inhalationsstudie mit täglich 6-stündiger arbeitsplatzrelevanter Exposition von Ratten gegen NO₂ traten nach 5-tägiger Exposition gegen 5 ml NO₂/m³ histologische Effekte in Lunge und Trachea auf (BASF AG 2006 a). In der anschließend durchgeführten 13-Wochen-Studie wurde eine NOAEC von 2,14 ml NO₂/m³ erhalten (BASF AG 2006 b). Basierend auf diesen Studien und unter der Berücksichtigung, dass bei Probanden nach dreistündiger Exposition gegen 1,5 und 2,0 ml NO₂/m³ bei gleichzeitiger körperlicher Belastung noch Veränderungen in der bronchioalveolären Lavage beobachtet wurden, die bei 0,6 ml/m³ geringfügig waren und die bei dieser Konzentration als nicht bewertungsrelevant anzusehen sind, wurde ein MAK-Wert für NO₂ von 0,5 ml/m³ festgelegt (siehe Nachtrag „Stickstoffdioxid“ 2010). In Analogie zu diesem Wert wird der MAK-Wert von NO vorläufig ebenfalls auf 0,5 ml/m³ festgesetzt, bis geeignete Studien beim Menschen oder Tierversuche vorliegen.

Die zum NO vorliegenden Daten für den Menschen stützen diesen MAK-Wert. Der gesunde Mensch atmet bei jedem Atemzug durch die Nase aufgrund des im Nasenrachenraum endogen gebildeten NO circa $0,1 \text{ ml NO/m}^3$ ein (Lundberg und Weitzberg 1999). Nach zweistündiger Exposition von Probanden gegen 1 ml NO/m^3 wurde eine signifikant verringerte spezifische Leitfähigkeit der Atemwege beobachtet, die aber noch im Normbereich lag (Kagawa 1982) und daher als nicht advers bewertet wurde. In einer Kohorten-Studie im Steinkohlenbergbau waren bei NO-Konzentrationen von $0,84\text{--}1,36 \text{ ml/m}^3$ keine relevanten Effekte bezüglich Lungenfunktionsparameter zu erkennen. Da keine spezifischen Auswertungen höher Exponierter vorliegen, ist es schwierig zu beurteilen, ob auch bei Langzeit-Exposition gegen höhere Konzentrationen Effekte sicher ausgeschlossen werden können. Die untersuchten Lungenfunktionsparameter sind außerdem nicht ausreichend sensitiv, um erste Effekte auf die Lunge zu erfassen. Die Studie widerspricht aber nicht einem MAK-Wert von $0,5 \text{ ml/m}^3$.

Spitzenbegrenzung. Bei den kritischen Effekten, der Zunahme von alveolären Typ-II-Zellen und Makrophagen sowie der Zunahme im Anteil der Epithelfläche, die von Typ-II-Zellen bedeckt wird, und den strukturellen Veränderungen in der Lunge, handelt es sich um lokale Wirkungen. Daher wird NO in die Spitzenbegrenzungskategorie I eingestuft. Aufgrund der Daten beim Menschen, wonach 1 ml/m^3 zwei Stunden lang ohne akute adverse Wirkung vertragen wird, wird ein Überschreitungsfaktor von 2 festgelegt.

Krebserzeugende und keimzellmutagene Wirkung. In vitro erwies sich NO als eindeutig mutagen. In vivo liegt nur eine Studie vor, in der Genmutationen an Lungenzellen von Ratten beobachtet wurden, deren Aussagekraft jedoch nicht klar ist. Die Ergebnisse dieser nicht-validierten Ex-vivo-Studie werden daher als nicht geeignet angesehen, eine In-vivo-Genotoxizität von NO zu belegen. Daten an Keimzellen liegen nicht vor.

Eine an weiblichen Mäusen mit kontinuierlicher Exposition gegen die einzige Konzentration von $2,4 \text{ ml NO/m}^3$ durchgeführte Langzeit-Studie ließ am Zielorgan Lunge keine signifikant erhöhte Inzidenz an Tumoren erkennen. Weitere Kanzerogenitätsstudien oder Initiations-Promotions-Studien liegen nicht vor. Damit liegen keine Daten vor, die auf eine kanzerogene Wirkung von NO hinweisen. Es erfolgt daher keine Einstufung in eine Kategorie für Kanzerogene sowie keine Einstufung in eine Kategorie für Keimzellmutagene.

Hautresorption. Bei einem MAK-Wert von weniger als 1 ml/m^3 kann auch unter Berücksichtigung einer 8-stündigen Ganzkörperexposition im wässrigen Medium lediglich eine Gleichgewichtskonzentration von maximal $0,3 \text{ mg/l}$ (Anwendung des Henry'schen Gesetzes) erreicht werden, und die daraus resultierende Aufnahme aus der Gasphase ist weit von der Menge entfernt, die zu systemisch bedeutsamen Effekten (MetHb) führt. Deshalb unterbleibt für NO eine Markierung mit „H“.

Sensibilisierende Wirkung. Zur Sensibilisierung liegen keine Daten beim Tier vor, beim Menschen ist keine Sensibilisierung bekannt. Daher erfolgt weder eine Markierung mit „Sa“ noch mit „Sh“.

Fruchtschädigende Wirkung. Da keine Daten zur Entwicklungstoxizität vorliegen, wird NO der Schwangerschaftsgruppe D zugeordnet.

7 Literatur

- ACGIH (American Conference of Governmental Industrial Hygienists) (2001) Nitric oxide. In: Documentation of TLVs and BEIs, ACGIH, Cincinnati, OH, USA
- Andreassi MG, Picano E, Del Rey S, Botto N, Colombo MG, Giannessi D, Lubrano V, Vassalle C, Biagini A (2001) Chronic long-term nitrate therapy: possible cytogenetic effect in humans? *Mutagenesis* 16: 517–521
- Arnal JF, Dinh-Xuan AT, Pueyo M, Darblade B, Rami J (1999) Endothelium-derived nitric oxide and vascular physiology and pathology. *Cell Mol Life Sci* 55: 1078–1087
- Azoulay E, Soler P, Blayo MC, Basset F (1977) Nitric oxide effects on lung structure and blood oxygen affinity in rats. *Bull Europ Physiopath Resp* 13: 629–644
- Barbinova L, Bittner C, Baur X (2007) Stickstoffmonoxid-Messung (FeNO) als eine differenzierende Methode in der Diagnostik. *Arbeitsmed Sozialmed Umweltmed* 42: 101
- BASF AG (2006 a) NO₂ – Subacute 5-day range finding inhalation study in male Wistar rats – gas exposure. BASF, 99I0375/03027, Ludwigshafen, unveröffentlicht
- BASF AG (2006 b) Nitrogen dioxide – Subchronic 90-day inhalation study in Wistar rats – gas exposure. BASF, 99I0375/03055, Ludwigshafen, unveröffentlicht
- Beckman JS, Koppenol WH (1996) Nitric oxide, superoxide and peroxynitrite: The good, the bad and the ugly. *Am J Physiol* 271: C1427–C1437
- Bishop A, Anderson JE (2005) NO signalling in the CNS: from the physiological to the pathological. *Toxicology* 208: 193–205
- Bloch WN, Lewis TR, Buch KA, Orthoefer JG, Stara JR (1972) Cardiovascular status of female beagles exposed to air pollutants. *Arch Environ Health* 24: 342–353
- Bolt HM, Neumann HG, Lewalter J (1985) Zur Problematik von BAT-Werten für aromatische Amine. *Arbeitsmed Sozialmed Präventivmed* 20: 197–201
- Calmels S, Hainaut P, Oshima H (1997) Nitric oxide induces conformational and functional modifications of wild-type p53 tumour suppressor protein. *Cancer Res* 57: 3365–3369
- Carreras MC, Poderoso JJ (2007) Mitochondrial nitric oxide in the signaling of cell integrated responses. *Am J Physiol Cell Physiol* 292: C1569–C1580
- Chuang CY, Hung JC, Yang CY, Ma YC, Sung FC (2003) Plasma nitrogen oxides levels in taxi drivers and community residents. *Bull Environ Contam Toxicol* 70: 430–436
- Dahl M, Nordestgaard BG (2009) Markers of early disease and prognosis in COPD. *Int J COPD* 4: 157–167
- Dahmann D, Morfeld P, Monz C, Noll B, Gast F (2009) Exposure assessment for nitrogen oxides and carbon monoxide in German hard coal mining. *Int Arch Occup Environ Health* 82: 1267–1279
- Deja M, Busch T, Bachmann S, Riskowski K, Câmpean V, Wiedmann B, Schwabe M, Hell B, Pfeilschifter J, Falke J, Lewandowski K (2003) Reduced nitric oxide in sinus epithelium of patients with radiologic maxillary sinusitis and sepsis. *Am J Respir Crit Care Med* 168: 281–286
- Dejam A, Hunter CJ, Schechter AN, Gladwin MT (2004) Emerging role of nitrite in human biology. *Blood Cells Mol Dis* 32: 423–429
- Denk H (1996) Zell- und Gewebsreaktionen. In: Böcker W, Denk H, Heitz U (Hrsg) *Pathologie, Urban und Schwarzenberg, München*, 31–64
- Dong M, Dedon PC (2006) Relatively small increases in the steady-state levels of nucleobase deamination products in DNA from human TK6 cells exposed to toxic levels of nitric oxide. *Chem Res Toxicol* 19: 50–57
- Dweik RA, Laskowski D, Abu-Soud HM, Kaneko FT, Hutte R, Stuehr DJ, Erzurum SC (1998) Nitric oxide synthesis in the lung regulation by oxygen through a kinetic mechanism. *J Clin Invest* 101: 660–666
- ECB (European Chemicals Bureau) (2000) Nitrogen monoxide. IUCLID dataset, 18.02.2000, ECB, Ispra, Italien
- FDA (2001) INOmax™ (nitric oxide) for inhalation 100 and 800 ppm (part per million). <http://www.fda.gov/cder/foi/label/2001/20845s1lbl.pdf>
- Felley-Bosco E (1998) Role of nitric oxide in genotoxicity: implication for carcinogenesis. *Cancer Metastasis Rev* 17: 25–37

- Fiserova-Bergerova V, Pierce JT, Droz PO (1990) Dermal absorption potential of industrial chemicals: criteria for skin notation. *Am J Ind Med* 17: 617–635
- Franco L, Doria D, Mattiucci F (2001) Effect of acute exercise on plasma nitric oxide level in humans. *Med Princ Pract* 10: 106–109
- Frostell CG, Blomqvist H, Hedenstierna G, Lundberg J, Zapol WM (1993) Inhaled nitric oxide selectively reverses human hypoxic pulmonary vasoconstriction without causing systemic vasodilation. *Anesthesiology* 78: 427–435
- Gal A, Wogan GN (1996) Mutagenesis associated with nitric oxide production in transgenic SJL mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 93: 15 102–15 107
- Garthwait J (2008) Concepts of neural nitric oxide-mediated transmission. *Eur J Neurosci* 27: 2783–2802
- Gerlach H, Rossaint R, Pappert D, Knorr M, Falke KJ (1994) Autoinhalation of nitric oxide after endogenous synthesis in nasopharynx. *Lancet* 343: 518–519
- Gilian L, Bedu M, Jouaville L, Guichard C, Advenier D, Mom T, Laurent S, Caillaud D (2002) Analysis of nasal and exhaled nitric oxide concentration in nasal polyposis. *Ann Otolaryngol Chir Cervicofac* 119: 234–242
- Giroux M, Ferrieres J (1998) Serum nitrates and creatinine in workers exposed to nitrogen oxides and ammonia. *Sci Total Environ* 217: 265–269
- Görsdorf S, Appel KE, Engeholm C, Obe G (1990) Nitrogen dioxide induces DNA single-strand breaks in cultured Chinese hamster cells. *Carcinogenesis* 11: 37–41
- Groll-Knapp E, Haider M, Kienzl K, Handler A, Trimmel M (1988) Changes in discrimination learning and brain activity (ERP's) due to combined exposure to NO and CO in rats. *Toxicology* 49: 441–447
- Gustafsson LE, Leone AM, Persson MG, Wiklund NP, Moncada S (1991) Endogenous nitric oxide is present in the exhaled air of rabbits, guinea pigs and humans. *Biochem Biophys Res Commun* 181: 852–857
- Guy RH, Potts RO (1993) Penetration of industrial chemicals across the skin: a predictive model. *Am J Ind Med* 23: 711–719
- Heß A, Bloch W, Rocker J, Peters S, Stennert E, Addicks K, Michel O (2000) Nachweis von Stickstoffmonoxidsynthasen bei physiologischen und pathophysiologischen Prozessen in der Nasenschleimhaut. *HNO* 48: 489–495
- Heutelbeck A, Hermann T, Metzner R, Pabst R, Hallier E (2007) Exhalative NO-Konzentration zur Früherkennung berufsbedingter allergischer Atemwegserkrankungen? *Arbeitsmed Sozialmed Umweltmed* 42: 100
- Higgenbotam T (1993) Inhaled nitric oxide: a magic bullet? *Quarterly J Med* 86: 555–558
- Holt PG, Finlay-Jones LM, Keast D, Papadimitrou JM (1979) Immunological function in mice chronically exposed to nitrogen oxides (NO_x). *Environ Res* 19: 154–162
- Huot AE, Hacker MP (1995) Nitric oxide. In: Craighead JE (Hrsg) *Pathology of environmental and occupational disease*, Mosby, St. Louis, 357–372
- Hyde DM, Orthoefer J, Dungworth D, Tyler W, Carter R, Lum H (1978) Morphometric and morphologic evaluation of pulmonary lesions in Beagle dogs chronically exposed to high ambient levels of air pollutants. *Lab Invest* 38: 455–469
- Isomura K, Chikahira M, Teranishi K, Hamada K (1984) Induction of mutations and chromosome aberrations in lung cells following in vivo exposure of rats to nitrogen oxides. *Mutat Res* 136: 119–125
- Jeh HS, Georg SC (2002) Dynamic modeling and simulation of nitric oxide gas delivery to pulmonary arterioles. *Ann Biomed Eng* 30: 946–960
- Kagawa J (1982) Respiratory effects of 2-hr exposure to 1.0 ppm nitric oxide in normal subjects. *Environ Res* 27: 485–490
- Kagawa J (1990) Health effects of exposure to mixtures of nitric oxide and nitrogen dioxide in healthy young women (Abstract). *Indoor Air 90*, The 5th International Conference on Indoor Air Quality and Climate, Toronto July 29–August 3, Vol 1: 307–312
- Kelman DJ, Christodoulou D, Wink DA, Keefer LK, Srinivasan A, Dipple A (1997) Relative mutagenicities of gaseous nitrogen oxides in the supF gene of pSP189. *Carcinogenesis* 18: 1045–1048

32 Stickstoffmonoxid

- Kinsella JP, Abman SH (1999) Recent development in inhaled nitric oxide therapy of the newborn. *Curr Opin Pediatr* 11: 121–125
- Lahl U (2008) Hohe NO₂-Belastungen: Für Dieselabgase weiterhin Handlungsbedarf. Technischer Kongress 2008 des Verbandes der Automobilindustrie, 143–155
- Lala PK, Chakraborty C (2001) Role of nitric oxide in carcinogenesis and tumour progression. *Lancet Oncol* 3: 149–156
- Lee DH, Pfeifer GP (2007) Mutagenesis induced by nitric oxide donor sodium nitroprusside in mouse cells. *Mutagenesis* 22: 63–67
- Lewis TR, Moorman WJ, Yang A, Stara JF (1974) Long-term exposure to auto exhaust and other pollutant mixtures. *Arch Environ Health* 29: 102–106
- Li CQ, Trudel LJ, Wogan GN (2002) Nitric oxide-induced genotoxicity, mitochondrial damage, and apoptosis in human lymphoblastoid cells, expressing wild-type and mutant p53. *Proc Natl Acad Sci* 99: 10364–10369
- Li CQ, Pang B, Kiziltepe T, Trudel LJ, Engelward BP, Dedon PC, Wogan GN (2006) Threshold effects of nitric oxide-induced toxicity and cellular responses in wild-type and p53-null human lymphoblastoid cells. *Chem Res Toxicol* 19: 399–406
- Lin W, Xue H, Liu S, He Y, Fu J, Zhou Z (1998) Genotoxicity of nitric oxide produced from sodium nitroprusside. *Mutat Res* 413: 121–127
- Liu RH, Hotchkiss JH (1995) Potential genotoxicity of chronically elevated nitric oxide: A review. *Mutat Res* 339: 73–89
- Lotz G, Plitzko S, Gierke E, Tittelbach U, Kersten N, Schneider WD (2006) Längsschnittstudie über Dosis-Wirkungs-Beziehungen bei Belastungen durch Salzstaub, Dieselmotoremissionen und Stickoxide in 2 Kalibergwerken. Eigenforschungsprojekt F 5130. Auszug aus dem Tagungsbericht Tb 143 der Schriftenreihe der Bundesanstalt für Arbeitsschutz und Arbeitsmedizin
- Lotz G, Plitzko S, Gierke E, Tittelbach U, Kersten N, Schneider WD (2008) Dose-response relationships between occupational exposure to potash, diesel exhaust and nitrogen oxides and lung function: cross-sectional and longitudinal study in two salt mines. *Int Arch Occup Environ Health* 81: 1003–1019
- Lund MB, Oksne PI, Hamre R, Kongerud J (2000) Increased nitric oxide in exhaled air: an early marker of asthma in non-smoking aluminium potroom workers? *Occup Environ Med* 57: 274–278
- Lundberg JO (2008) Nitric oxide and the paranasal sinuses. *Anat Rec* 291: 1479–1484
- Lundberg JO, Weitzberg E (1999) Nasal nitric oxide in man. *Thorax* 54: 947–952
- Lundberg JO, Weitzberg E, Nordvall SL, Kuylenstierna R, Lundberg JM, Alving K (1994) Primarily nasal origin of exhaled nitric oxide and absence in Kartagener's syndrome. *Eur Respir J* 7: 1501–1504
- Lundberg JO, Farkas-Szallasi T, Weitzberg E, Rinder J, Lidholm J, Anggaard A, Hökfelt T, Lundberg JM, Alving K (1995) High nitric oxide production in human paranasal sinuses. *Nat Med* 1: 370–373
- Maeda N, Imaizumi K, Kon K, Shiga T (1987) A kinetic study on functional impairment of nitric oxide-exposed rat erythrocytes. *Environ Health Perspect* 73: 171–177
- Mercer RR (1999) Morphometric analysis of alveolar responses of F344 rats to subchronic inhalation of nitric oxide. Health Effects Institute, Research Report Nr. 88, Massachusetts, USA
- Mercer RR, Costa DL, Crapo JD (1995) Effects of prolonged exposure to nitric oxide or nitrogen dioxide on the alveolar septa of the adult rat lung. *Lab Invest* 73: 20–28
- Morfeld P, Noll B, Büchte SF, Derwall R, Schenk V, Bicker HJ, Lenaerts, Schrader N, Dahmann D (2010) Effect of dust exposure and nitrogen oxides on lung function parameters of German coalminers: a longitudinal study applying GEE regression 1974-1998. *Int Arch Occup Environ Health* 83: 357–371
- Nakajima T, Oda H, Kusumoto S, Nogami H (1980) Biological effects of nitrogen dioxide and nitric oxide. In: Lee SD (Hrsg) Nitrogen dioxides and their effects on health. Ann Arbor Science Publisher Inc, 121–141
- Nguyen T, Brunson D, Crespi CL, Penman BW, Wishnok JS, Tannenbaum SR (1992) DNA damage and mutation in human cells exposed to nitric oxide. *Proc Natl Acad Sci USA* 89: 3030–3034
- von Nieding G, Wagner HM, Krekeler H (1973) Investigation of the acute effects of nitrogen monoxide on lung function in man. In: Proceedings of the Third International Clean Air Congress,

- October, Düsseldorf, Federal Republic of Germany, Düsseldorf, Society of German Engineers, A14–A16
- Oda H, Kusumoto S, Nakajima T (1975) Nitrosyl-hemoglobin formation in the blood of animals exposed to nitric oxide. *Arch Environ Health* 30: 453–456
- Oda H, Nogami H, Kusumoto S, Nakajima T, Kurata A (1980 a) Lifetime exposure to 2.4 ppm nitric oxide in mice. *Environ Res* 22: 254–263
- Oda H, Nogami H, Nakajima T (1980 b) Reaction of hemoglobin with nitric oxide and nitrogen dioxide in mice. *J Toxicol Environ Health* 6: 673–678
- Olin AC, Alving K, Toren K (2004) Exhaled nitric oxide: relation to sensitization and respiratory symptoms. *Clin Exp Allergy* 34: 221–226
- Pang B, Zhou X, Yu H, Dong M, Taghizadeh K, Wishnok JC, Tannenbaum SR, Dedon PC (2007) Lipid peroxidation dominates the chemistry of DNA adduct formation in a mouse model of inflammation. *Carcinogenesis* 28: 1807–1813
- Phoa N, Epe B (2002) Influence of nitric oxide on the generation and repair of oxidative DNA damage in mammalian cells. *Carcinogenesis* 23: 469–475
- Ridnour LA, Thomas DD, Switzer C, Flores-Santana W, Isenberg JS, Ambs S, Roberts DD, Wink DA (2008) Molecular mechanisms for discrete nitric oxide levels in cancer. *Nitric Oxide*, 19: 73–76
- Routledge MN, Wink DA, Keefer LK, Dipple A (1993) Mutations induced by saturated aqueous nitric oxide in the pSP189 supF gene in human Ad293 and *E. coli* MBM7070 cells. *Carcinogenesis* 14: 12251–12254
- Schlesinger RB (1992) Nitrogen oxides. In: Lippmann M (Hrsg) *Environmental toxicants: Human exposures and their health effects*, Van Nostrand Reinhold, New York, USA, 412–453
- Schmutte C, Rideout III WM, Shen JC, Jones PA (1994) Mutagenicity of nitric oxide is not caused by desamination of cytosine or 5-methylcytosine in double-stranded DNA. *Carcinogenesis* 15: 2899–2903
- SRC (Syracuse Research Corporation) (2008) Physprop database, <http://www.syrres.com/what-we-do/databaseforms.aspx?id=386>
- Stavert DM, Lehnert BE (1990) Nitric oxide and nitrogen dioxide as inducers of acute pulmonary injury when inhaled at relatively high concentrations for brief periods. *Inhalat Toxicol* 2: 53–67
- Stockley RA (2002) Neutrophils and the pathogenesis of COPD. *Chest* 121, Suppl 5 : 151S–155S
- Stopper H, Möller M, Bömmel HM, Schmidt HHHW (1999) Cytotoxic versus genotoxic effects of nitric oxide (NO). *Toxicol Lett* 106: 59–67
- Tamir S, deRojas-Walker T, Wishnok JS, Tannenbaum SR (1996) DNA damage and genotoxicity by nitric oxide. *Methods Enzymol* 22: 230–243
- Thomas DD, Espey MG, Ridnour LA, Hofseth LJ, Mancardi D, Harris CC, Wink DA (2004) Hypoxic inducible factor 1, extracellular signal-regulated kinase, and p53 are regulated by distinct threshold concentrations of nitric oxide. *Proc Natl Acad Sci USA* 101: 8894–8899
- Thomas DD, Ridnour LA, Isenberg JS, Flores-Santana W, Switzer CH, Donzelli S, Hussain P, Vecoli C, Paolucci N, Ambs S, Colton CA, Harris CC, Roberts DD, Wink DA (2008) The chemical biology of nitric oxide: implications in cellular signalling. *Free Radical Biol Med* 45: 18–31
- Vaughan TR, Jennelle LF, Lewis TR (1969) Long-term exposure to low levels of air pollutants. Effects on pulmonary function in the Beagle. *Arch Environ Health* 19: 45–50
- Victorin K (1994) Review of the genotoxicity of nitrogen oxides. *Mutat Res* 317: 43–55
- Violi F, Marino R, Milite MT, Loffredo L (1999) Nitric oxide and its role in lipid peroxidation. *Diabetes Metab Res Rev* 15: 283–288
- Wang C, Trudel LJ, Wogan GN, Deen WM (2003) Thresholds of nitric oxide-mediated toxicity in human lymphoblastoid cells. *Chem Res Toxicol* 16: 1004–1013
- Watanabe H, Fukase O, Isomura K (1980) Combined effects of nitrogen oxides and ozone on mice. In: Lee SD (Hrsg) *Nitrogen oxides and their effects on health*, Ann Arbor Science, Ann Arbor, Michigan, USA, 181–189
- Wink DA, Kasprzak KS, Maragos CM, Elespuru RK, Misra M, Dunams TM, Cebula TA, Koch WH, Andrews AW, Allen JS, Keefer LK (1991) DNA desaminating ability and genotoxicity of nitric oxide and its progenitors. *Science* 254: 1001–1003
- WHO (World Health Organization) (1997) Nitrogen oxides. *IPCS – Environmental health criteria* Nr 188, WHO, Genf, CH

34 Stickstoffmonoxid

- Wilschut A, ten Berge WF, Robinson PJ, McKone TE (1995) Estimating skin permeation. The validation of five mathematical skin permeation models. *Chemosphere* 30: 1275–1296
- Wood J, Garthwaite J (1994) Models of the diffusional spread of nitric oxide: implications for neural nitric oxide signalling and its pharmacological properties. *Neuropharmacology* 33: 1235–1244
- Yadav JS, Seth N (1998) Effect of NO_x on the somatic chromosomes of goldsmiths. *Environ Health Perspect* 106: 643–647
- Yoshida K, Kasama K (1987) Biotransformation of nitric oxide. *Environ Health Perspect* 73: 201–206
- Young JD, Dyar O, Xiong L, Howell S (1994) Methaemoglobin production in normal adults. *Intensive Care Med* 20: 581–584
- Young JD, Sear JW, Valvini EM (1996) Kinetics of methaemoglobin and serum nitrogen oxide production during inhalation of nitric oxide in volunteers. *Brit J Anesth* 76: 652–656
- Zhuang JC, Wright TL, deRojas-Walker T, Tannenbaum SR, Wogan GN (2000) Nitric oxide-induced mutations in the HPRT gene of human lymphoblastoid TK6 cells and in *Salmonella typhimurium*. *Environ Mol Mutagen* 35: 39–47

abgeschlossen am 04.03.2010