

1,2,4-Trichlorbenzol
(CAS-NR.: 120-82-1)

Vorbemerkung:

Grundlage für diese Stellungnahme zu 1,2,4-Trichlorbenzol (TCB) sind die MAK-Begründungen von 1990 [1] und 1996 [2] sowie der Entwurf des EU-Risk-Assessment-Berichts von 1998 [3].

Genotoxizität:

In vitro:

TCB ist im Ames-Test mit und ohne Zusatz von S9-Mix inaktiv. In einem Rec-Assay an *B. subtilis* zeigt TCB in Gegenwart von S9-Mix eine deutliche DNA-schädigende Wirkung. Demgegenüber ist TCB im UMU-Test nur ohne Zusatz von S9-Mix genotoxisch, wahrscheinlich als Folge einer zytotoxischen Wirkung.

Negative Resultate erbrachten ein Chromosomenaberrationstest an CHO-Zellen sowie zwei UDS-Teste an isolierten Rattenhepatozyten.

Die Inkubation von ¹⁴C-TCB mit mikrosomalen Proteinen in vitro führte zu einer messbaren Bindung von TCB-Metaboliten an mikrosomale Proteine und nach Zusatz von Kalbsthymus-DNA auch zur Bindung an die DNA (0,131 nmol/mg DNA). Als reaktive Metaboliten werden Trichlorhydrochinone sowie intermediär gebildete Epoxide angenommen. Eine Verunreinigung der nach der Inkubation isolierten DNA mit ¹⁴C-markierten Proteinen ist jedoch nicht auszuschließen, was die Aussagekraft der Studie beeinträchtigt.

In vivo:

Es liegen 2 Mikrokerntests mit i.p.-Applikation und 1 Mikrokerntest mit oraler Gabe vor. In den Studien mit i.p.-Gabe zeigt TCB zwar eine statistisch signifikant erhöhte Mikrokernelnrate, jedoch weisen beide Studien methodische Mängel auf (keine geeignete Simultankontrolle, keine Angaben zu Vergiftungssymptomen, zu geringe Tierzahl).

In der Studie mit oraler Gabe wirkt TCB lediglich allenfalls schwach clastogen (mit 0,07 bzw. 0,071% statistisch signifikant ab mittlerer Dosis nur zum Zeitpunkt 72 Std.); die Autoren werten das Ergebnis jedoch als negativ, da die Mikrokernelnrate in der Simultankontrolle mit 0,01% außergewöhnlich niedrig liegt im Vergleich zu den historischen Kontrolldaten (Mittelwert 0,073%).

Kanzerogenität:

Die i.p.-Gabe von TCB führt im Rattenleber-Foci-Test nach vorheriger Initiation mit Diethylnitrosamin zu keiner erhöhten Inzidenz an GGT-Foci bei weiblichen Sprague-Dawley-Ratten.

Die dermale Applikation von TCB in Aceton (2 x wöchentlich je 0,03 ml einer 30- bzw. 60%igen Lösung über 2 Jahre) führt bei Slc:ddY-Mäusen zu keiner erhöhten Tumorzinzidenz im Vergleich zur Kontrolle.

Es liegt eine 2-Jahres-Fütterungsstudie an F 344-Ratten und B6C3F₁-Mäusen beiderlei Geschlechts vor.

In der Rattenstudie mit Dosierungen von 0; 5,6; 19,4 bzw. 66,5 mg/kg KGW/Tag (m = männlich) und mit 6,9; 23,5 bzw. 81,4 mg/kg KGW/Tag (w = weiblich) wiesen lediglich die Tiere der höchsten Dosisgruppe toxische Effekte auf (Lebergewichtszunahme, Leberzellhypertrophie, diffuse fettige Leberveränderungen; nur bei Männchen deutlich verringerte Überlebensrate bei Versuchsende und Hyperplasie des Nierenbecken-Übergangsepithels). Das Tumorspektrum und die Tumorzinzidenzen wiesen keine Unterschiede zu den Kontrolldaten auf.

In der Mäusestudie mit Dosierungen von 0; 21; 100 bzw. 520 mg/kg KGW/Tag (m) und mit 0; 26; 127 bzw. 573 mg/kg KGW/Tag (w) kam es bei den Tieren der höchsten Dosis zu einer stark erhöhten Mortalität: 90% der Männchen und alle Weibchen starben im 2. Versuchsjahr. Bei allen TCB-behandelten Tieren war das Lebergewicht erhöht und histologisch konnten zentrilobuläre Hepatozytomegalien sowie vermehrt Leberadenome und Leberkarzinome festgestellt werden. Alle anderen untersuchten Organe waren ohne auffälligen Befund. Die Tumorzinzidenzen sind in der nachfolgenden Tabelle zusammengestellt.

Tabelle: Lebertumor-Inzidenzen bei der Maus nach chronischer oraler Gabe von TCB

1,2,4-Trichlorbenzol	m	0	21	100	520
(mg/kg KGW und Tag)	w	0	26	127	573
Überlebende (104 Wo)	m	45/50	44/49	41/50	5/50
	w	39/50	37/49	42/50	0/50
absolutes Lebergewicht in g (104 Wo)	m	1,6±0,6	1,8±0,4	3,0±1,7	7,4±1,8
	w	1,4±0,2	1,9±0,4	4,0±2,3	k.A.
rel. Lebergewicht in% des Körpergew. (104 Wo)	m	5,0±2,3	5,0±1,4	9,5±5,5	27±5,7
	w	5,1±0,5	6,0±0,9	12±6,8	k.A.
Zentrilobuläre Hepatozytomegalie	m	0/50	0/50	27/50	20/50
	w	0/50	0/50	1/50	8/50
Hepatozelluläre Adenome	m	4/50	7/50	16/50	2/50
	w	3/50	4/50	16/50	8/50
Hepatozelluläre Karzinome	m	8/50	5/50	27/50	50/50
	w	1/50	1/50	28/50	46/50

Reproduktionstoxizität:

Es liegt das Ergebnis einer 2-Generationen-Studie mit TCB an Charles-River-Ratten vor. Dabei erhielten je 20 trächtige Tiere/Dosisgruppe bis zum Werfen der F₀-Generation Normaldiät und anschließend je 17-23 Jungtiere/Dosisgruppe Trinkwasser mit einem TCB-Gehalt von 0; 25; 100 bzw. 400 ppm; eine zusätzliche Vehikel-Kontrollgruppe erhielt 0,125% Tween 20 im Trinkwasser. Die Tiere wurden fortlaufend bis zum Ende der Säugezeit der F₂-Generation behandelt; die geschätzte TCB-Dosis lag durchschnittlich bei 2,5; 8,9 und 33 (i) bzw. 3,7; 14,8 und 53,6 (w) mg/kg KGW/Tag für die erwachsenen Tiere. Die Behandlung blieb ohne Effekt hinsichtlich der Fertilität der Tiere der F₀- und der F₁-Generation; die Entwicklung der Nachkommen verlief normal abgesehen von Nebennieren-Vergrößerungen bei den F₀- und F₁-Tieren der 400 ppm-Gruppe im Alter von 95 Tagen. Damit ergibt sich in dieser Studie ein NOEL von 100 ppm im Trinkwasser entsprechend ca. 8,9 (m) bzw. 14,8 (w) mg/kg KGW/Tag.

Trächtige Sprague-Dawley-Ratten erhielten vom 9.-13. Tag der Trächtigkeit tägliche orale Gaben von je 0; 36; 120; 360 bzw. 1200 mg/kg KGW (gelöst in Maisöl) und wurden am 14. Tag getötet. Ab 120 mg/kg KGW/Tag wurden erste Anzeichen einer maternalen Toxizität beobachtet (Enzyminduktion in der Leber); bei 360 mg/kg war die Körpergewichtszunahme der Muttertiere verringert und die Mortalität leicht (2/9) erhöht; bei 1200 mg/kg starben alle 6 Tiere während des Versuchs. Bei den Feten war lediglich in der 360 mg/kg-Gruppe die Körperentwicklung signifikant verzögert (Verringerung von Kopflänge, Scheitel-Steiß-Länge, Somitenzahl und Proteingehalt); Resorptionsraten, Zahl der lebenden Feten und Inzidenz der Missbildungen wiesen keine Unterschiede zu den Kontrollen auf. Damit ergibt sich in dieser Studie ein NOEL von 36 mg/kg KGW/Tag für die Muttertiere und von 120 mg/kg KGW/Tag für die Feten.

Je ca. 14 trächtige Sprague-Dawley-Ratten/Dosisgruppe erhielten vom 6.-15. Tag der Trächtigkeit tägliche Gaben von je 0; 75; 150 bzw. 300 mg/kg KGW mit der Magensonde. In einer vorherigen Dosisfindungsstudie hatte die Dosis von 600 mg/kg KGW/Tag zu Todesfällen bei den Muttertieren geführt. Die Muttertiere der 300 mg/kg-Gruppe wiesen ein leicht erniedrigtes Körpergewicht bei Studienende auf; andere äußere Anzeichen maternaler Toxizität wurden nicht festgestellt. Bei der Sektion wurden bei den Muttertieren ab 150 mg/kg leichte Leberveränderungen (verstärkte periportale zytoplasmatische Eosinophilie und leichte Anisokaryose der Zellkerne der Hepatozyten) und bei 300 mg/kg zusätzlich ein erhöhtes absolutes und relatives Lebergewicht und Schilddrüsenveränderungen (geringfügig verringerte Follikelgröße und leicht erhöhte Schichtdicke des Epithels, verbunden mit zytoplasmatischen Vakuolisierungen) beobachtet. Die hämatologischen und klinisch-chemischen Untersuchungen der Muttertiere erbrachten ab 150 mg/kg signifikant erniedrigte Hämoglobin- und Hämatokrit-Werte sowie eine signifikante Erhöhung des Proteingehalts und der Aminopyrin-N-demethylase-Aktivität in der Leber. Im Körperfett konnte kein TCB nachgewiesen werden. Nur in der 150 mg/kg-Gruppe wiesen die Jungtiere histologische Veränderungen an der Augenlinse auf (zentrale Bereiche zellulärer Desorientierung und Disaggregation sowie granuläre Degeneration); Angaben zu Inzidenz und Schweregrad dieser Effekte werden in der Publikation nicht gemacht. Teratogene Effekte traten nicht auf. Damit ergibt sich in dieser Studie ein NOEL von 75 mg/kg KGW/Tag für Muttertiere und Feten.

Je 25 trächtige CD-1 Mäuse erhielten vom 8.-12. Tag der Trächtigkeit täglich 130 mg TCB/kg KGW in Maisöl per Schlundsonde und wurden anschließend bis zum Werfen weitergehalten. TCB führte zu keinen erkennbaren fetalen Effekten; die eingesetzte Dosis hatte sich im Vorversuch als eine minimale toxische Dosis für die Muttertiere erwiesen.

Fazit:

Genotoxizität:

Aufgrund der unzureichenden Datenlage bezüglich der genotoxischen Wirkung von TCB in vivo erfolgt gemäß den EU-Einstufungskriterien keine Einstufung (M: -).

Kanzerogenität:

TCB zeigt nur bei der B6C3F₁-Maus nach Verabreichung im Futter eine dosisabhängig ausgeprägte Lebertumorbildung. Allerdings wiesen alle mit TCB behandelten Mäuse in dieser Studie dosisabhängig starke Leberveränderungen auf. Da dieser Mäusestamm bekanntermaßen zu einer hohen Lebertumorinzidenz neigt bei chronischer Leberbelastung, ist dieses Resultat als nicht einstufigsrelevant anzusehen. Da die entsprechende Kanzerogenesestudie an der Ratte zu einem negativen Resultat geführt hat und auch die Frage der Genotoxizität von TCB noch unklar ist, erfolgt gemäß den EU-Einstufungskriterien keine Einstufung (C: -).

Reproduktionstoxizität/Fertilität:

Aus einer 2-Generationen-Trinkwasserstudie an der Ratte ergeben sich keine Hinweise auf mögliche Beeinträchtigungen der Fertilität durch TCB; allerdings kann aufgrund der offenbar zu niedrig gewählten Dosierung keine abschließende Bewertung erfolgen. Gemäß den EU-Einstufungskriterien ergibt sich keine Einstufung (R_F: -).

Reproduktionstoxizität/Entwicklung:

Weder in der 2-Generationen-Rattenstudie mit Verabreichung im Trinkwasser noch in zwei Teratogenitätsstudien an Ratten mit Schlundsondenapplikation hat sich TCB als teratogen erwiesen. Allerdings traten in der 2-Generationen-Studie bei 400 ppm im Trinkwasser (ca. 33 bzw. 53,6 mg/kg KGW/Tag) Nebennieren-Vergrößerungen auf und in einer der beiden Teratogenitätsstudien kam es zu Augenlinsenschädigungen der Feten nur bei der bereits leicht maternal toxischen Dosis von 150 mg/kg KGW/Tag; in der 300 mg/kg-Gruppe trat dieser Effekt nicht auf. In der anderen Teratogenitätsstudie war die embryonale Entwicklung ab 360 mg/kg KGW/ Tag verzögert, offensichtlich als Folge deutlich ausgeprägter Maternaltoxizität (22%ige Letalität). Ein Chernoff-Kavlock-Screening-Test an der Maus verlief negativ.

Aufgrund der methodischen Mängel der 2-Generationen-Studie (zu geringe Dosierung) und einer der Teratogenitätsstudien (Behandlung nur vom 9.-13. Tag, Tötung am 14. Tag) kann nur die 2. Teratogenitätsstudie bezüglich des Studiendesigns als valide angesehen werden. Aussagekräftige Studien an einer 2. Spezies fehlen.

Die Relevanz der in der einzigen validen Teratogenitätsstudie an Ratten beobachteten fetalen Augenschädigungen ist unklar, da dieser Effekt nur in der mittleren Dosisgruppe auftrat und damit keine Dosisabhängigkeit aufweist und da außerdem in der Publikation keine Angaben zu Inzidenz und Schweregrad gemacht werden. Da zudem vergleichbare Effekte in keiner der anderen vorliegenden Studien beobachtet wurden, erscheint es durchaus zweifelhaft, ob es sich hierbei um einen substanzbedingten Effekt handelt. Dies um so mehr, da die Autoren in der Publikation darauf hinweisen, dass die histopathologische Befundung der anderen fetalen Gewebe aufgrund von Autolyse und unzureichender Konservierung erschwert war, was auch zu Zweifeln an der Qualität der Augenbefunde führt.

Die Relevanz der in der 2-Generationen-Ratten-Studie beobachteten Nebennierenvergrößerungen bei den Nachkommen für die Frage der Einstufung als reproduktionstoxisch ist unklar, da dieser Effekt möglicherweise erst nach der Geburt als Folge der direkten oralen Aufnahme von TCB-haltigem Trinkwasser hervorgerufen worden ist (die Befundung erfolgte erst am 95. Lebenstag). Daher bleibt dieser Befund beim Einstufungsvorschlag unberücksichtigt.

Insgesamt erfolgt somit gemäß den EU-Einstufungskriterien keine Einstufung (R_E: -).

Literatur:

- [1] Greim, H. (Hrsg.): Gesundheitsschädliche Arbeitsstoffe. Toxikologisch-arbeitsmedizinische Begründung von MAK-Werten: Trichlorbenzol (alle Isomeren). VCH, Weinheim (1990)
- [2] Greim, H. (Hrsg.): Gesundheitsschädliche Arbeitsstoffe. Toxikologisch-arbeitsmedizinische Begründung von MAK-Werten: 1,2,4-Trichlorbenzol. VCH, Weinheim (1996)
- [3] Danish Environmental Protection Agency: Draft Risk Assessment Report on 1,2,4-trichlorobenzene. Copenhagen (1998).

(Stand: Nov. 1998)