

## Furan

(CAS-Nr.: 110-00-9)

### Herstellung und Verwendung:

Furan kommt in Ölen, die durch Destillation von Kiefernharzen gewonnen werden, bei der Verbrennung von Kohle, in Motorabgasen und im Tabakrauch vor [IARC Monographs, 1995].

Die kommerzielle Herstellung von Furan erfolgt durch Decarbonylierung von Furfural in Gegenwart von Katalysatoren. Es wird weiterhin durch Oxidation von Butadien bzw. im Hochtemperaturprozess in Anwesenheit von Katalysatoren gewonnen.

Furan ist Zwischenprodukt bei der Synthese verwandter organischer Verbindungen, wie Tetrahydrofuran, Pyrrol und Thiophen und Ausgangsstoff bzw. Reaktionspartner bei der Herstellung von verschiedenen Polymerverbindungen, von Pharmazeutika und von Bioziden [IARC Monographs, 1995; NTP, 1993; AIHA, 1993].

Als berufliche Expositionsgrenze wird in der Russischen Föderation ein Grenzwert von  $0,5 \text{ mg/m}^3$  und der Zusatz "Hautreizend" angegeben [ILO, 1991].

### Erfahrungen am Menschen:

Daten über eine berufsbedingte Exposition am Menschen liegen nicht vor.

Die Exposition ist mit hoher Wahrscheinlichkeit gering, weil industrielle Prozesse, an denen Furan beteiligt ist, in geschlossenen Systemen ablaufen.

Es ist jedoch von einer minimalen Exposition der Allgemeinbevölkerung auszugehen, da der Kontakt mit Produkten, die durch Furan verunreinigt sind, nicht auszuschließen ist. So wurden im Urin von normalen gesunden Menschen eine Reihe von Furanverbindungen nachgewiesen [NTP, 1993].

### Toxikokinetik und Metabolismus:

Für kinetische Untersuchungen erhielten männliche F344-Ratten  $8 \text{ mg/kg KG}$  radioaktiv markiertes Furan in Maisöl 1x am Tag bis zu 8 Tagen mit dem Futter. Furan wurde schnell absorbiert. Nur 14 % der verabreichten Menge an Furan wurde unverändert ausgeatmet. Nach Verabreichung einer einfachen Dosis von  $8 \text{ mg/kg}$  wurde nach 24 Stunden 24,8 % des radioaktiv gekennzeichneten Furans als Kohlendioxid nachgewiesen, 25,3 % wurde im Urin vorwiegend als Mercapturate

eliminiert und 20,4% wurde in den Fäzes gefunden. 19,4 % Furan war im Gewebe angereichert, davon 13 % in der Leber, kleinere Mengen in der Niere und im Gastrointestinaltrakt. Nur 20 % des in der Leber angereicherten Furans konnte mit organischen Lösemitteln extrahiert werden, der Rest war kovalent an Makromoleküle gebunden, aber nicht an die DNA der Leberzellen.

Die Metabolisierung von Furan erfolgt durch eine Cytochrom P450-katalysierte Oxidation unter Bildung eines reaktiven Zwischenprodukts (cis-2-Buten-1,4-dial), das befähigt ist, mit zellulären Makromolekülen zu reagieren [IARC, 1995; NTP, 1993].

Neuere kinetische Untersuchungen an isolierten Ratten-, Mäuse- und menschlichen Hepatozyten (10 ppm wurden 4 Stunden inkubiert) bestätigen die Bioaktivierung von Furan durch Cytochrom P450 2E1. Die Metabolisierungsreaktion folgt einer Michaelis-Menten-Kinetik [Kedderis et al, 1996].

In einer weiteren Arbeit wird ebenfalls cis-2-Buten-1,4-dial als Hauptmetabolit von Furan festgestellt und chemisch charakterisiert [Chen et al, 1995].

### **Wirkungsweise:**

Im Tierversuch wirkt Furan zytotoxisch und verursacht bevorzugt Nekrosen in den Organen Leber, Niere und Lunge. Die Zellen dieser Organe (Hepatozyten, tubuläre Epithelzellen, Clara-Zellen) weisen einen hohen Gehalt an Cytochrom P450 und seinen multiplen Formen auf.

Eine intraperitoneale Injektion hoher Dosen von Furan (100 bis 300 mg/kg) an männliche Swiss-Albino-Mäuse verursachte nach 48 Stunden toxische Leber- und Nierenschädigungen (zentrilobuläre hepatische Nekrose und koagulative Nekrose des proximalen Tubuli contorti der äußeren Nierenrinde). [IARC Monographs, 1995; NTP, 1993].

Bei einer einmaligen oralen Verabreichung von 30 und 50 mg/kg Furan, gelöst in Maisöl, an Gruppen von je 5 männlichen B6C3F1/CrIBR-Mäusen und F344/CrBR-Ratten (die Tiere wurden zu verschiedenen Zeiten getötet: zwischen 12 Stunden und 8 Tagen nach der Behandlung) zeigten sich hepatozelluläre Nekrosen und es wurden verstärkte Enzymaktivitäten beobachtet [IARC Monographs, 1995].

Die hohe Toxizität von Furan wird durch die Bildung des durch Cytochrom P450 erzeugten reaktiven En-Dialdehyd- Metaboliten erklärt [NTP, 1993].

In einer neueren Studie wird die kovalente Bindung von cis-2-Buten-1,4-dial an Proteine untersucht und bestätigt [Chen et al, 1997].

Es liegt eine Studie vor, in der der Einfluss des hepatotoxischen Metabolismus von Furan auf die hepatischen Mitochondrien untersucht wurde [Mugford et al, 1995, 1997]. Männlichen F344-Ratten wurde 0, 8, 15, und 30 mg/kg Furan, gelöst in Maisöl, verabreicht. Die Tiere wurden 24 Stunden nach der Applikation getötet und die hepatischen Mitochondrien isoliert.

In in-vitro-Testreihen wurden frisch isolierte Ratten-Hepatozyten mit 2 - 100 µmol Furan für 1 - 4 Stunden inkubiert. Die Ergebnisse zeigten sowohl in vivo als auch in vitro eine Verringerung des ATP-Gehaltes in den Hepatozyten. Dies führte zum Entkoppeln der oxidativen Phosphorylierung und beeinflusste die mitochondriale Atmung. Die mitochondrialen Schädigungen waren von der Furankonzentration und von der Inkubationszeit abhängig und waren irreversibel. Sie wurden durch die Cytochrom-P450-abhängige Metabolisierung von Furan zu cis-2-Buten-1,4-dial verursacht. Durch eine Vorbehandlung der Hepatozyten mit 1-Phenylimidazol, einem Cytochrom-P450-Inhibitor, konnten diese mitochondrialen Veränderungen verhindert werden.

Nach Meinung der Autoren bewirkt der ATP-Verlust in den Hepatozyten allein noch keinen Zelltod, er ist aber als dessen Vorläufer ("an early event in cell death") anzusehen und initiiert offensichtlich eine Kaskade irreversibler Ereignisse, die den Zelltod herbeiführen.

Weitere Untersuchungen zum zytotoxischen Charakter von Furan [Mugford et al, Juni 1997 (CIIT Activities)] bestärken die Hypothese, dass die durch Cytochrom P450 katalysierte Bildung des Metaboliten cis-2-Buten-1,4-dial ein Entkoppeln der oxidativen Phosphorylierung, verbunden mit einem ATP-Verlust, verursacht. Dadurch wird die Ionen-Homöostase in der Zelle gestört und das Calcium-Niveau erhöht. Als Folge des ansteigenden Calcium-Gehaltes können Endonukleasen aktiviert werden, die Doppelstrangbrüche in der DNA auslösen. Dieser Mechanismus einer indirekten DNA-Schädigung kann einerseits durch falsche Reparatur zu weiteren Mutationen in den Zellen führen und andererseits Zellen in einer Weise, z.B. durch reparatives Wachstum, schädigen und damit zur Tumorentwicklung beitragen. Zur umfassenderen Klärung dieser Zusammenhänge zwischen Zytotoxizität, DNA-Schädigungen und Tumorbildung sind im CIIT weitere Studien geplant.

### **Genotoxizität:**

Furan war im Salmonella typhimurium-Test an den Stämmen TA98, TA100, TA102, TA104, TA1535 und TA1537 weder in Abwesenheit noch in Anwesenheit eines metabolischen Aktivierungssystems (Aroclor 1254-induzierte männliche Sprague-Dawley Ratten- oder Syrischer Hamster-Leber) mutagen. Die maximal getestete Konzentration im Bereich beginnender Toxizität betrug 10 000 µg/Platte [NTP, 1993].

Furan induzierte Trifluorthymidin-Resistenz an L5178Y-Maus-Lymphom-Zellen bei Konzentrationen von 1139 µg/ml bis 3800 µg/ml in Abwesenheit eines metabolischen Aktivierungssystems (S9) [NTP, 1993].

Im geschlechtsbezogenen rezessiven Letaltest war Furan an Keimzellen von Drosophila melanogaster sowohl im Fütterungsversuch (10 000 ppm) als auch bei abdominalen Injektion (25 000 ppm) nicht mutagen [NTP, 1993].

Untersuchungen zur DNA-Reparatur an primären Maus-Hepatozyten führte in vitro bei einer Dosis von 680 µg/ml zu negativen Ergebnissen.

Auch in vivo-Untersuchungen an primären Ratten-Hepatozyten (einmalige orale Verabreichung von 100 mg/kg) und an primären Maus-Hepatozyten (einmalige orale Verabreichung von 200 mg/kg) zeigten keine DNA-Reparatur [IARC Monographs, 1995].

An isolierten Hepatozyten von männlichen F-344-Ratten erzeugte Furan bei einer Dosis von 100 µmol DNA-Doppelstrangbrüche. Den Doppelstrangbrüchen ging eine Verringerung des ATP-Gehaltes in den Hepatozyten voraus. Die Autoren schlussfolgern, dass durch den ATP-Verlust die für den DNA-Reparaturprozess erforderliche Energie nicht mehr zur Verfügung steht, und es somit zu Doppelstrangbrüchen kommt [Mugford et al., 1996, 1997].

In zytogenetischen Tests mit CHO-Zellen des Chinesischen Hamsters induzierte Furan erhöhte SCE-Raten und Chromosomenaberrationen sowohl in Abwesenheit als auch in Anwesenheit von Aroclor 1254-induzierter männlicher Sprague-Dawley Ratten-Leber S9. Bei Konzentrationen von 1,6 bis 160 µg/ml Furan war die SCE-Rate ohne S9 signifikant erhöht. In Anwesenheit von S9 wurde eine signifikante Erhöhung der SCE-Rate nur bei 500 µg/ml, der höchsten verwendeten Dosis, beobachtet.

Chromosomenaberrationen wurden ohne S9 in einem Konzentrationsbereich von 100 - 500 µg/ml und mit S9 in einem Konzentrationsbereich von 500 - 1000 µg/ml induziert [NTP, 1993].

Intraperitoneale Injektionen von Furan bewirkten bei männlichen B6C3F1-Mäusen in Knochenmarkzellen keine erhöhten SCE-Raten (zwei Testreihen mit je 5 Tieren; verabreichte Dosen lagen bei der ersten Testreihe zwischen 87,5 und 350 mg/kg Furan mit einer Expositionszeit von 23 Stunden und bei der zweiten Testreihe zwischen 25 und 100 mg/kg Furan mit einer Expositionszeit von 42 Stunden) [NTP, 1993].

Weitere intraperitoneale Injektionen von Furan erfolgten an männlichen B6C3F1-Mäusen in 3 Testreihen mit je 10 Tieren. Die Konzentrationen lagen bei der ersten Testreihe zwischen 87,5 und 350 mg/kg Furan. Die Tiere wurden 17 Stunden nach der Furan-Behandlung getötet. Die aufgearbeiteten Zellen wiesen keine erhöhten Chromosomenaberrationen in Knochenmarkzellen auf. Bei der zweiten und dritten Testreihe wurden jeweils Konzentrationen zwischen 62,5 und 250 mg/kg verwendet. Die Tötung der Tiere erfolgte nach 36 Stunden. Signifikante Chromosomenaberrationen in Knochenmarkzellen wurden nur bei der höchsten Dosis von 250 mg/kg Furan in beiden Versuchsreihen beobachtet [NTP, 1993].

### **Kanzerogenität:**

Untersuchungen zur Kanzerogenität an Mäusen und Ratten wurden in einer 2-Jahres-Studie [NTP,1993] vorgenommen.

Zur Dosisfindung wurden die Ergebnisse einer 13-Wochen-Studie herangezogen. In dieser Studie wurde an Gruppen von je 10 männlichen und weiblichen Ratten an 5 Tagen/Woche Dosen von 0, 4, 8, 15, 30, und 60 mg/kg Furan, gelöst in Maisöl, oral verabreicht (Tabelle 1).

## Ergebnisse:

- Die Überlebensrate der Tiere war bei der höchsten Dosis reduziert (9 männliche und 4 weibliche Ratten der 60 mg/kg-Gruppe starben vor Beendigung der Untersuchungen).
- Die mittleren Körpergewichte der Tiere in den höheren Dosis-Gruppen (ab 15 mg/kg) waren signifikant reduziert, während sie in den 4 mg/kg- und 8 mg/kg-Dosisgruppen denen der Kontrolltiere glichen.
- Bei Dosen von 4 und 8 mg/kg wurde vorwiegend das Gallengangepithel geschädigt.
- Hepatotoxizität wurde bei allen verwendeten Dosen beobachtet, jedoch waren die Inzidenz und Stärke der durch Furan induzierten Schädigungen bei einer Dosis von 4 mg/kg deutlich geringer als bei einer Dosis von 8 mg/kg.
- Bei allen höheren Dosen (15, 30 und 60 mg/kg) traten toxische Schädigungen des biliären Traktes (Cholangiofibrose, Hyperplasie), der Hepatozyten (Zytomegalie, Degeneration, Nekrose), der Kupffer-Zellen (Pigmentation) und der Nieren (tubulare Dilatation und Nekrose des tubularen Epithels) bei nahezu allen exponierten Tieren (80 - 100 %) auf.
- Aufgrund dieser Ergebnisse wurden für die Untersuchungen in der 2-Jahres-Studie an Ratten eine Dosis von 8 mg/kg als höchste Dosis und eine Dosis von 4 mg/kg als mittlere Dosis gewählt. Eine Dosis von 2 mg/kg Furan wurde als no-effect-level (NOEL) angenommen.

In der 2-Jahres-Studie erhielten Gruppen von 50 männlichen und von 50 weiblichen Fischer 344/N-Ratten Furan, gelöst in Maisöl, in Dosen von 2, 4 und 8 mg/kg an 5 Tagen/Woche mit dem Futter über 102 Wochen (Tabelle 2).

## Ergebnisse der 2-Jahres-Studie bei F344-Ratten:

- Die Anzahl der überlebenden Tiere war bei den männlichen und weiblichen Ratten bei 8 mg/kg reduziert.
- Die mittleren Körpergewichte der weiblichen Ratten aller Dosierungsgruppen und die der männlichen Ratten, die 2 bzw. 4 mg/kg Furan erhielten, ähnelten denen der Kontrolltiere. Die männlichen Ratten zeigten bei einer Dosis von 8 mg/kg Furan um 6 - 8% niedrigere mittlere Körpergewichte ab der 73. Woche bis zum Ende der Studie als die Kontrolltiere.
- Die Inzidenz von hepatozellulären Adenomen war bei allen Tieren erhöht (viele Ratten zeigten multiple Adenome).
- Hepatozelluläre Karzinome traten dagegen nur bei männlichen Tieren auf.
- Cholangiokarzinome traten bei allen exponierten Tieren mit hoher Inzidenz auf, wurden jedoch bei keinem Tier der Kontrollgruppe beobachtet.
- Nicht-neoplastische Leber-Schäden, die Fibrose, Hyperplasie, chronische Entzündungen und Metaplasie des biliären Traktes, Zytomegalie, Degeneration und Nekrose, nodulare Hyperplasie, zytoplasmatische Vakuolisierung der Hepatozyten und Pigmentation von Kupffer-Zellen umfassten, wiesen alle exponierten Ratten auf.

- Bei den männlichen und weiblichen Ratten war die Inzidenz von mononukleärer Zell-Leukämie dosisbezogen erhöht.

Um das biologische Potential der in der 13-Wochen-Studie aufgetretenen Schädigungen abzuschätzen, wurden zusätzlich 20 Ratten pro Gruppe in die 2-Jahres-Studie einbezogen.

Zur Beurteilung einer möglichen Progression an proliferativen Schädigungen von Leber und Galle wurde nach 9 und 15 Monaten an je 10 Ratten/Gruppe Zwischenuntersuchungen durchgeführt (Tabellen 3 und 4).

Ergebnisse:

- Cholangiokarzinome traten nach 9 und 15 Monaten bei allen exponierten Tieren auf, jedoch keine anderen Tumoren.
- Die Inzidenz nicht-neoplastischer Effekte (multifokale Fibrose, Hyperplasie und Entzündung des biliären Traktes, multifokale Degeneration, Hyperplasie, Nekrose und zytoplasmatische Vakuolisierung der Hepatozyten) nahm dosisbezogen zu.

Stop-Expositions-Studie:

In einer gesonderten Studie wurde an 50 männlichen Ratten 30 mg/kg Furan, gelöst in Maisöl, mit dem Futter an 5 Tagen/Woche für 13 Wochen verabreicht. Die Tiere wurden für den Rest von 2 Jahren ohne zusätzliche Furan-Gabe nachbeobachtet. Gruppen von je 10 Tieren wurden am Ende der Furan-Exposition nach 13 Wochen, nach 9 und nach 15 Monaten getötet und untersucht.

Nach 13 Wochen zeigten sich verstärkt nicht-neoplastische Schädigungen der Leber. Diese Effekte bildeten sich nach Beendigung der Furan-Exposition nicht zurück, sondern entwickelten sich zu Cholangiokarzinomen, die bei allen Tieren sowohl nach 9 als auch nach 15 Monaten beobachtet wurden.

Die Autoren vermuten, dass bei den während der 13-wöchigen Exposition aufgetretenen Schäden bereits ein neoplastisches Potential von Furan vorhanden war.

Nach 15 Monaten traten hepatozelluläre Karzinome auf (Tabelle 5).

Proben eines durch Furan induzierten neoplastischen Gewebes der 2-Jahres-Studie und der Stop-Exposition wurden 6 Wochen alten männlichen und weiblichen F344-Ratten subkutan in die Leistengegend transplantiert. Die neoplastischen Gewebe vergrößerten sich sehr schnell, und einige bildeten Metastasen.

In der 2-Jahres-NTP-Studie wurden außerdem Untersuchungen an Gruppen von 50 männlichen und 50 weiblichen B6C3F1-Mäusen durchgeführt.

Zur Dosisfindung wurden die Ergebnisse der 13-Wochen-Studie herangezogen. Männliche Mäuse erhielten in der 13-Wochen-Studie Dosen von 2, 4, 8, 15, 30 mg/kg Furan und weibliche Mäuse Dosen von 4, 8, 15, 30, und 60 mg/kg Furan (Tabelle 6).

#### Ergebnisse:

- Die Überlebensrate der Tiere war durch die Furanexposition nicht reduziert. Lediglich ein Männchen der Dosisgruppe 4 mg/kg starb in der 7. Behandlungswoche und ein Weibchen der Dosisgruppe 30 mg/kg in der 2. Behandlungswoche.
- Die mittleren Körpergewichte der Tiere ähnelten bis auf eine Ausnahme nach Versuchsende denen der Kontrollgruppe. Lediglich bei den Männchen der 30 mg/kg-Dosisgruppe war das Körpergewicht signifikant erniedrigt.
- Schädigungen, wie Hyperplasie des biliären Traktes, Zytomegalie, Degeneration und Nekrose der Hepatozyten, traten bei Dosen von 30 und 60 mg/kg bei Männchen und Weibchen auf.
- Eine Dosis von 15 mg/kg verursachte bei den männlichen Tieren in einem Fall Degeneration und bei einem weiteren Tier Nekrose der Hepatozyten. Bei drei weiblichen Tieren wurde bei dieser Dosierung eine Degeneration der Hepatozyten beobachtet.
- Eine Dosis von 8 mg/kg zeigte bei den weiblichen Tieren keine Schädigungen, bei den männlichen Mäusen wurde lediglich bei einem Tier eine geringe fokale Nekrose der Hepatozyten festgestellt.
- Aufgrund der minimalen hepatotoxischen Effekte wurden für die 2-Jahres-Studie 15 mg/kg als höchste Dosis gewählt. Da bei der Dosis von 8 mg/kg keine Schädigungen bei weiblichen Mäusen auftraten, und nur bei einem männlichen Tier eine fokale Nekrose der Hepatozyten zu verzeichnen war, wurde diese Dosis als no-effect-level (NOEL) betrachtet und als niedrigste Dosis in der 2-Jahres-Studie eingesetzt.

In der 2-Jahres-Studie erhielten Gruppen von je 50 männlichen und weiblichen B6C3F1-Mäusen Dosen von 8 und 15 mg/kg Furan, gelöst in Maisöl, mit dem Futter an 5 Tagen / Woche über 104 Wochen (Tabelle 7).

#### Ergebnisse der 2-Jahres-Studie:

- Am Ende der Studie war die Anzahl der Überlebenden bei den männlichen Mäusen bei beiden Dosen signifikant reduziert, bei den Weibchen nur bei der hohen Dosis. Die Anzahl der überlebenden Weibchen bei der niedrigen Dosis ähnelte denen der Kontrollgruppe.
- Die mittleren Körpergewichte der männlichen Tiere waren bei einer Dosis von 15 mg/kg Furan um 5 - 21 % ab der 11. Woche bis zum Ende der Studie und bei einer Dosis von 8 mg/kg Furan um 5 - 14 % ab der 76. Woche bis zum Ende der Studie gegenüber denen der Kontrollgruppe reduziert. Bei den weiblichen Mäusen verminderte sich das mittlere Körpergewicht bei einer Dosis von 15 mg/kg Furan um 6 - 19 % ab der 36. Woche bis zum Ende der Studie gegenüber der Kontrollgruppe. Bei der niedrigen Dosis ähnelte das mittlere Körpergewicht der Weibchen dem der Kontrolltiere.
- Die Inzidenz von hepatozellulären Adenomen und Karzinomen nahm dosisbezogen sowohl bei den männlichen Tieren als auch bei den weiblichen Tieren zu.

- Vier Männchen wiesen bei der niedrigen Dosis Cholangiokarzinome auf, bei der hohen Dosis wurden nur bei zwei männlichen Tieren Cholangiokarzinome beobachtet.
- Alle exponierten Tiere zeigten eine hohe Inzidenz von nicht-neoplastischen Leberschädigungen, die Hepatozyten-Zytomegalie, Degeneration und Nekrose, multifokale Hyperplasie, zytoplasmatische Vakuolisierung, Kupfer-Zell-Pigmentation, Dilatation, Fibrose, Hyperplasie und Gallengangentzündungen umfassten.
- Die Inzidenz von benignen Phäochromozytomen nahm bei den exponierten Tieren dosisbezogen zu.

In einer Studie [Elmore et al., 1993] zur Charakterisierung der Histopathogenese von intrahepatischen Cholangiokarzinomen, die durch Furan induziert wurden, erhielten 10-12 männliche F344/N- Ratten (Gewicht: 160-190 g) 30 mg/kg/KG Furan, gelöst in Maisöl, mit dem Futter an 5 Tagen/Woche für 6-13 Wochen. Die Tiere wurden bis zu 16 Monaten nachbeobachtet. Die Schädigungen wurden als "hepatische Adenokarzinome" beschrieben und waren im rechten kaudalen Lappen angesiedelt bei

- 4/9 Ratten nach 6-wöchiger Behandlung,
- 6/8 Ratten nach 9-wöchiger Behandlung,
- 5/7 Ratten nach 12-wöchiger Behandlung und
- 9/10 Ratten nach 13-wöchiger Behandlung.

Die meisten Tumoren wiesen kleine intestinale Unterschiede auf, die sich durch die Anwesenheit von Goblet-Zellen (Becherzellen), von Paneth-Zellen und von Serotonin-positiven Zellen zeigten. Es wurden auch 2 hepatozelluläre Karzinome bei Tieren nach einer 13-wöchigen Behandlung nachgewiesen. Zellen der Adenokarzinome enthielten kein TGF, wohingegen es bei Zellen der hepatozellulären Karzinome gefunden wurde.

Zur Untersuchung des Mechanismus der durch Furan induzierten Hepatokanzerogenität wurden männlichen B6C3F1-Mäusen einmalig 400 mg/kg KG Furan 15 Tage nach der Geburt bzw. 6 x 200 mg/kg am 3., 6., 9., 12., 15. und 18. Tag nach der Geburt intraperitoneal injiziert. Die Tiere wurden zwischen der 28. und 95. Woche getötet.

Als Ergebnis zeigte sich bei den Tieren, die 6 x 200 mg/kg Furan erhielten, eine größere Inzidenz und Multiplizität von Lebertumoren im Vergleich zur Kontrollgruppe und zu den Tieren, denen 400 mg/kg Furan verabreicht wurde. Bei der Dosis-Gruppe von 400 mg/kg war die Gesamtstumormultiplizität vergrößert, aber nicht die Prävalenz der Lebertumoren.

Eine Analyse der DNA in jeweils 28 Tumoren der Einfach-Dosis-Gruppe und der 6-fach-Dosis-Gruppe ergab eine Hras1-Aktivierung von 82 % bei der Einfach-Dosis-Gruppe und von 32 % bei Tumoren der 6-fach-Dosis-Gruppe.

Es gab keinen histomorphologischen Nachweis für Anzeichen von Hepato-Zytotoxizität sowohl 24 Stunden nach der Furan-Injizierung als auch zu späteren Zeiten bzw. zum Ende der Versuche.



Anhand dieser Resultate stellen die Autoren die Hypothese auf, dass die durch Furan bewirkte Hepatokanzerogenität durch einen genotoxischen Mechanismus, zumindest im Anfangsstadium des kanzerogenen Prozesses, ausgelöst wird. Sie schließen jedoch die Möglichkeit nicht aus, dass bei chronischer Verabreichung Furan zytotoxisch wirkt und Zellproliferation induziert wird. Diese Vorgänge verstärken die auf einem genotoxischen Mechanismus beruhende Tumorbildung [Johansson et al, 1997].

### **Reproduktionstoxizität:**

Zur Reproduktionstoxizität liegen keine Angaben vor.

### **Fazit:**

#### Genotoxizität:

Bei Untersuchungen zur Genotoxizität zeigte Furan an den Stämmen von Salmonella typhimurium keine Mutagenität. Furan bewirkte auch keine geschlechtsbezogenen rezessiven Letalmutationen an den Keimzellen von Drosophila melanogaster. In zytogenetischen Tests an CHO-Zellen des Chinesischen Hamsters induzierte Furan in vitro erhöhte SCE-Raten und

Chromosomenaberrationen. DNA-Reparaturtests an Hepatozyten von Mäusen in vitro und an Hepatozyten von Mäusen und Ratten in vivo (Hepatozyten wurden nach Verfütterung isoliert) verliefen negativ. Furan erzeugte DNA-Doppelstrangbrüche an isolierten Ratten-Hepatozyten. Bei intraperitonealer Injektion wirkte Furan allerdings unter verlängerten Expositionsbedingungen bei der höchsten getesteten Dosis (250 mg/kg KG) in Knochenmarkzellen von Mäusen klastogen. Die ebenfalls untersuchte SCE-Rate war nicht erhöht. Aufgrund dieser Ergebnisse erfolgt gemäß den EU-Einstufungskriterien keine Einstufung (M: -).

#### Kanzerogenität:

Studien zur kanzerogenen Wirkung von Furan auf den Menschen liegen nicht vor.

Im Verlauf der 2-Jahres-Studie war bei männlichen und weiblichen Ratten die Inzidenz von Cholangiokarzinomen signifikant erhöht. Hepatozelluläre Adenome traten bei männlichen und weiblichen Tieren und hepatozelluläre Karzinome bei den männlichen Tieren vermehrt auf.

Mononukleäre Zell-Leukämien nahmen dosisbezogen bei männlichen und weiblichen Ratten zu.

Die Entwicklung von Cholangiokarzinomen nach Beendigung einer 13-wöchigen Exposition (Stop-Expositions-Studie) aus zunächst nicht-neoplastischen Schädigungen der Leber bei den Ratten weist auf ein kanzerogenes Potential von Furan hin.

Bei den Mäusen wurden sowohl bei den männlichen als auch bei den weiblichen Tieren hepatozelluläre Neoplasien (Adenome und Karzinome) und benigne Phäochromozytome beobachtet.

Hohe Furandosen bewirkten bei Ratten und Mäusen verstärkte Enzymaktivitäten und hepatozelluläre Nekrosen. Dies deutet darauf hin, dass die zytotoxische Wirkung von Furan die Zellproliferation begünstigt.

Obwohl die Zusammenhänge zwischen Zytotoxizität, Proliferation und Tumorbildung noch nicht vollständig geklärt sind, kann man davon ausgehen, dass die durch Furan verursachte Hepatokanzerogenität mit dem zytotoxischen Charakter von Furan korreliert ist und somit die Zytotoxizität als ein wesentlicher Faktor den Prozess der Tumorbildung begünstigt.

Aufgrund der nachgewiesenen Tumorbildung bei Ratten und Mäusen, der positiven Ergebnisse der Genotoxizitätstests in vitro und der klastogenen Wirkung von Furan in vivo ist von einem kanzerogenen Potential dieser Substanz auszugehen. Jedoch lassen die erhöhten Tumorinzidenzen bei den in dieser Studie gewählten Dosen bei Ratten und bei Mäusen, die bereits bei niedrigen Dosen (2 mg/kg - Ratten und 8 mg/kg - Mäuse) ausgedehnten Schädigungen der Leber, des biliären Traktes und der Nieren (Ratten) und nicht zuletzt die reduzierten mittleren Körpergewichte bei den Mäusen gegenüber den Kontrolltieren ein Überschreiten der MTD vermuten.

Daher wird Furan gemäß den EU-Einstufungskriterien als als krebserzeugend Kategorie 3b (C: 3b). eingestuft.

Reproduktionstoxizität:

Aufgrund fehlender Untersuchungsbefunde kann eine Einstufung von Furan als reproduktionstoxischer Stoff nicht erfolgen ( $R_{F,E}$ : -).

### **Literatur:**

- [1] AIHA: Workplace Environmental Exposure Level Guide: FURAN (1993)
- [2] Chen Ling-Jen, S.S. Hecht, L.A. Peterson: Identification of cis-2-butene-1,4-dial as a microsomal metabolite of furan. Chem. Res.Toxikol., 8, 903-906 (1995)
- [3] Cheng Ling-Jen, S.S. Hecht, L.A. Petersen: Characterization of amino acid and glutathione adducts of cis-2-butene-1,4-dial, a reactive metabolite of furan. Chem. Res. Toxicol., 10, 866-874 (1997)
- [4] Elmore L., A.E. Sirica: "Intestinal-type" of adenocarcinoma preferentially induced in right/caudate liver lobes of rats treated with furan. Cancer Res., 53, 254-259
- [5] IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Dry Cleaning, some Chlorinated Solvents and other Industrial Chemicals: Furan. Volume 63 (1995) ILO (1991)

- [6] Johansson, E., St. Reynolds, M. Anderson, R. Maronpot: Frequency of Ha-ras-1 gene mutations inversely correlated with furan dose in mouse liver tumors. *Molecular Carcinogenesis*. 18, 199-205 (1997)
- [7] Kedderis G.L., S.D. Held: Prediction of furan pharmacokinetics from hepatocyte studies: Comparison of bioactivation and hepatic dosimetry in rats, mice, and humans. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 140, 124-130 (1996)
- [8] Mugford, C.A., G.L. Kedderis: Role of biotransformation in uncoupling of oxidative phosphorylation by furan in isolated F-344 rat hepatocytes. *The International Congress of Toxicology - VII July 2-6, 1995 (Abstract)*
- [9] Mugford, C.A., G.L. Kedderis: Furan-mediated DNA double strand breaks in isolated rat hepatocytes. *SOT 1996 Annual Meeting (Abstract)*
- [10] Mugford, C.A., M.A. Carfagna, G.L. Kedderis: Furan-mediated uncoupling of hepatic oxidative phosphorylation in Fischer-344 Rats: An early event in cell death. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 144, 1-11 (1997)
- [11] Mugford, C.A.; G.L.Kedderis: Cytotoxic rodent carcinogens: Investigation of the role of cytolethality in furan-mediated DNA damage. *CIIT Activities (Chemical Industry Institute of Toxicology) Vol.17, No.6, 1-7 (June 1997)*
- [12] NTP (National Toxicology Program): NTP Technical Report on the Toxicology and Carcinogenesis Studies of Furan in F344/N Rats and B6C3F1 Mice (Gavage Studies). NTP TR 402 (1993).

Tabelle 1

## F344/N-Ratten

Effekte	13-Wochen-Studie: 10 männliche und 10 weibliche Tiere												
	verabreichte Dosen: 0, 4, 8, 15, 30, 60 mg/kg KG Furan												
	männliche Tiere						weibliche Tiere						
Überlebende	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	1/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	6/10
Leber													
Biliärer Trakt													
Cholangio- fibrose	0/10	4/10	7/10	10/10	10/10	10/10	0/10	1/10	7/10	10/10	10/10	9/10	
Hyperplasie	0/10	4/10	9/10	10/10	10/10	10/10	0/10	7/10	10/10	10/10	10/10	9/10	
Hepatozyten													
Zytomegalie	0/10	0/10	0/10	8/10	10/10	10/10	0/10	0/10	0/10	10/10	10/10	9/10	
Degeneration	0/10	0/10	7/10	9/10	10/10	10/10	0/10	0/10	1/10	10/10	10/10	10/10	
Nekrose	0/10	0/10	0/10	9/10	10/10	10/10	0/10	0/10	0/10	8/10	10/10	10/10	
nodulare Hyperplasie	0/10	0/10	0/10	0/10	10/10	10/10	0/10	0/10	0/10	0/10	8/10	9/10	
Kupffer-Zellen													
Pigmentation	0/10	4/10	6/10	10/10	10/10	9/10	0/10	2/10	8/10	10/10	10/10	9/10	
Niere													
renaler Tubulus													
Dilatation	0/10	-	-	-	2/10	9/10	0/10	-	-	-	0/10	8/10	
Nekrose	0/10	-	-	-	0/10	10/10	0/10	-	-	-	0/10	7/10	
Thymus													
Atrophie	0/10	-	-	-	0/10	7/10	0/10	-	-	-	0/10	3/10	
Hoden													
Atrophie	0/10	-	-	-	0/10	9/10							
Eierstöcke													
Atrophie							0/10	-	-	-	0/10	9/10	

Tabelle 2

## F344/N-Ratten

Effekte								
	102-Wochen-Studie: 50 männliche und 50 weibliche Tiere							
	männliche Tiere				weibliche Tiere			
Überlebende	33/50	28/50	26/50	16/50	34/50	32/50	28/50	19/50
hepatozelluläre Adenome	1/50	4/50	18/50	27/50	0/50	2/50	4/50	7/50
hepatozelluläre Karzinome	0/50	1/50	6/50	18/50	0/50	0/50	0/50	1/50
Cholangiokarzinome	0/50	43/50	48/50	49/50	0/50	49/50	50/50	48/50
Biliärer Trakt								
multilokuräre Zysten	0/50	1/50	17/50	24/50	0/50	6/50	2/50	12/50
chronisch fokale Entzündung	0/50	44/50	48/50	49/50	0/50	49/50	50/50	49/50
Zysten	0/50	44/50	47/50	49/50	0/50	49/50	50/50	46/50
fokale Fibrose	0/50	44/50	48/50	49/50	0/50	49/50	50/50	49/50
fokale Hyperplasie	0/50	44/50	48/50	49/50	0/50	49/50	50/50	49/50
Metaplasie	0/50	44/50	48/50	49/50	0/50	49/50	50/50	49/50
Hepatozyten								
Zytomegalie	0/50	35/50	46/50	49/50	0/50	44/50	50/50	49/50
zytoplastische Vakuolisierung	1/50	39/50	45/50	49/50	0/50	43/50	49/50	47/50
fokale Degeneration	0/50	33/50	45/50	49/50	0/50	35/50	49/50	47/50
fokale Hyperplasie	0/50	30/50	46/50	49/50	0/50	32/50	47/50	46/50
fokale Nekrose	0/50	32/50	46/50	49/50	0/50	18/50	46/50	47/50
Kupfer-Zellen								
fokale Pigmentation	0/50	44/50	48/50	49/50	0/50	49/50	50/50	48/50
mononukleäre Zell-Leukämie	8/50	11/50	17/50	25/50	8/50	9/50	17/50	21/50
Vormagenhyperplasie	1/50	4/50	7/50	6/50	0/50	2/50	5/50	5/50
subakute Entzündung des Vormagens					0/50	1/50	5/50	6/50

Tabelle 3

**Zwischenuntersuchung nach 9 Monaten innerhalb der 2-Jahres-Studie an  
F344/N-Ratten**

verabreichte Dosen: 0, 2, 4, 8 mg/kg KG Furan
---

Effekte								
	10 männliche Tiere				10 weibliche Tiere			
Neoplasie								
Leber								
Cholangiokarzinome	0/10	5/10	7/10	10/10	0/10	4/10	9/10	10/10
Nicht-neoplastische Schädigungen								
Leber								
Biliärer Trakt								
multifokale Fibrose	0/10	10/10	10/10	10/10	0/10	10/10	10/10	10/10
multifokale Hyperplasie	0/10	10/10	10/10	10/10	0/10	10/10	10/10	10/10
chronisch multifokale Entzündung	0/10	10/10	10/10	10/10	0/10	10/10	10/10	10/10
multiple Zysten	0/10	6/10	7/10	10/10	0/10	4/10	8/10	10/10
Hepatozyten								
Zytomegalie	0/10	10/10	10/10	10/10	0/10	10/10	10/10	10/10
multifokale Degeneration	0/10	10/10	10/10	10/10	0/10	7/10	10/10	10/10
nodulare, multifokale Hyperplasie	0/10	3/10	10/10	10/10	0/10	2/10	6/10	10/10
multifokale Nekrose	3/10	10/10	10/10	10/10	0/10	6/10	10/10	10/10
zytoplasmatische Vakuolisierung	0/10	10/10	10/10	10/10	0/10	10/10	10/10	10/10
Kupfer-Zellen								
multifokale Pigmentation	0/10	10/10	10/10	10/10	0/10	10/10	10/10	10/10
Niere								
Harnzylinder	2/10	6/10	7/10	8/10	0/10	0/10	0/10	4/10
multifokale Minerali- sation	0/10	0/10	0/10	4/10	0/10	1/10	2/10	6/10

Tabelle 4

**Zwischenuntersuchung nach 15 Monaten innerhalb der 2-Jahres-Studie an  
F344/N-Ratten**

verabreichte Dosen: 0, 2, 4, 8 mg/kg KG Furan

Effekte								
	10 männliche Tiere				10 weibliche Tiere			
Neoplasie								
Leber								
Cholangiokarzinome	0/9	7/9	9/9	6/6	0/9	9/10	9/9	7/7
Nicht-neoplastische Schädigungen								
Leber								
Biliärer Trakt								
multifokale Fibrose	0/9	9/9	9/9	6/6	0/9	10/10	9/9	7/7
multifokale Hyperplasie	0/9	9/9	9/9	6/6	0/9	10/10	9/9	7/7
chronisch multifokale Entzündung	0/9	9/9	9/9	6/6	0/9	10/10	9/9	7/7
multiple Zysten	0/9	8/9	9/9	6/6	0/9	10/10	9/9	7/7
Metaplasie	0/9	8/9	9/9	6/6	0/9	10/10	9/9	7/7
Hepatozyten								
Zytomegalie	0/9	9/9	9/9	6/6	0/9	10/10	9/9	7/7
multifokale Degeneration	0/9	9/9	9/9	6/6	0/9	10/10	9/9	7/7
nodulare multifokale Hyperplasie	0/9	9/9	9/9	6/6	0/9	10/10	9/9	7/7
multifokale Nekrose	0/9	9/9	9/9	6/6	0/9	10/10	9/9	7/7
zytoplasmatische Vakuolisierung	0/9	9/9	9/9	6/6	0/9	10/10	9/9	7/7
Kupffer-Zellen								
multifokale Pigmentation	0/9	9/9	9/9	6/6	0/9	10/10	9/9	7/7
Niere								
chronische Nephro- pathie	8/9	5/9	9/9	6/6	0/9	0/10	3/9	6/7

**Tabelle 5****"Stop-Exposure" - Studie an männlichen F344/N-Ratten**

(verabreichte Dosis: 30 mg/kg KG an 5 Tagen/Wo. für 13 Wo.)

Effekte	13 Wochen	9 Monate	15 Monate
Anzahl der untersuchten Tiere	10	10	10
Neoplasie			
Cholangiokarzinom	0/10	10/10	10/10
hepatozelluläre Karzinome	0/10	0/10	2/10
nicht-neoplastische Schädigungen			
Biliärer Trakt			
multikokale Fibrose	10/10	10/10	10/10
multifokale Hyperplasie	10/10	10/10	10/10
chronische multifokale Entzündung	0/10	10/10	10/10
multiple Zysten	0/10	10/10	10/10
Hepatozyten			
Zytomegalie	10/10	10/10	10/10
multifokale Degeneration	10/10	10/10	10/10
multifokale nodulare Hyperplasie	10/10	10/10	10/10
multifokale Nekrose	10/10	10/10	10/10
zytoplastische Vakuolisierung	10/10	10/10	10/10
Kupffer-Zellen			
multifokale Pigmentation	10/10	10/10	10/10



Tabelle 6

B6C3F<sub>1</sub>-Mäuse

13-Wochen-Studie

Effekte	10 männliche Tiere						10 weibliche Tiere					
	verabreichte Dosen: 0, 2, 4, 8, 15, 30 mg/kg KG Furan						verabreichte Dosen: 0, 4, 8, 15, 30, 60 mg/kg KG Furan					
Überlebende	10/10	10/10	9/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	9/10	10/10
Biliärer Trakt												
Hyperplasie	0/10	-	0/10	0/10	0/10	2/10	0/10	-	0/10	0/10	8/10	10/10
Hepatozyten												
Zytomegalie	0/10	-	0/10	0/10	0/10	10/10	0/10	-	0/10	0/10	10/10	10/10
Degeneration	0/10	-	0/10	0/10	1/10	10/10	0/10	-	0/10	3/10	10/10	10/10
Nekrose	0/10	-	0/10	1/10	1/10	8/10	0/10	-	0/10	0/10	9/10	10/10
Kupffer-Zellen												
Pigmentation	0/10	-	0/10	0/10	0/10	3/10	0/10	-	0/10	0/10	9/10	10/10
Cholangio- fibrose							0/10	-	0/10	0/10	4/10	10/10

Tabelle 7

B6C3F<sub>1</sub>-Mäuse

104-Wochen-Studie: 50 männliche und 50 weibliche Tiere

Effekte	verabreichte Dosen: 0, 8, 15 mg/kg KG Furan					
	männliche Tiere			weibliche Tiere		
Überlebende	33/50	17/50	16/50	29/50	25/50	2/50
hepatozelluläre Adenome	20/50	33/50	42/50	5/50	31/50	48/50
hepatozelluläre Karzinome	7/50	32/50	34/50	2/50	7/50	27/50
Cholangiokarzinome	0/50	2/50	0/50			
Adenokarzinome im biliären Trakt	0/50	2/50	2/50			
zytoplasmatische Vakuolisierung	8/50	24/50	36/50	6/50	29/50	36/50
fokale Hyperplasie	1/50	44/50	49/50	0/50	48/50	48/50
lymphoide Hyperplasie				27/50	33/50	42/50
zelluläre Infiltration in gemischten Zellen	2/50	23/50	29/50	8/50	23/50	32/50
Gallengang						
Dilatation	0/50	0/50	6/50	0/50	1/50	11/50
Biliärer Trakt						
chronische Entzündung	0/50	44/50	49/50	2/50	48/50	50/50
Fibrose	0/50	45/50	49/50	0/50	47/50	50/50
Hyperplasie	0/50	46/50	49/50	0/50	47/50	50/50
Hepatozyten						
Zytomegalie	8/50	45/50	50/50	0/50	48/50	50/50
Degeneration	0/50	43/50	43/50	0/50	47/50	48/50
Nekrose	2/50	39/50	41/50	0/50	44/50	47/50
Kupffer-Zellen						
Pigmentation	2/50	43/50	50/50	5/50	48/50	50/50
Parenchym						
fokale Atrophie	1/50	45/50	50/50	0/50	48/50	50/50
Nebenniere						
Phäochromozytome	1/49	6/50	10/50	2/50	1/50	6/50

(Stand: Mai 1998)