

Phenol

(CAS-NR.: 108-95-2)

Vorbemerkung:

Grundlage dieser Bewertung von Phenol sind im wesentlichen die MAK-Begründung der DFG 1998 sowie der BUA-Bericht von 1997.

Toxikokinetik und Metabolismus:

Phenol wird zu 80-90% über Atemwege, Haut und Magen-Darm-Trakt resorbiert. Es wird überwiegend mit Sulfat oder Glucuronsäure konjugiert. Ein kleiner Teil wird zu Hydrochinon und Catechol oxidiert. Der raschen Aufnahme steht eine schnelle Verteilung von Phenol und seinen Konjugaten sowie eine schnelle Elimination gegenüber. Verteilung, Metabolismus und Ausscheidung von Phenol sind bei Mensch und Tier meistens sehr ähnlich, es gibt aber auch speziesspezifische Unterschiede im Metabolismus (s. u.). Auch bei verschiedenen Applikationsarten (inhalativ, oral, dermal) sind die Unterschiede gering (z. B. Dow Chemical, 1994, Hughes and Hall, 1995).

In der Ratte und anderen Labortieren lässt sich bis zu 24 Std. nach der Aufnahme eine Anreicherung von Phenol oder seinen Metaboliten in Leber, Niere und Nebenniere nachweisen. Je nach Experiment war teilweise auch in der Lunge, Schilddrüse oder Milz eine Anreicherung gegenüber Blut oder Plasma festzustellen (siehe z. B. Tabelle 1, Liao und Oehme, 1981; ferner z. B. Deichmann, 1944; Dow Chemical, 1994; Hughes und Hall 1995). Beim Menschen wurde nach oraler oder inhalativer Vergiftung mit Phenol eine ähnliche Verteilung wie im Tierversuch gefunden (LoDico et al., 1989).

In zwei verschiedenen Untersuchungen zur Toxikokinetik mit ¹⁴C-markiertem Phenol wurde u. a. untersucht, ob in vivo die Keimdrüsen und möglicherweise auch die Keimzellen erreicht werden:

Liao und Oehme (1981) verabreichten männlichen SD-Ratten 207 mg Phenol/kg KG per Schlundsonde und ermittelten die Radioaktivität in verschiedenen Organen, u. a. Testes, nach 0,5 bis 16 h (Tabelle 1). Die spezifische Aktivität betrug 91,79 nCi / mg Phenol. Die Phenolkonzentration in den Testes sank von ca. 50 µg Phenol pro Gramm Gewebe eine halbe Stunde nach der Applikation auf ca. 1 µg/g Gewebe nach 16 h. Die Konzentration in den Testes war 2-3fach geringer als im Plasma.

In einer Studie der Dow Chemical Company wurden bis zu 150 mg ¹⁴C-Phenol/kg KG als Gavage an Fischer 344-Ratten verabreicht, ferner auch im Trinkwasser und per Inhalation. 24 h später wurde die verbliebene Radioaktivität in den Organen ermittelt.

Nur in den Bolus-Applikationen (15 bzw. 150 mg/kg) war zu diesem Zeitpunkt noch geringe, aber signifikante Radioaktivität in den Ovarien nachweisbar, in den Testes nur in der höchsten Dosis (Dow Chemical, 1994).

Obwohl beide Studien nachweislich eine schwache Radioaktivität im Keimdrüsengewebe zeigen, erscheint es aus methodischen Gründen ungewiss, welche Gewebsabschnitte und ob die Keimzellen erreicht wurden.

Tabelle 1

Gewebskonzentrationen von Phenol und seinen Metaboliten nach oraler Gabe (Mikrogramm / g Gewebe)

	Zeitintervall nach Applikation					
	0,5 h	1 h	2 h	4 h	8 h	16 h
Leber	894	392	251	289	80	11
Milz	600	327	240	196	75	5
Niere	349	305	207	153	78	12
Nebenniere	283	191	134	104	46	7
Schilddrüse	76	87	289	202	43	5
Lunge	114	94	76	55	22	3
Blutplasma	90	78	56	34	22	3
Thymus	80	51	52	34	10	2
Fettgewebe	68	50	14	10	3	0,1
Testes	52	41	20	11	6	1,0
Gehirn	38	23	13	5	3	1,3
Herz	31	23	12	6	4	0,9
Muskelgewebe	33	23	10	4	1,9	0,3

Quelle: Liao und Oehme (1981). Versuchsbedingungen siehe Text.

Die Konjugation von Phenol erfolgt effizient in der Leber, im Darm und in der Lunge, in vitro-Befunden zufolge auch in anderen extrahepatischen Organen wie Niere, Haut und Hoden. Bei Ratte und Maus findet man schon bei niedrigen Dosierungen eine Sättigung der Sulfatierung von Phenol. Teils ist dies auf die Sättigung der Sulfotransferase-Aktivität, teils auf die begrenzte Verfügbarkeit des Cosubstrates PAPS zurückzuführen. Mit zunehmender Sättigung des Sulfatierungsweges findet man vermehrt Glucuronidbildung, bei höherer Dosierung und Sättigung der Leberenzyme vermehrt auch in extrahepatischen Organen. Beim Menschen unterliegt die Sulfat-Bildungsrate in vitro-Befunden mit Leberhomogenat zufolge erheblichen individuellen Unterschieden.

Der raschen und effizienten Konjugation von Phenol vor allem bei niedriger Dosierung steht eine Oxidation in geringem Umfang zu Hydrochinon und noch weniger zu Catechol gegenüber. Die Hydroxylierung wird durch Cyt. P450 IIE1 katalysiert und zusätzlich durch Cytochrom b₅ stimuliert. Sie erfolgt mit gleicher Affinität und Kapazität wie bei Benzol. Die Oxidation von Phenol zu Hydrochinon

steigt bei der Ratte mit der Dosis; von 2-3% nach Gabe von 1,5 mg Phenol pro kg KG auf 17% nach 150 mg/kg (BUA 1997). Hydrochinon und Catechol werden ihrerseits konjugiert, aber auch ein weiterer Hydroxylierungsschritt zu 1,2,4-Trihydroxybenzol ist möglich. In vitro wurden ferner Dihydroxybiphenyle nachgewiesen. Hydrochinon, Catechol und ihre Oxidationsprodukte unterliegen leicht Redoxreaktionen mit der Bildung von Semichinonradikalen, Chinonen und Redoxcyclen mit der Bildung von reaktiven Sauerstoffspezies (ROS). Die kovalente Bindung von reaktiven Phenolmetaboliten an Makromoleküle einschließlich DNA wurde in verschiedenen Zielorganen nachgewiesen (s. u.). Das Glutathion-Konjugat von 1,4-Benzochinon wird bei der Ratte als Mercaptursäure ausgeschieden.

Zwischen verschiedenen Tierspezies bestehen beträchtliche quantitative Unterschiede hinsichtlich Sulfatierung, Glucuronidierung und Hydroxylierung. Die Katze bildet ausschließlich Sulfat, das Schwein ausschließlich Glucuronid. Bei gleicher Dosis (25 mg/kg KG) scheiden Mäuse 7-mal mehr Hydrochinon aus als Ratten.

Die Ausscheidung von Phenol und seinen Metaboliten erfolgt bei Mensch und Tier überwiegend mit dem Urin. Bei Ratten liegt die Ausscheidung über den Urin bei 90-97 % , und das Metabolitenprofil ist weitgehend unabhängig vom Applikationsweg.

Gentoxizität:

Beim Menschen sind keine Untersuchungen bekannt.

In vitro

Phenol ist in den meisten Untersuchungen mit bakteriellen Testsystemen mit und ohne metabolisierende Aktivierung nicht mutagen. An eukaryotischen Zellen erwies sich Phenol in den meisten Tests mit und ohne metabolische Aktivierung als gentoxisch, meist unterhalb der Cytotoxizitätsgrenze.

Phenol führt in Indikatortests mit und ohne metabolische Aktivierung zu Schwesterchromatidaustausch (SCE), inhibiert ohne metabolische Aktivierung die DNA-Reparatur und erzeugt oxidative DNA-Schäden und unplanmäßige DNA-Reparatur (UDS). Im alkalischen Elutionstest wurden nach metabolischer Aktivierung DNA-Strangbrüche beobachtet. In Studien zu Chromosomenaberrationen und im Mikrokerntest an verschiedenen kultivierten Zellen zeigte Phenol eine gentoxische Wirkung mit und ohne metabolische Aktivierung, im Test auf chromosomale Segregation auch ohne metabolische Aktivierung. Phenol verursachte DNA-Addukte in Mitoblasten (Mitochondrien ohne Membran) des Knochenmarks und in Organkulturen von Zymbaldrüsen der Ratte. Im Zelltransformationstests in vitro (SHE) war Phenol positiv bei einem schwachen Effekt auf die Überlebensrate der Zellen.

Phenol und seine Metaboliten inhibieren die Topoisomerase II in Zellen des Knochenmarks, vermutlich infolge Oxidation durch Myeloperoxidase und andere oxidierende Enzyme .

In vivo

Nach wiederholter oraler Applikation von 75 mg Phenol/kg KG an 4 weibliche SD Ratten wurden in Knochenmark, Zymbaldrüse, Leber und Milz keine DNA-Addukte nachgewiesen (Reddy et al. 1990). I.p.-Applikation von 160 mg Phenol/kg KG an SD Ratten führte nach Induktion mit Aroclor zu DNA-Addukten in der Leber, jedoch in wesentlich geringerem Umfang in Niere, Lunge und Milz (Liu et al. 1996).

I.p.-Applikation von 75 mg Phenol/kg KG ergab im Knochenmark männlicher Mäuse keinen signifikanten Anstieg oxidativer DNA-Schäden (8-Hydroxy-2-desoxy-guanosin) (Kolachana et al. 1993). Einmalige i.p.-Applikationen bis zu 79 mg/kg KG führten bei Ratten nach 2-24 h im alkalischen Elutionstest nicht zu vermehrten DNA-Strangbrüchen in den Hoden (Skare und Schrotel 1984). Zur Frage, ob die Keimzellen erreicht werden, siehe Abschnitt Toxikokinetik und Metabolismus.

Die replikative DNA-Synthese in vivo/in vitro wurde nach einmaliger oraler Gabe bis zu 600 mg Phenol/kg KG und nach 24-48 h in Hepatocyten männlicher B6C3F1 Mäuse (Miyagawa et al. 1995) nicht induziert. In einer Studie mit gleichem Versuchsprotokoll und Dosierungen bis zu 160 mg Phenol/kg KG wurde in Rattenhepatocyten replikative DNA-Synthese aber nicht beobachtet (Uno et al. 1994).

Eine schwache gentoxische Wirkung von Phenol wurde in mehreren Mikrokerntests nach oraler und i.p. Applikation überwiegend von hohen Körperdosen beobachtet (Übersichten bei BUA, 1997 und DFG, 1998). Tests an männlichen Swiss CD1 Mäusen zeigten 18 h nach einmaliger oraler Applikation signifikant erhöhte Mikrokernzahlen (Dosis 265 mg Phenol /kg KG, 4 Tiere), nicht jedoch nach 15 h, 42 und 48 h (Ciranni et al. 1988 b). Erhöhte Mikrokerninzidenzen wurden bei trächtigen Weibchen (Dosis 265 mg/kg KG, 4 Tiere) nach 15 h, 18 h und 24 h, zu späteren Zeitpunkten nicht beobachtet (Ciranni et al. 1988 a). Einmalig orale Gaben von 250 mg/kg KG Phenol an jeweils 5 männlichen Swiss CD1 Mäuse hatten nach 30 h erhöhte Mikrokernraten zur Folge, die statistisch nicht signifikant waren (Gad-El Karim et al. 1985 und 1986).

Nach einmaliger i.p. Gabe von 265 mg Phenol/kg KG an männliche Swiss CD1 Mäuse waren die Mikrokernzahlen signifikant erhöht (4 Tiere, 18 h und 24 h nach Applikation) (Ciranni et al. 1988 b). Die Effekte waren bei gleicher Dosierung im Vergleich zur oralen Gabe deutlicher ausgeprägt. Auch wurde höhere Myelotoxizität festgestellt, erkennbar am erniedrigten Verhältnis der polychromatischen gegenüber den normochromatischen Erythrocyten. In einem Mikrokerntest an 3 männlichen Swiss CD1 Mäusen und mit Dosisgruppen von 40, 80 und 120 mg/kg KG wurde ein dosisabhängiger Effekt 18 h nach Applikation festgestellt (statistische Signifikanz in der höchsten Dosisgruppe) (Marrazzini et al. 1994). Eine weitere Studie (Swiss CD1, 3 männliche Tiere, Dosierung 40, 80 und 160 mg/kg KG einmalig i.p.) berichtet nicht erhöhte Mikrokernraten (Barale et al. 1990). Die getestete i.p. Dosis von 300 mg Phenol/kg KG führte bei B6C3F1 Mäusen (6 männliche Tiere) zu einer

Vervierfachung der Mikrokernrate gegenüber der Kontrolle (McFee et al. 1991).

Mehrfache i.p.-Dosierung innerhalb von 24 h führt zu ausgeprägter Mikrokernbildung. Die dreimalige Applikation von 45, 90 und 180 mg Phenol/kg KG an jeweils 5 männliche B6C3F1 Mäuse hatte nach 24 h in der höchsten Dosisgruppe eine Verdopplung der Mikrokernrate zu Folge, in der zweiten Versuchsreihe wurde dieses auch in der 90 mg/kg KG-Dosisgruppe beobachtet (Shelby et al. 1993). In einer weiteren Arbeit wurden Dosen von 47, 94 und 188 Phenol/kg KG zweimal innerhalb von 24 h an NMRI Mäuse (2 m, 2 f) verabreicht (Gocke et al. 1981). Nach 30 h wurden in der mittleren und hohen Dosisgruppe erhöhte, jedoch nicht signifikante Mikrokernzahlen beobachtet.

Nach oraler Applikation von 300-510 mg Phenol/kg KG oder i.p. 72-180 mg/kg KG an Ratten traten nach 20 h vermehrt und dosisabhängig Chromosomenaberrationen auf. Die Effekte sind statistisch nicht signifikant, die Dosierungen lagen im Bereich der LD₅₀ (Thompson und Gibson 1984)

Eine methodisch aus dem Rahmen fallende, widersprüchlich und unzureichend berichtete Cytogenetik-Studie an Spermatogonien und primären Spermatozyten wurde an Mäusen (*Mus Musculus*) über 5 Generationen in Folge durchgeführt (Bulsiewicz, 1977). 3 Dosisgruppen mit jeweils 6 männlichen und weiblichen Tieren einer Generation erhielten täglich 2 ml phenolhaltiges Wasser per Schlundsonde in den Dosierungen 0,0064, 0,064 und 0,64 mg/kg/d. Nach der Verpaarung wurden jeweils die männlichen Tiere getötet und Spermatogonien und primäre Spermatozyten auf chromosomale Veränderungen untersucht. In den Folgegenerationen wurden die Muttertiere durchgehend bis zur Entwöhnung der Jungtiere behandelt und die Jungtiere ab dem 10. Tag. Die Autorin berichtet über dosisabhängige Zunahmen von strukturellen und numerischen Chromosomenaberrationen in allen Generationen im Vergleich zu den Kontrollgruppen, wobei die Inzidenzen in den Folgegenerationen anstiegen. In den Tochtergenerationen 3-5 wurden in den beiden hohen Dosierungen massive Effekte berichtet, die in diesem Ausmaß nicht plausibel erscheinen, z. B. 20-25% Aneuploidien sowie 20-35% Polyploidien sowohl bei Spermatogonien als auch primären Spermatozyten. Bei den Spermatogonien wurden bis bei zu 81 % der untersuchten Zellen chromosomale Veränderungen berichtet. Die bei diesen Generationen in der höchsten Dosierung aufgetretenen 8, 16 bzw. 22 Todesfälle wurden nicht erklärt. Ebenfalls nicht plausibel erscheint auch das Auftreten dieser massiven Effekte bei der vergleichsweise sehr niedrigen Dosierung. Die Studie kann aus diesen Gründen nicht bewertet werden.

Phenol zeigte im Test auf X-chromosomale rezessive Letalmutationen an *Drosophila melanogaster* keine mutagenen Eigenschaften (Sturtevant 1952, Gocke et al. 1981, Woodruff et al. 1985).

Krebserzeugende Wirkung:

In einer Fall-Kontrollstudie an 1010 dänischen Frauen mit multiplen Myelomen wurde hinsichtlich einer möglichen Exposition gegenüber Phenol eine nicht signifikante Odds Ratio (OR) von 1,2 erhalten (Pottern et al., 1992).

In zwei Kohortenstudien wurden bei Exposition gegenüber Phenol-Formaldehyd-Harzen erhöhte Lungentumor-Raten ermittelt. Wegen der Mischexposition und wegen unklarer Assoziation zur Expositionshöhe oder –dauer gegenüber Phenol sind jedoch keine gesicherten Rückschlüsse auf die Wirkung von Phenol möglich.

In mehreren Studien an der Haut von Mäusen, die mit einer subkanzerogenen Dosierung von 7,12-Dimethylbenzanthracen vorbehandelt war, erzeugte die wiederholte Applikation von Phenol über mehrere Monate in Konzentrationen von 5-10 %, gelöst in Benzol oder Aceton, Papillome und Karzinome. 5%ige Phenol-Lösungen hatten je nach Applikationsmethode, Dauer der Behandlung und Mäusestamm unterschiedlich ausgeprägte hautreizende Wirkungen, von makroskopisch nicht sichtbar bis hin zu vorübergehenden Krustenbildungen. 10%ige Phenol-Lösungen erzeugen bei der Maus Hautschädigungen mit Enthaarung und Zerstörung der Talgdrüsen. (10%ige Phenol-Lösungen haben beim Meerschweinchen eine reizende, beim Menschen eine ätzende Wirkung). Phenol in Aceton hatte eine stärker promovierende Wirkung als Phenol in Benzol. Die tumorpromovierende Wirkung von Phenol ist im Mäusehautmodell mit geeigneten empfindlichen Mäusestämmen mit der von 0,5%igem Crotonöl vergleichbar.

Die in diesen Untersuchungen am Mäusehautmodell mit 7,12-Dimethylbenzanthracen vorbehandelten Mäusen nachgewiesene tumorpromovierende Wirkung von Phenol kann lediglich als Verdachtshinweis auf mögliche krebserzeugende Wirkung von Phenol gewertet werden.

In einer Trinkwasserstudie erhielten B6C3F1-Mäuse und F344-Ratten 103 Wochen lang 2500 und 5000 mg Phenol/Liter (NCI 1980). Das entspricht einer Aufnahme von ca. 281 bzw. 412 mg/kg/d bei den Mäusen und 270 bzw. 480 mg/kg/d bei den Ratten. Bei beiden Spezies war die Trinkwasseraufnahme gegenüber den Kontrollen verringert und die Körpergewichtsentwicklung dosisabhängig reduziert (beides bei den Ratten um 10-20%; keine Angaben zur statistischen Signifikanz). Futteraufnahme, Mortalitätsrate und altersbedingte Veränderungen zeigten keine Unterschiede zu den Kontrollen.

Bei den Mäusen zeigten sich keine behandlungsbedingten Anstiege von Tumorraten.

Nur bei den männlichen Ratten wurden signifikante Anstiege von Phäochromocytomen, C-Zell-Karzinomen der Schilddrüse sowie von Leukämien und Lymphomen im Vergleich zu den Kontrollen festgestellt, allerdings nur in der niedrigen Dosis (Tabelle 2). In der hohen Dosisgruppe lag die Inzidenz für Lymphome und Leukämien bei den männlichen Tieren zwar höher als bei den Kontrolltieren, erreichte aber bei hoher Spontaninzidenz der Kontrollgruppe nicht die Grenze zur Signifikanz. Eine Dosisabhängigkeit der Tumorzinzenzen ist bei den männlichen Tieren nicht erkennbar.

Bei den Leukämien und Lymphomen könnte die fehlende Dosis-Wirkungsbeziehung mit der bekannten Myelotoxizität von Phenol und seinen Metaboliten bei höherer Dosierung erklärt werden, die der kanzerogenen Wirkung entgegen wirken könnte. Hierzu liegt eine Reihe von mechanistischen Untersuchungen mit Phenol und seinen Metaboliten vor, die insbesondere im Zusammenhang mit den Bemühungen um eine Aufklärung der krebserzeugenden Wirkung von Benzol durchgeführt worden sind. Von der MAK-Kommission (DFG, 1998) wurden diese Fragen ausführlich diskutiert.

In kultivierten Knochenmarkszellen hemmt Phenol die DNA- und RNA-Synthese und das Zellwachstum (Post et al. 1984; Rushmore et al. 1984; Gaido und Wierda 1984; Schoeters et al. 1995; Seidel et al. 1991).

Myeloperoxidasen von Mensch und Tier, die bekanntermaßen im Knochenmark eine hohe Aktivität besitzen oder Meerrettichperoxidase als Modellenzym für Myeloperoxidasen metabolisieren Phenol mit der Folge von kovalenter Bindung an Proteine (Eastmond et al. 1986, 1987; Ganousis et al. 1992) und DNA (Rushmore et al. 1984; Subrahmanyam und O' Brien 1985) sowie Bildung von Radikalen (Stoyanovsky et al. 1995). Ursache ist wahrscheinlich eine peroxidative Aktivierung von Phenol und seinen Metaboliten und die Bildung von reaktiven Phenoxyradikalen, Dihydroxybiphenyl- und Chinonderivaten. Es fehlt noch der Nachweis, dass diese Metaboliten auch in vivo im Knochenmark gebildet werden.

Tabelle 2.

Ergebnisse der NCI-Studie zur kanzerogenen Wirkung von Phenol an Ratten (NCI 1980)

		Phenolkonzentration im Trinkwasser (mg/Liter)			
		0	2500	5000	
		Überlebende Tiere nach 104-105 Wochen			
Tumoren	w	25/50 (52%)	22/50 (44%)	30/50 (60%)	
	m	38/50 (76%)	39/50 (78%)	37/50 (74%)	
	<hr/>				
	Phäochromozytome	w	4/50 (8%)	1/50 (2%)	3/50 (6%)
		m	13/50 (26%)	22/50 *) (44%)	9/50 (18%)
	<hr/>				
C-Zell-Karzinome der Schilddrüse	w	4/50 (8%)	1/50 (2%)	0/50 (0%)	
	m	0/50 (0%)	5/49 *) (10%)	1/50 (2%)	
<hr/>					
Leukämien und Lymphome	w	16/50 (32%)	15/50 (30)	12/50 (24%)	
	m	18/50 (36%)	30/50 *) (62%)	24/50 (50%)	

w, weibliche Tiere,

m, männliche Tiere

*) Tumorrare signifikant erhöht

- Stammzellen des hämatopoetischen Systems reagieren auf kovalente Bindung aktivierter Metaboliten an Mikrotubuli-Proteine mit Störung der Aggregation und Hemmung der Proliferation in der G₂- und M-Phase (Irons et al. 1981; Irons 1985).
- Eine Reihe von Effekten, die durch die Hemmung der Topoisomerase II durch Phenol und seine Metaboliten verursacht werden sowie Zusammenhänge zwischen der Hemmung der Topoisomerase II und der Entstehung von Leukämien beim Menschen nach Einnahme von Topoisomerase II-hemmenden Chemotherapeutika (Monoblasten-Leukämie) werden bei DFG (1998) aufgeführt.
- Weitere toxische Mechanismen und Effekte auf Zellen des hämatopoetischen Systems werden ebenfalls bei DFG (1998) beschrieben.

Die vorliegenden Daten werden nicht als ausreichend angesehen, um bei den männlichen Ratten die fehlende Dosis-Wirkungsbeziehung bei den Leukämien und Lymphomen, d. h. die relativ niedrige Inzidenz in der Hochdosisgruppe zu begründen. Weitere mechanistische Untersuchungen sind erforderlich, um die noch lückenhafte Datenlage zu schließen.

Reproduktionstoxizität

Fertilität

In der schon beschriebenen Studie über 2 Jahre an Ratten und Mäusen im Trinkwasser mit 2500 und 5000 mg Phenol/Liter wurden histopathologisch keine substanzbedingten Effekte auf die Reproduktionsorgane beider Geschlechter von Ratten und Mäusen festgestellt (NCI 1980). Einschränkend ist anzumerken, dass bei den männlichen Ratten mit hoher Inzidenz Tumoren der Interstitiumzellen in Kontrollen (88%), historischen Kontrollen (76%) und den beiden Behandlungsgruppen auftraten (98 bzw. 94% in der niedrigen bzw. hohen Dosisgruppe), so dass eine zuverlässige Auswertung des Keimdrüsengewebes nicht möglich war. In einer 13-wöchigen Vorstudie an der Ratte (0, 100, 300, 1000, 10000 ppm Phenol im Trinkwasser) wurden selbst bei der höchsten Dosierung, die zu verringertem Körpergewicht und verringertem Trinkwasserverbrauch führte, keine substanzbedingten Effekte bei pathologischen und histopathologischen Untersuchungen einschließlich der Reproduktionsorgane gefunden (NCI 1980)).

Eine 2-Generationen-Studie wurde mit SD-Ratten durchgeführt (Ryan et al., 2001). Die Konzentrationen von Phenol im Trinkwasser der Tiere waren: 0, 200, 1000 bzw. 5000 ppm; dies entsprach Dosierungen in der F₀-Generation von 0, 18, 82 und 310 mg/kg KG/d und in der F₁-Generation 0, 18, 83 und 350 mg/kg/d (gemittelte Werte; die Aufnahme der männlichen Tiere lag 5-10% niedriger, die der weiblichen Tiere 5-10% höher). Die Exposition der F₀-Tiere begann 10 Wochen vor der Verpaarung und endete am Tag 21 p. n. Die Exposition der F₁-Tiere dauerte 11 Wochen, beginnend am Tag 22 p. n. In der höchsten Dosierung waren Körpergewicht und Wasseraufnahme bei allen 3 Generationen verringert (s. Abschnitt Entwicklung). In

der F₁-Generation waren die Uterus-Gewichte dosisabhängig signifikant verringert, nicht aber in der F₀-Generation. Histologisch und funktionell waren bei diesem Organ keine substanzbedingten Unterschiede im Vergleich zur Kontrollgruppe feststellbar. Die Prostatagewichte waren nur in der F₁-Generation und nur in der mittleren Dosierung verringert. Alle anderen Fertilitätsparameter der F₀- und F₁-Generation waren nicht beeinträchtigt. (Entwicklung s. u.).

Eine 3-Generationenstudie mit durchgängig 5000 ppm Phenol/Liter im Trinkwasser, bei der keine Effekte auf die Reproduktion von Ratten festgestellt wurden, ist wegen unzureichender Versuchsdurchführung und Dokumentation nicht bewertbar (Heller und Pursell, 1938, zit. bei BUA 1997).

Entwicklung

In der oben beschriebenen 2-Generationenstudie waren folgende Parameter in der höchsten, nicht aber in den anderen Dosisgruppen beeinträchtigt:

Bei den F₀-Tieren traten folgende Effekte auf: Die Aufnahme von Trinkwasser war während der gesamten Behandlung im Vergleich zu den Kontrollen signifikant vermindert (21-39%). Bei den weiblichen Tieren war der Futterverbrauch in den Wochen 1-5 vor der Verpaarung signifikant um 16% und während der Laktation um 12-19% vermindert. Auch die Körpergewichtsentwicklung war bei den F₀-Tieren signifikant verringert: Männliche Tiere 11%, weibliche Tiere vor der Verpaarung 18%, während der Trächtigkeit 14% und während der Laktation 40% (letzteres nicht signifikant).

In der F₁-Generation war die Zahl toter Jungtiere pro Wurf am PND 4 signifikant erhöht (0,7 pro Wurf). Am PND 21 lag die Überlebensrate bei 95 % im Vergleich zur Kontrolle (nicht signif. vermindert). Das Körpergewicht der Jungtiere war bei der Geburt im Durchschnitt um 5% niedriger und sank während der Laktation zwischen PND 4 und PND 21 kontinuierlich um 15-30% im Vergleich zu den Kontrollen (beides signif.).

In der F₁-Generation war während der 11-wöchigen Behandlung nur in der höchsten Dosisgruppe die Aufnahme von Trinkwasser signifikant vermindert (24-53%). Während der Futterverbrauch bei den männlichen Tieren in der Zeit vor der Verpaarung signifikant um 8-37% gegenüber der Kontrollgruppe sank, war der Futterverbrauch bei den weiblichen Tieren nicht signifikant vermindert. Die Körpergewichtsentwicklung war bei den männlichen Tieren in der Zeit vor der Verpaarung signifikant um 13%, bei den weiblichen Tieren nur während der Trächtigkeit um 11% vermindert.

In der F₂-Generation waren zwar die Wurfgrößen unbeeinträchtigt, aber die Überlebensraten sanken während der Laktation, in der höchsten Dosisgruppe auf 77% im Vergleich zu 98% in der Kontrollgruppe und jeweils 95% in den beiden anderen Dosisgruppen.

In der F₂-Generation war die Zahl toter Jungtiere pro Wurf am PND 4 signifikant erhöht (3,5 pro Wurf). Am PND 21 lag die Überlebensrate bei 77% im Vergleich zur

Kontrolle (signif. vermindert). Das Körpergewicht der Jungtiere war bei der Geburt im Durchschnitt um 7% niedriger und sank während der Laktation zwischen PND 4 und PND 21 kontinuierlich um 20-28% im Vergleich zu den Kontrollen (beides signif.).

Die vermutlich durch Geruchsaversion bedingte verminderte Aufnahme von Trinkwasser in der höchsten Dosisgruppe ist wahrscheinlich als die wesentliche Ursache der verminderten Körpergewichtsentwicklung der Elterntiere in der F₀- und F₁-Generation anzusehen und ebenso auch als wesentliche Ursache für die verminderten Überlebensraten und die im Durchschnitt verminderte Körpergewichtsentwicklung der Nachkommen in der F₁- und F₂-Generation bis zum PND 21. Alle diese Effekte beschränken sich auf die höchste Dosisgruppe.

CD Ratten erhielten vom 6.-15. Tag der Trächtigkeit per Schlundsonde 0, 30, 60 und 120 mg/kg KG und Tag (20-22 Tiere pro Dosisgruppe) (Jones-Price et al. 1983a). Nach Schnittentbindung am 20. Tag wurden in keiner Gruppe signifikante maternaltoxische Effekte gefunden (untersucht wurden Körpergewichtsentwicklung und klinische Symptome).

Anzumerken ist hierzu, dass in einigen Untersuchungen mit wiederholter Applikation per Schlundsonde oder Trinkwasser in diesem Dosisbereich z. T. toxische Effekte gefunden wurden (Hepato-, Nieren-, Neuro- und Immuntoxizität), in anderen hingegen nicht. Subakute NOAEL- und LOAEL-Daten für oral verabreichtes Phenol variieren demnach über einen weiten Dosisbereich, sicherlich auch in Abhängigkeit von Untersuchungsumfang und -tiefe.

Teratogene Effekte wurden nicht festgestellt, In der höchsten Dosierung war das Körpergewicht der Feten schwach signifikant erniedrigt ($p < 0,1$). Die Anzahl der Würfe mit Resorptionen war in allen Behandlungsgruppen erhöht (5, 7 bzw. 3 Würfe), nicht signifikant jedoch in der höchsten Dosisgruppe. In der Kontrollgruppe traten keine Resorptionen auf, was sehr ungewöhnlich ist. Die Zahl der Resorptionen pro Wurf zeigte keinen signifikanten Unterschied zur Kontrollgruppe (Angaben zu historischen Kontrollen fehlen). In einem Vorversuch mit Dosierungen bis zu 160 mg/kg KG war kein Effekt hinsichtlich erhöhter Resorptionen festgestellt worden.

In einer weiteren Untersuchung der selben Arbeitsgruppe wurden CD1 Mäuse mit 0, 70, 140 und 280 mg/kg vom 6.-15. Tag der Trächtigkeit per Schlundsonde behandelt (22-29 Tiere Pro Gruppe) (Jones-Price et al. 1983b). Bei der höchsten Dosierung traten maternaltoxische Effekte wie verringerte Gewichtsentwicklung ($p < 0,01$), erhöhte Mortalität und während der Behandlung klinische Symptome wie Tremor und Ataxie auf. Schnittentbindung am 17. Tag ergab nur bei der höchsten Dosis vermindertes Gewicht der Gebärmutter (mit Inhalt gewogen, $p < 0,05$) und verringertes Gewicht der Feten ($p < 0,001$). Ein Einfluss der Maternaltoxizität auf die Entwicklung der Feten ist wahrscheinlich.

Im Rahmen einer Studie zur Validierung eines Screening-Tests zur Entwicklungstoxizität mit 10 verschiedenen Substanzen wurden trächtige F344 Ratten vom 6.-19. Tag mit 0, 40 bzw. 53,3 mg Phenol/kg KG per Schlundsonde behandelt (15-20 Tiere pro Gruppe) (Narotsky and Kavlock 1995). Die Dokumentation der Studie zu den einzelnen Substanzen ist begrenzt. Bei den Muttertieren wurde vorübergehend, d. h. am 10. und 16. Trächtigkeitstag eine signifikant verminderte Körpergewichtsentwicklung festgestellt, wobei unklar bleibt, ob dieser Effekt bei beiden Dosisgruppen und als Dosisabhängigkeit beobachtet

wurde. Bei einigen Tieren traten in beiden Behandlungsgruppen respiratorische Rasselgeräusche und Atemnot auf. Nur bei diesen Tieren traten die folgenden Effekte auf. Bei der niedrigen Dosis wurde bei einem Tier, bei der hohen Dosis bei 2 Tieren vollständige Resorption der Feten festgestellt. Ein weiterer Wurf der hohen Dosisgruppe zeigte eine ausgeprägte perinatale Mortalität. Bei den 4 überlebenden Nachkommen dieses Wurfs wurde am ersten postnatalen Tag vermindertes Körpergewicht und bei 2 von diesen Tieren Schwanzanomalien beobachtet (kinked tails). Insgesamt war bei den Feten der beiden Dosisgruppen das Körpergewicht nicht verschieden von den Kontrollen. Die beobachteten Effekte sind wahrscheinlich auf die bei einigen Tieren ausgeprägte Maternaltoxizität zurückzuführen.

Zwei weitere Entwicklungsstudien werden von HSE (2000) referiert. Auch in diesen beiden Studien mit Schlundsonden-Applikation - die eine als Dosisfindungsstudie mit 10 weiblichen SD-Ratten und 0, 60, 120 und 180 mg/kg/d von Tag 6-14 (Procter & Gamble 1993), die zweite mit 25 weiblichen SD-Ratten und 0, 60, 120 und 360 mg/kg/d von Tag 6-15 der Trächtigkeit (Raymond 1997) - wurde maternale Toxizität berichtet, die sich als signifikant niedrigere Körpergewichtsentwicklung in den beiden höchsten Dosisgruppen manifestierte (jeweils ca.14% bzw. 36-38%). Mit der maternalen Toxizität ging in der Dosisfindungsstudie ein Anstieg an Postimplantationsverlusten einher (keine weiteren Angaben), in der zweiten Studie war das Geburtsgewicht der Nachkommen um 6% vermindert. Alle anderen untersuchten Parameter waren unauffällig.

Fazit:

Gentoxizität / Mutagenität

Phenol ist in den meisten Untersuchungen mit bakteriellen Testsystemen in vitro mit und ohne metabolisierende Aktivierung nicht mutagen. An eukaryotischen Zellen in vitro erwies sich Phenol in den meisten Tests mit und ohne metabolische Aktivierung als gentoxisch. Dabei stehen klastogene Effekte im Vordergrund.

In vivo konnten DNA-Addukte in Soma-Zellen nur in einer von in mehreren Untersuchungen und nur nach Aroclor-Vorbehandlung der Tiere nachgewiesen werden. DNA-Strangbrüche konnten in einer in vivo-Studie an Keimzellen nicht nachgewiesen werden.

In mehreren, allerdings nicht in allen Mikrokerntests im Knochenmark von Mäusen wurde nach oraler oder i.p.-Applikation überwiegend von hohen Dosen Phenol eine schwach gentoxische, z. T. dosisabhängige Wirkung nachgewiesen. Hierbei muss berücksichtigt werden, dass die Myelotoxizität von Phenol und seinen Metaboliten den Nachweis möglicherweise erschwert.

Es liegen mehrere Untersuchungen mit positivem Nachweis von Gentoxizität in Somazellen in vivo vor. Dabei handelt es sich überwiegend um Mikrokerneffekte, die schwach ausgeprägt und an hohe Dosierungen gebunden waren. DNA-Strangbrüche

im Hodengewebe konnten in vivo nicht nachgewiesen werden. Nach Verabreichung von radioaktiv markiertem Phenol konnte auch in den Hoden und Ovarien eine deutlich messbare, allerdings schwache Radioaktivität gemessen werden. Methodisch bedingt kann nicht unterschieden werden, welche Gewebsabschnitte bzw. ob die Keimzellen erreicht wurden.

Aus diesen Gründen erfolgt eine Einstufung gemäß den EG-Einstufungskriterien als mutagen Kategorie 3 (M: 3)

Kanzerogenität

Eine Fall-Kontrollstudie sowie zwei Kohortenstudien ergaben keine schlüssigen Hinweise auf krebserzeugende Eigenschaften von Phenol beim Menschen.

Eine 2-Jahresstudie an Ratten und Mäusen, bei der in der höchsten Dosis jeweils annähernd die MTD erreicht wurde, ergab nur bei männlichen Ratten und nur in der niedrigen Dosierung einen signifikanten Anstieg von Phäochromocytomen, C-Zell-Karzinomen der Schilddrüse und Leukämien und Lymphomen gegenüber der Kontrollgruppe. In der höheren Dosierung waren diese Effekte jedoch geringer ausgeprägt als in der niedrigeren; eine Dosis-Wirkungsbeziehung konnte nicht nachgewiesen werden. Vorliegende mechanistische Untersuchungen zur Myelotoxizität von Phenol und seinen Metaboliten reichen nicht aus, um den abweichenden Verlauf der Dosis-Wirkungskurve zu erklären.

Die Datenlage reicht deshalb gemäß den EG-Einstufungskriterien nicht für eine Einstufung als krebserzeugend aus, deshalb erfolgt keine Einstufung (C: -).

Reproduktionstoxizität

Fertilität

Eine 2-Generationenstudie und eine Trinkwasserstudie über 2 Jahre ergaben keine Anhaltspunkte auf fertilitätstoxische Eigenschaften.

Deshalb erfolgt gemäß den EG-Einstufungskriterien keine Einstufung (R_F: -).

Entwicklung

In einer 2-Generationenstudie mit Phenol im Trinkwasser wurden nur in der höchsten Dosisgruppe (5000 ppm) verringerte Überlebensraten und verringerte Körpergewichtsentwicklung bei den Nachkommen in der F₁- und F₂-Generation festgestellt. Nur in dieser Dosisgruppe war jedoch auch die Trinkwasseraufnahme der Elterntiere mit 21-39% gegenüber der Kontrollgruppe in erheblichem Ausmaß vermindert. Dies wird als die wesentliche Ursache für die verringerte

Körpergewichtsentwicklung der Elterntiere und der Effekte bei den Nachkommen angesehen.

In einer Entwicklungsstudie an Ratten wurde in der höchsten Dosisgruppe ein schwach signifikanter Effekt ($p < 0.1$) auf das Körpergewicht der Feten am Tag der Schnittentbindung gefunden, ohne dass erkennbare Maternaltoxizität vorlag. In weiteren Studien an Ratten und Mäusen ist ein Einfluss der Maternaltoxizität auf die beobachteten Entwicklungsbeeinträchtigungen der Feten wahrscheinlich. Die Datenlage reicht für eine Einstufung nicht aus. Deshalb erfolgt gemäß den EG-Einstufungskriterien keine Einstufung (R_E : -).

Literatur:

- [1] Barale, R. et al. (1990): *Mutat. Res.* 244, 15-20.
- [2] Bulsiewicz, H., (1977): *Folia Morphol. (Warsz)* 36, 23-27.
- [3] BUA (1997): Beratergremium für umweltrelevante Altstoffe (Hrsg. Gesellschaft Deutscher Chemiker): *Phenol. – BUA-Stoffbericht 209. – S. Hirzel, Stuttgart. 1998.*
- [4] Ciranni, R. et al. (1988 a): *Mutat. Res.* 208, 61-67.
- [5] Ciranni, R. et al. (1988 b): *Mutat. Res.* 209, 23-28.
- [6] Deichmann, W. B. (1944): *Archs. Biochem.* 3, 345-355.
- [7] Dow Chemical Company (1994): Report No. HET K-002727-022, vom 14.6.1994 (unveröffentlicht; zitiert nach DFG, 1998).
- [8] DFG 1998: Deutsche Forschungsgemeinschaft (Hrsg.): *Gesundheitsschädliche Arbeitsstoffe. – Toxikologisch-arbeitsmedizinische Begründungen von MAK-Werten: Phenol. 27. Lieferung. VCH, Weinheim, 1998.*
- [9] Eastmond et al. (1986): *Molec. Pharmac.* 30, 674-679.
- [10] Eastmond, D. A. et al. (1987): *Toxicol. Appl. Pharmac.* 91, 85-95.
- [11] Gad-El Karim, M. M. et al. (1985): *Am. J. Industr. Med.* 7, 475-484.
- [12] Gad-El Karim, M. M. et al. (1986): *Toxicol. Appl. Pharmac.* 85, 464-477.
- [13] Gaido, K. und Wierda, D. (1984): *Toxicol. Appl. Pharmac.* 76, 45-55.
- [14] Ganousis, L. et al. (1992): *Molec. Pharmac.* 42, 1118-1125.
- [15] Gocke, E. et al. (1981): *Mutat. Res.* 90, 91-109.
- [16] HSE (Health and Safety Executive, UK) (2000): *EG-Einstufungsdossier, Sept. 2000 (Entwurf).*
- [17] Hughes, M. F. and Hall, L. L. (1995): *Xenobiotica* 25 (8), 873-883.
- [18] Irons, R. D. (1985): *J. Toxicol. Environ. Health* 16, 673-678.

- [19] Irons, R. D. et al. (1981): *J. Reticulo. Soc.* 30, 359-371.
- [20] Jones-Price, C. et al. (1983a): Teratologic evaluation of phenol. - National Center for Toxicological Research, Jefferson, AR, NTIS/PB83-247726. - NTIS, Springfield, VA, USA.
- [21] Jones-Price, C. et al. (1983b): Teratologic evaluation of phenol. - National Center for Toxicological Research, Jefferson, AR, NTIS/PB85-104461. - NTIS, Springfield, VA, USA.
- [22] Kolachana, P. et al. (1993): *Cancer Res.* 53, 1023-1026.
- [23] Liao, T. F. und Oehme, F. W. (1981): *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 57, 220-225.
- [24] Liu, S. et al. (1996): *Huannjing Kexue Xuebao* 16, 179-183 (zit. bei DFG, 1998).
- [25] Marrazzini, A. et al. (1994): *Mutat. Res.* 341, 29-46.
- [26] McFee, A. F. et al. (1991): *Mutat. Res.* 260, 387-391.
- [27] Miyagawa, M. et al. (1995): *Mutat. Res.* 343, 157-183.
- [28] Narotsky, M. G. and Kavlock, R. J. (1995): *J. Toxicol. Environ. Health* 45, 145-171.
- [29] NCI (National Cancer Institute) (1980): Bioassay of phenol for possible carcinogenicity. – Publication No. 80-1759, National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA
- [30] Post, G. B. et al. (1984): *Chem-Biol- Interact.* 50, 203-211.
- [31] Pottern, L. M. et al., (1992): *Cancer Causes Control* 3, 427-432.
- [32] Proctor & Gamble (1993): Range-finding maternal toxicity study with phenol. Proctor & Gamble Company report document ID: 86-930000341 (zit. bei HSE 2000)..
- [33] Rushmore, T. H. et al. (1984): *Chem.-Biol. Interact.* 49, 133-154.
- [34] Ryan, B. M., et al. (2001): *Intern. J. Toxicol.* 20, 121-142.
- [35] Raymond, G. Y. (1997): Oral (gavage) developmental toxicity study of phenol in rats. – Argus Research Laboratories, Inc. unpublished report ID: 9116-011 (zit. bei HSE 2000).
- [36] Reddy, M. V. et al. (1990): *Carcinogenesis* 11, 1349-1357.
- [37] Schoeters, G. et al. (1995): *Toxicol. in vitro* 9, 421-428.
- [38] Seidel, H. J. et al. 1991): *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 111, 128-131.
- [39] Shelby, M. D. et al. (1993): *Environ. Mol. Mutagen.* 21, 160-179.
- [40] Skare, J. A. and Schrotel, K. R. (1984): *Mutat. Res.* 130, 283-294.
- [41] Sturtevant, M. J. (1952): *J. Hered.* 43, 217-219.
- [42] Stoyanovsky, D. A. et al. (1995): *Archs Biochem. Biophys.* 317, 315-323.
- [43] Subrahmanyam, V. V. und O' Brien , P. J. (1985): *Xenobiotica* 15, 859-872.
- [44] Thompson, E. D. and Gibson, D. P. (1984): *Food Chem. Toxicol.* 22, 665-676.

[45] Uno, Y. et al. (1994): Mutat. Res. 320, 189-205.

[46] Woodruff, R. C. et al. (1985): Environ. Mutagen. 7, 677-702.

Stand: Mai 2002