

Toluol

(CAS-Nr.: 108-88-3)

Teil 1 Genotoxizität und Kanzerogenität

Teil 2 Reproduktionstoxizität

Teil 1 Genotoxizität und Kanzerogenität

Grundlage dieser Bewertung sind die MAK-Begründungen von 1985 [1], von 1990 [2] und von 1993 [3] sowie das Risk Assessment Document von 1998 [4].

Der Dampfdruck von Toluol beträgt 29 hPa bei 20°C.

Die Dampfsättigungskonzentration liegt bei 109.555 mg/m³ (20°C).

Genotoxizität:

Die Daten zur Genotoxizität von Toluol wurden in einem Review zusammengefasst [5]. Toluol zeigt in den gängigen in vitro-Testen (Ames-Test, Rec-Assay, Prophagen-Induktionstest, Pol A-Assay, Genkonversion/Hefe, Genmutation/Hefe) keine genotoxische Aktivität. Ebenfalls weitgehend negativ verliefen in vitro-Tests an Säugerzellen (Zelltransformation, interzelluläre Kommunikation/V 79 Zellen, Maus-Lymphom-Test/L5178Y-Zellen, SCE/CHO-Zellen bzw. Humanlymphozyten, DNA-Strangbrüche und DNA-Reparatur/Humanfibroblasten, Chromosomenaberrationen/Humanlymphozyten bzw. CHO-Zellen).

Positive Resultate in vitro erbrachten ein L5178Y-Maus-Lymphom-Test (+/- S9-Mix) sowie ein Test auf DNA-Strangbrüche an Rattenhepatozyten, wobei jedoch die Zytotoxizität bereits deutlich ausgeprägt war (< 30 % Überlebensrate).

Da bei den vorliegenden Untersuchungen offensichtlich keine gasdichten Inkubationsgefäße eingesetzt worden sind, ist davon auszugehen, dass während des Versuchs ein Teil der eingesetzten Toluol-Menge verdampft ist. Daher ist eine abschließende Bewertung der Ergebnisse nicht möglich.

Die Resultate aus Untersuchungen in vivo ergeben ein uneinheitliches Bild.

In Tests an Drosophila führte Toluol zu einer erhöhten Aneuploidie-Rate; vererbare Translokationen oder SLRL-Mutationen traten nicht auf. Von insgesamt 5 Mikrokerntesten an der Maus waren 2 positiv; beide mit i.p.-Applikation. Demgegenüber verliefen 3 Mikronucleus-Tests mit oraler Gabe an der Maus negativ. Ein Mikrokerntest an der Ratte mit i.p.-Gabe war ebenfalls schwach positiv. weiterhin konnten nach wiederholter s.c.-Behandlung (12 x 1000 mg/kg KGW) bzw. nach 16-wöchiger Inhalation (616 mg/m³, 4 h/Tag, 5 Tage/Woche) vermehrt

Chromosomenaberrationen im Knochenmark von Ratten nachgewiesen werden.

Dieser Befund wurde in einer ähnlichen Studie trotz höherer Dosierung jedoch nicht bestätigt (Ratte, 1140 mg/m³, 6 h/Tag, 5 Tage/Woche, 15 Wochen). Auch in anderen Chromosomenaberrationstesten an Ratte und Maus ergaben sich keine Anhaltspunkte für eine genotoxische Aktivität von Toluol nach oraler oder inhalativer Verabreichung [5].

Im Rahmen eines Spermakopf-Anomalie-Tests erhielten je 5 BALB/c-Mäuse/Dosisgruppe 5 i.p.-Gaben von Toluol (1x täglich an 5 Tagen) von je 0; 0,125; 0,25 bzw. 0,5 x LD₅₀. 5 Wochen nach der letzten Applikation wurden Spermien aus dem Nebenhoden entnommen und untersucht; der Befund war negativ [6].

Gemäß einer nur als Abstract vorliegenden Publikation führte die Schlundsonden-Applikation von Toluol (4 Dosierungen von 0,1 % bis zu 20 % der LD₅₀) bei männlichen SHR-Mäusen ab einer Dosis von 2 x 200 mg/kg KGW zu einer erhöhten Mikronuclei-Rate im Knochenmark; Anzeichen für dominante Letalmutationen in den Keimzellen ergaben sich nach 5-wöchiger Verabreichung von maximal je 20 % der LD₅₀ nicht. Die 10-malige Toluol-Verabreichung von maximal je 20 % der LD₅₀ führte zu keiner erhöhten Chromosomenaberrationsrate im Knochenmark [7].

Es liegt ein weiterer Dominant-Letal-Test an männlichen CD-1 Mäusen mit inhalativer Toluol-Exposition vor. Die Tiere wurden für 6 h/Tag an 5 Tagen/Woche über einen Zeitraum von 8 Wochen gegenüber 375 bzw. 1500 mg/m³. Nach Beendigung der Expositionsphase wurden die Männchen mit jeweils 2 unbehandelten Weibchen/Woche verpaart. Die Toluol-Behandlung hatte weder eine verringerte Fertilität der Männchen noch eine Zunahme der Prä- oder Postimplantationsverluste im Vergleich zur Kontrollgruppe zur Folge.

In Studien an Toluol-exponierten Arbeitern wurden überwiegend keine signifikanten Chromosomenveränderungen und auch keine signifikant erhöhten SCE-Raten gefunden. Die verschiedentlich beobachteten geringfügigen Veränderungen wurden meist den möglichen Verunreinigungen wie Benzol zugeschrieben.

Lediglich in einer Studie an 20 Tiefdruckarbeitern (Exposition: > 16 Jahre gegenüber Toluol-Dampf-Konzentrationen von 200-300 ppm; Expositionsspitzen nicht auszuschließen) wird über eine signifikant erhöhte Inzidenz an Chromatid-Brüchen und -Austauschen in den Lymphozyten berichtet. In einer Follow up-Studie wurde gezeigt, dass die Toluol-bedingten Chromosomenveränderungen noch bis zu 2 Jahre nach Expositionsende nachweisbar waren.

Kanzerogenität:

Es liegen mehrere tierexperimentelle Kanzerogenesestudien mit verschiedenen Applikationsarten vor.

a) Inhalation:

Die 103-wöchige Exposition von F 344/N-Ratten und B6C3F₁-Mäusen gegenüber Toluol-Konzentrationen von maximal 1200 ppm (4560 mg/m³; 6,5 h/Tag, 5 Tage/Woche) führte zu keinen neoplastischen Veränderungen [8].

In einer weiteren 2 Jahres-Inhalationsstudie wurden je 120 F344-Ratten pro Geschlecht und Gruppe für 6 h/Tag an 5 Tagen/Woche gegenüber maximal 300 ppm (1140 mg/m³) Toluol exponiert. Bei den zu Versuchsende getöteten Tieren ergaben sich keine Anhaltspunkte für eine kanzerogene Wirkung [9].

b) dermale Applikation:

Die lebenslange dermale Applikation von 2 x wöchentlich je 50 µl Toluol (44 mg/Tier; ca. 2200 mg/kg KGW) führte bei männlichen C3H-Mäusen zu Hautreizungen und bei 4/50 Tieren (8 %) zu malignen Hauttumoren an der Applikationsstelle (1 Tier mit Fibrosarkom; 3 Tiere mit Plattenepithelkarzinom) sowie bei 2/50 Tieren (4 %) zu benignen Hauttumoren an unbehandelten Hautarealen Fibromen. Die Tumorrates war jedoch nicht statistisch signifikant erhöht im Vergleich zur Kontrollgruppe (P = 0,055) [10].

Es liegt eine Fülle von dermalen Studien an Mäusen vor, in denen Toluol als Vehikel verwendet wurde und bei denen Toluol allein zu keinen substanzbedingten Tumoren geführt hat [11].

c) orale Applikation:

40 Sprague-Dawley Ratten pro Geschlecht erhielten an 4-5 Tagen/Woche über einen Zeitraum von 104 Wochen tägliche Gaben mit der Magensonde von 500 mg Toluol in Olivenöl/kg KGW. Anschließend wurden die Tiere bis zum Spontanod weitergehalten (Versuchsende nach 141 Wochen). Die Vehikel-Kontrollgruppe bestand aus je 50 männlichen und weiblichen Tieren. Die Tumorzinidenzen sind in der nachfolgenden Tabelle 1 zusammengestellt.

Tabelle 1: Tumorzinidenzen bei Sprague-Dawley-Ratten nach Magensonden-Gabe von Toluol über 2 Jahre [12]

Tumortyp/Lokalisation	Tiere mit Tumoren (%)			
	Kontrollgruppe		Toluol-Gruppe	
	männl.	weibl.	männl.	weibl.
maligne Tumoren insgesamt*	11/45 (24,4)	10/49 (20,4)	18/40 (45)	21/40 (52,5)
Thymome**	0/45 (0)	0/49 (0)	1/37 (2,7)	2/40 (5)
sonst. hämolymporetikul. Tum.**	3/45 (6,7)	1/49 (2)	2/37 (5,4)	5/40 (12,5)

*) bezogen auf überlebende Tiere nach 33 Wochen (erster maligner Tumor festgestellt)

***) bezogen auf überlebende Tiere nach 58 Wochen (erster hämolymporet. Tumor festgest.)

Es ergeben sich zwar Anzeichen für eine systemische kanzerogene Wirkung von Toluol, charakterisiert durch erhöhte Inzidenzen an malignen Tumoren insgesamt sowie an hämolymporetikulären Tumoren, allerdings sind in der Publikation keine näheren Angaben zum sonstigen Tumorspektrum enthalten. Außerdem ist unklar, ob die Tumorbildung dosiskorreliert ist, da nur eine Dosis getestet wurde [12].

Fazit:

Genotoxizität:

Toluol zeigt in den vorliegenden in vitro-Testen keine genotoxische Aktivität. Da jedoch nicht unter gasdichten Bedingungen getestet wurde, ist anzunehmen, dass zumindest ein Teil der eingesetzten Toluol-Menge während des Versuchs verdampft ist. Daher ist ein abschließendes Urteil über die mögliche genotoxische Aktivität von Toluol in vitro nicht möglich. Die Ergebnisse unter in vivo-Bedingungen ergeben ein uneinheitliches Bild. In mehreren Mikronucleus-Testen war Toluol nach oraler oder inhalativer Applikation inaktiv.

Positive Resultate wurden in einigen Mikronucleus-Testen mit i.p.-Gabe erzielt sowie verschiedentlich auch in Chromosomenaberrationsstudien. Oftmals handelt es sich jedoch dabei um Studienergebnisse, die nur unzureichend dokumentiert und daher nur beschränkt bewertbar sind.

Im Dominant-Letal-Test an der Maus war Toluol sowohl nach oraler als auch nach inhalativer Applikation inaktiv. Allerdings scheint der Inhalationsversuch zu niedrig dosiert worden zu sein, da bei den exponierten Tieren keinerlei toxische Effekte auftraten.

In Studien an beruflich Toluol-exponierten Personen ergaben sich in einem Fall Hinweise auf eine möglicherweise Toluol-bedingte signifikante Zunahme an Chromatid-Brüchen und -Austauschen in den Lymphozyten.

Eine abschließende Bewertung der möglichen erbgutverändernden Wirkung von Toluol ist aufgrund von Schwachpunkten bei den vorliegenden Studien noch nicht möglich. Allerdings erscheint es denkbar, dass Toluol ein schwaches clastogenes Potential in vivo besitzt.

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

Kanzerogenität:

Zur Frage der kanzerogenen Wirkung liegen zwei chronische Inhalationsstudien an Ratten und eine chronische Inhalationsstudie an Mäusen vor mit negativem Resultat. Abgesehen von einer dermalen Studie an Mäusen mit positivem Ergebnis wurden in einer Vielzahl von dermalen Kanzerogenesestudien mit Toluol als Vehikel in den entsprechenden Vehikel-Kontrollgruppen keine Hinweise auf eine tumorigene Wirkung von Toluol erhalten.

Die Ergebnisse der oralen Studie an Ratten sind nur beschränkt bewertbar, da nur eine Dosis getestet wurde und da zum Tumorspektrum insgesamt keine näheren Angaben gemacht werden.

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

Literatur:

- [1] Greim, H. (Hrsg.): Gesundheitsschädliche Arbeitsstoffe. Toxikologisch-arbeitsmedizinische Begründung von MAK-Werten: Toluol. VCH, Weinheim (1985)
- [2] Greim, H. (Hrsg.): Gesundheitsschädliche Arbeitsstoffe. Toxikologisch-arbeitsmedizinische Begründung von MAK-Werten; Kapitel „Schwangerschaft“: Toluol. VCH, Weinheim (1990)
- [3] Greim, H. (Hrsg.): Gesundheitsschädliche Arbeitsstoffe. Toxikologisch-arbeitsmedizinische Begründung von MAK-Werten: Toluol; Nachtrag 1993. VCH, Weinheim (1993)
- [4] Danish Environmental Protection Agency: Risk Assessment Toluene. Draft of September 18, 1998
- [5] McGregor, D.: The genetic toxicology of toluene. *Mutat. Res.* 317, 213-228 (1994)
- [6] Topham, J.C.: Do induced sperm-head abnormalities in mice specifically identify mammalian mutagens rather than carcinogens? *Mutat. Res.* 74, 379-387 (1980)
- [7] Feldt, E.G., Zhurkov, V.S.: Study of the mutagenic effects of benzene and toluene in the mammalian somatic and germ cells. *Mutat. Res.* 147, 294 (Abstract No. 31) (1985)
- [8] National Toxicology Program: Toxicology and carcinogenesis studies of toluene in F344/N rats and B6C3F₁ mice. NTP Technical Report 371 (1990)
- [9] Gibson, J.E., Hardisty, J.F.: Chronic toxicity and oncogenicity bioassay of inhaled toluene in Fischer-344 rats. *Fund. Appl. Toxicol.* 3, 315-319 (1983)
- [10] IUCLID-Datensatz Toluene vom 07.02.1996
- [11] IARC: IARC Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans: Toluene: Vol. 47, 79-123 (1989)
- [12] Maltoni, C., Conti, B., Cotti, G., Belpoggi, F.: Experimental studies on benzene carcinogenicity at the Bologna Institute of Oncology: Current results and ongoing research. *Am. J. Ind. Med.* 7, 415-446 (1985).

Teil 2 Reproduktionstoxizität

Dem Positionspapier zur Einstufung von Toluol hinsichtlich reproduktionstoxischer Eigenschaften liegen die MAK-Begründungen von Toluol (1985, Nachtrag 1993, MAK-Werte und Schwangerschaft 1990) und das Risk Assessment Document zu Toluol von der Danish Environmental Protection Agency (Draft Sept. 1998) zugrunde.

Soweit möglich, wurde die Originalliteratur verwendet.

Epidemiologie:

Dem Positionspapier liegen Recherchen in folgenden Datenbanken zu Grunde:

	Stand:
OSH-ROM	April 2000
CISDOC	April 2000
HSELINE	April 2000
NIOSHTIC	September 1998 (kein update)
MEDLINE	Juli 2000
TOXLINE PLUS	April 2000

Fertilität:

Neunzehn toluolexponierte Drucker im Alter von 32-48 (mittel 39,8) Jahren und 21 altersgematchte Offsetdrucker als Kontrollen wurden hinsichtlich der Beeinträchtigung der endokrinen Funktion durch Toluol untersucht (LIIRA et al., 1984). Die mittlere Expositionsdauer betrug 21 (11-31) Jahre und die geschätzte Exposition im Mittel 130 (69-185) ppm. Familienstand, Anzahl der Kinder, Kohabitationsfrequenz, Perioden mit Impotenz, Erkrankungen der Gonaden, Gesundheitszustand, Rauch- und Trinkgewohnheiten sowie Einnahme von Medikamenten wurden mittels Fragebogen erfasst. Eine klinische Untersuchung sowie zwei Blutentnahmen im Intervall von 30 Minuten wurden durchgeführt und Serum-LH (luteotrophes Hormon), -FSH (follikelstimulierendes Hormon) und Testosteron bestimmt.

Im Unterschied zur Kontrollgruppe litten die Exponierten weniger unter Perioden mit Impotenz und konsumierten mehr Alkohol. Zwischen den zwei Gruppen fanden sich bezüglich der Konzentration von FSH, LH und Testosteron keine statistisch signifikanten Unterschiede; lediglich zwischen Expositionsdauer und verminderter LH Konzentration (bei zunehmendem Alter) konnte ein geringer, statistisch signifikanter Zusammenhang festgestellt werden. Ob sich die Werte bei längerer Exposition und zunehmendem Alter dennoch im Normalbereich befanden sowie Aussagen zum

Einfluss des Alkoholkonsums können dem Abstract, publiziert in einem Tagungsbericht, nicht entnommen werden.

Tabelle 2 Serumhormonkonzentrationen (LIIRA et al. 1984)

	Exponierte n=19	Kontrollen n=21	Referenzbereich	
Männer				
FSH i.S. (IU/l)	8,6±10,2 (mean+SD)	6,5±9,2	3-14 ¹	1- 7 ²
LH i.S. (IU/l)	15,4±4,3	14,0±5,6	2-12	2-10
Testosteron i.S. (nmol/l)	36,1±10,5	35,7±9,5	10,4-31,2	12-30

1. Peter, G: Lehrbuch der klinischen Chemie. Edition medizin, Weinheim, Florida, Basel, 1982

2. Thomas, L: Labor und Diagnose. Indikation und Bewertung von Laboratoriumsbefunden für die medizinische Diagnostik. TH-Books Verlagsgesellschaft mbH, Frankfurt/Main, 1998

Zur Erläuterung:

Bei der Beurteilung der LH-Werte muss die physiologische pulsatile Hypophysensekretion mit entsprechenden Schwankungen der Serumkonzentration berücksichtigt werden. Etwa 8 bis zu 20 LH-Pulse werden beim Mann pro Tag gemessen. Eine Einzelbestimmung der LH-Konzentration ist nur begrenzt aussagekräftig. Beim FSH gibt es dagegen nur geringe Konzentrationsschwankungen im Serum, wobei Minima und Maxima mit jenen der LH-Sekretion korreliert sind (OCHSENDORF, BESCHMANN, 1996). Schon einer Einzelbestimmung kommt eine hohe Aussagekraft zu (NIESCHLAG, 1998). Die basalen Konzentrationen von LH und FSH im Serum steigen zwischen dem 40. und 70. Lebensjahr leicht und danach deutlich an (NIESCHLAG et al., 1982). Bei der Beurteilung der Testosteronwerte müssen Tagesschwankungen, morgendliche Werte im Schnitt 20% höher als abendliche, und kurzfristige Oszillationen berücksichtigt werden. Kurze intensive körperliche Anstrengung kann zu einer Erhöhung, längerfristige, erschöpfende körperliche Arbeit und u.a. Stress zu einem Abfall der Serumkonzentration führen (NIESCHLAG, 1998).

Die Plasmaspiegel von follikelstimulierendem Hormon und Testosteron wurden bei 262 toluolexponierten Druckern untersucht, die vor der Studie durchschnittlich 20 Jahre Toluol ausgesetzt waren (MØRCK et al. 1988, 1985). Die Exposition lag bei 50-100 ppm, kurzzeitig und in den früheren Jahren wurden höhere Konzentrationen gemessen. Die Untersuchten hatten in geringem Umfang zusätzlich Umgang mit Petroleum und Testbenzin. Die Exposition wurde durch einen Index abgebildet, in dem u.a. die Dauer, die Häufigkeit und die Höhe der Exposition sowie die Lüftungsverhältnisse berücksichtigt wurden. Es wurde nach Alter, Ethanolkonsum, Rauchgewohnheiten, Gewicht und Größe adjustiert. Es fand sich eine signifikante positive Korrelation des Expositionsindexes mit den angegebenen sexuellen Problemen und dem Plasma-FSH (Angaben zu Referenzbereichen fehlen). Nach expositionsfreier Zeit von 6 Wochen wurden 140 Drucker nachuntersucht. Es wurde ein statistisch signifikanter Anstieg des Plasmatestosterons beobachtet, der jedoch nicht mit der Exposition vor der 6-wöchigen Pause korrelierte. Niedrigere

Testosteronwerte der Beschäftigten während der Arbeitszeit im Vergleich mit Werten nach einem freien Intervall von sechs Wochen können, so die Autoren, auch durch die berufliche Tätigkeit stressbedingt sein. Bei fünf Teilnehmern der Studie mit den höchsten FSH- Werten fanden sich im Spermiogramm bei zwei von ihnen eine Azoospermie und bei den drei anderen abnormale Befunde. Die Bewertung dieser Befunde hinsichtlich des Toluoleinflusses ist nicht möglich, da keinerlei weitere Angaben zu diesen Personen (Exposition, Alter, Alkoholkonsum, Medikamenteneinnahme usw.) gemacht werden. Der Expositionsindex ist nicht geeignet die kumulative Exposition widerzuspiegeln.

Die Studienpopulation rekrutierte sich aus zwei Druckereien, Von den 382 Beschäftigten erklärten 325 (85,1%) ihre Teilnahmebereitschaft. Ausgeschlossen wurden Beschäftigte, die Nachtschicht hatten bzw. in Urlaub waren. Die Untersuchungen erfolgten innerhalb von drei Wochen. Die Blutentnahmen erfolgten ca. 13 Uhr. Die 140 Beschäftigten, die in die Nachuntersuchung einbezogen wurden, waren Teilnehmer eines Streikmeetings.

Ziel der Studie von SVENSSON et al. (1992 b) war es, anhand von Hormonbestimmungen (Testosteron, Prolaktin, luteotrophem Hormon und follikelstimulierendem Hormon) zu untersuchen, ob die Sekretion von Hypophysenhormonen bei toluolexponierten Männern beeinflusst wird.

47 männliche Drucker aus zwei Tiefdruckereien (Firma A und B) im Alter von 23 bis 62 Jahren (Mittel 44,4 Jahre) sowie 23 Handwerker aus Krankenhauswerkstätten und 23 Arbeiter aus der Metallindustrie ohne berufliche Exposition gegenüber Lösungsmitteln im Alter von 20-61 Jahren (Mittel 43,5 Jahre) wurden in die Untersuchung einbezogen. Die durchschnittlich gemessene Toluolkonzentration für die Drucker der Firma A betrug 11 (1-108) ppm, in der Firma B 47 (6-142) ppm. Alle Arbeiter der Firma A wurden den drei niedrigen Expositions-kategorien, alle Arbeiter der Firma B den drei höheren Expositions-kategorien zugeordnet. Die Toluolkonzentration im Blut betrug montags vor Schicht 0,05-0,83 $\mu\text{mol/l}$ (0,005-0,08 mg/l) und donnerstags nach Schicht 0,19-8,0 $\mu\text{mol/l}$ (0,017-0,74 mg/l). Zwischen Exponierten insgesamt und der Kontrollgruppe traten keine statistisch signifikante Differenzen der Hormonkonzentrationen auf. Die jüngeren Exponierten zeigten jedoch signifikant niedrigere Plasmaspiegel von LH und FSH. Für FSH konnte der Einfluss des Alters als Effektmofikator nachgewiesen werden. Für LH und Testosteron besteht die Hauptassoziation, wenn auch als minimale Zusammenhänge, mit der Exposition; das Alter war weniger bedeutend. Der Zusammenhang mit der Exposition blieb auch nach Ausschluss von 9 Druckern mit hohem Alkoholkonsum bestehen. Es ergab sich eine signifikante Abnahme der Plasmakonzentrationen von Testosteron und LH mit zunehmender Exposition gegenüber Toluol (< 5ppm (n=12) vs. > 45ppm (n=2)). Zwischen kumulativer Exposition und Plasmahormonkonzentrationsänderungen wurde keine Korrelation gefunden.

Bei der Interpretation der Ergebnisse ist zu berücksichtigen, dass die LH-Konzentrationen während eines Tages großen Schwankungen unterliegen und Einzelbestimmungen der LH-Konzentration nur begrenzt aussagekräftig sind. Alle Werte lagen im Normalbereich. Als Confounder wurden hoher Alkoholkonsum und das Alter berücksichtigt. Hoher Alkoholkonsum war an ein oder mehrere folgender Kriterien geknüpft

- alkoholinduzierte Krankheiten
- Blutalkohol > 0,5 g/l während der Arbeitszeit
- wöchentlicher Alkoholkonsum > 250 g.

Tabelle 3 Mittelwerte der Serumhormonkonzentrationen (SVENSSON, 1992 b)

Exponierte Arbeiter						Kontrollen				
		LH	FSH	PRL	Test		LH	FSH	PRL	Test
Alter	n	µg/l	µg/l	µg/l	nmol/l	n	µg/l	µg/l	µg/l	nmol/l
<40	14	0,8**	0,4*	3,3	13,8	17	1,1	1,0	4,2	17,1
40-50	14	0,9	0,9	3,0	16,0	11	0,9	1,1	2,9	15,4
>50	19	1,0	1,2	2,5	15,9	18	0,9	1,2	3,2	15,1
Alle	47	0,9	0,9	3,0	15,8	46	1,0	1,1	3,2	16,0

*p<0,05; **p<0,01 bei Korrelation Exponierte vs. Kontrollen

Als Normalwerte wurden von den Autoren angegeben:

P-FSH	0,3-2,7 µg/l
P-LH	0,3-1,4 µg/l
P- PRL	2 - 12 µg/l
P-Testost.	6 - 30 nmol/l

Die Bewertung der durchschnittlichen Expositionskonzentration für jeden Arbeiter erfolgte

1. mittels personal sampling über eine Woche bei über der Hälfte der Arbeiter.
2. durch Beobachtung und detaillierte Informationen über Arbeitsabläufe und -aufgaben für jeden Arbeiter über zwei Arbeitswochen
3. durch Bestimmung des Toluols im Blut. Die Korrelation zwischen Konzentration im Blut und in der Luft wurden zur Validierung der Resultate der Expositionsbeurteilung herangezogen und um mögliche dermale Exposition zu erfassen.

Blut für das Biological Monitoring wurde montags vor und donnerstags vor und nach der Schicht in einer Arbeitswoche entnommen. Nach Bewertung der durchschnittlichen Exposition für jeden Arbeiter erfolgte eine Einteilung in sechs Expositions-kategorien. Diese Einteilung wurde ohne Kenntnis der Ergebnisse der Hormonanalysen vorgenommen. Die frühere Exposition wurde auf Grundlage von Messergebnissen, verfügbaren Angaben zur Arbeitsumwelt sowie durch Befragung der Arbeiter und Meister geschätzt. Für jeden Arbeiter wurde ein kumulativer Expositionsindex (Expositions-konzentration X Expositions-dauer) gebildet. Die Blutentnahmen für die Hormonbestimmungen erfolgte bei den Exponierten und den Kontrollpersonen an einem Tag in der Mitte der Arbeitswoche zwischen 10.00 und 13.00 Uhr.

Zwanzig toluolexponierte Drucker mit einer durchschnittlichen Beschäftigungsdauer von 25 (0,5-37) Jahren und einem durchschnittlichen Alter von 48,2 (30-63) Jahren hatten signifikant niedrigere Serumkonzentrationen von follikelstimulierendem Hormon (FSH) (3,2 vs. 4,9 IU/l; $p=0,008$), luteinisierendem Hormon (LH) (6,1 vs. 7,2 IU/l; $p=0,02$) und freiem Testosteron (76,8 vs. 86,8 pmol/l; $p=0,05$) im Vergleich mit 44 nicht gegenüber Lösungsmitteln exponierten Kontrollpersonen im durchschnittlichen Alter von 39 (23-63) Jahren (SVENSSON et al., 1992 a). In der Gruppe der Exponierten fand sich eine negative Assoziation zwischen freiem Testosteron und Alter ($p=0,03$), wie auch in der Kontrollgruppe ($p=0,02$). Eine multiple Regressionsanalyse mit Alter und Bluttoluolkonzentration als Einzelvariablen zeigte einen schwachen, aber größeren Einfluss der Bluttoluolkonzentration als der des Alter auf die Prolaktinkonzentration. Erniedrigte Prolaktinwerte haben jedoch praktisch keine Bedeutung (WERDER, 1998).

Zwischen Exponierten und Kontrollen bestand eine Altersdifferenz von im Mittel 9 Jahren. Nach dem Alter stratifiziert, persistiert die beobachtete Differenz: Gonadotropinkonzentration und Testosteron waren bei den Exponierten niedriger. Zwischen kumulativer Exposition und Hormonkonzentration im Plasma wurde keine Korrelation gefunden. Die Hormonkonzentrationen lagen sowohl in der Kontrollgruppe als auch bei den Exponierten im Referenzbereich.

Tabelle 4 Hormonkonzentration bei toluolexponierten Druckern und nicht exponierten Kontrollpersonen

	Exponierte n=20	Kontrollen n=44	p	Referenzwerte (SVENSSON et al. 1992a)
S-FSH (IU/l)	3,2 (1,8-7,2)	4,9 (1,8-17,3)	.008	0,8-22
S-LH (IU/l)	6,1 (3,8-9,4)	7,2 (4,9-14,4)	.02	2-15
S-PRL (µg/l)	2,8 (1,3-6,2)	3,4 (1,4-9,2)	.10	2-12
S-f-Test (pmol/l)	76,8 (48,6-107,2)	86,8 (21,5-141,5)	.05	
S-t-Test (ng/ml)	5,8 (2,7-8,2)	6,6 (0,6- 3,0)	.06	

S-FSH= follikelstimulierendes Hormon im Serum,
 S-LH= luteinisierendes Hormon,
 S-PRL= Prolaktin,
 S-f-Test= freies Testosteron,
 S-t-Test= Gesamttestosteron

Die Toluolkonzentration in der Luft wurde bei allen Arbeitern einer Schicht (n=7) mittels personal sampling über eine Arbeitswoche gemessen. Die frühere Exposition wurde anhand der Angaben der Arbeiter und Meister zu den Arbeitsbedingungen, Produktion, Ventilation und Ergebnissen früherer Messungen geschätzt. Für jeden Arbeiter wurde ein kumulativer Expositionsindex gebildet.

Bei den Druckern betrug die individuelle zeitlich gemittelte Toluolkonzentration in der Luft 36 (8-111) ppm, die mittlere Konzentration von Toluol im Blut 1,7 (1,0-6,6) µmol/l (0,16 mg/l bzw. 0,09-0,6 mg/l). Für die Hormonbestimmungen erfolgten zwei Blutentnahmen in der Wochenmitte zwischen 11 und 14 Uhr in 60-minütigem Abstand. Die Blutalkoholkonzentration wurde bestimmt.

Nach 4-wöchiger expositionsfreier Zeit von 8 Arbeitern wurde ein Anstieg der Gonadotropine beobachtet:

	unter Exposition	nach expositionsfreier Zeit (4 Wochen)	p
S-Toluol ($\mu\text{mol/l}$)	1,8 (1,2-6,6)	0,03 (0-0,28)	0,01
S-FSH (IU/l)	3,0 (2,4-5,2)	4,8 (2,7-21,4)	0,05
S-LH (IU/l)	6,1 (3,8-9,4)	8,7 (5,2-10,7)	0,01

Die Reversibilität als Befund ist nicht zu bewerten, FSH- und LH- Konzentration befinden sich sowohl unter Exposition als auch nach einer expositionsfreien Zeit im Referenzbereich.

Trotz der Nichtberücksichtigung von Confoundern wurden in den Studien von SVENSSON et al. nur geringe Effekte der Toluolexposition auf die Gonadotropin- und Testosteronkonzentration nachgewiesen, wobei die Gesundheitsrelevanz fraglich ist, da alle Werte der Hormonkonzentrationen im Referenzbereich liegen. Als Confounder wurden nur Alter und schwerer Alkoholkonsum berücksichtigt; nicht aber BMI, Fettgewebsanteil, Alkoholkonsum generell u.a..

LUDERER et al. (1999) überprüften die Hypothese der Hemmung der pulsatilen Gonadotropinsekretion durch Toluol. Unter kontrollierter Toluolexposition wurden daher in Intervallen LH und FSH und Testosteron, Pulsamplitude und -frequenz sowie die mittlere Konzentration von LH und FSH bestimmt. Die Autoren exponierten 10 Frauen, davon 5 Frauen in der Follikel- und 5 in der Lutealphase des Menstruationszyklus sowie 5 Männer über 3 Stunden gegenüber 50 ppm Toluol. Blutentnahmen erfolgten in 20-minütigen Abständen 3 Stunden vor, während und 3 Stunden nach der Exposition sowie bei einer scheinbar exponierten Kontrollgruppe. Mögliche Confounder der Gonadotropinsekretion wurden ausgeschlossen. Die Konvergenzanalyse erfolgte mit folgenden Covariaten: Alter, Body-Maß-Index und Fettgewebeanteil (Messung der Hautfaltendicke). Die mittlere Toluolkonzentration im Blut am Ende der Exposition betrug 4,9 (3,58-6,79) nmol/ml (0,45; 0,33-0,62 mg/l) bei den Männern; 3,65 (0,23-5,72) nmol/ml (0,34; 0,02-0,53 mg/l) bei den Frauen in der Lutealphase und 5,57 (2,32-7,96) nmol/ml (0,51; 0,21-0,73 mg/l) bei den Frauen in der Follikelphase.

Die Exposition gegenüber Toluol in diesen Konzentrationen resultierte weder bei den Männern noch bei den Frauen in anormaler LH- oder FSH-Pulsamplitude, -Pulsfrequenz oder mittlerer LH- und FSH-Konzentration. Es zeigte sich ein Trend ($p=0,06$) einer Abnahme der LH-Pulsfrequenz bei Frauen in der Lutealphase mit Toluolexposition, sowie eine geringe aber signifikante Abnahme der mittleren LH Konzentration ($p<0,05$) bei exponierten Männern im Vergleich zur Kontrollgruppe. Die klinische Relevanz der beobachteten Effekte ist unklar. Die mittlere LH-Konzentration blieb bei allen Männern im Normbereich. Die Angaben zur Power sind nicht bewertbar, da die festgestellten Veränderungen nur in Prozent und nicht in Einheiten des Streumaßes angegeben werden. Um die Relevanz der Prozentangaben zu bewerten würden Angaben zur Genauigkeit des Messverfahrens benötigt.

BERKA und JELINEK (1963) berichten über Menstruationsstörungen bei Frauen, die bei der Arbeit einer durchschnittlichen Konzentration von Toluol (Benzolgehalt ca. 1%) von 10,6 ml/m³ für 2 – 7 Jahre ausgesetzt waren. Dabei seien Menstruationsstörungen (unregelmäßige Frequenz 28,1% vs. 11,4%, mäßig starke (78,1% vs. 25%) und starke Blutungen (10,5% vs. 5%)) in höherem Maße bei den Exponierten (n=114) als in der Kontrollgruppe (n=80) aufgetreten. Die Ausscheidung von Phenol, Benzoesäure, anorganischen Sulfaten und 17-Ketosteroiden im Urin sei unbeeinflusst gewesen. Auch das Blutbild habe keine pathologischen Befunde gezeigt. Confounder wurden nicht berücksichtigt und Recall Bias können nicht ausgeschlossen werden. SYROVADKO (1977) beschreibt eine höhere Inzidenz von Menstruationsstörungen bei Toluolexponierten. Der Expositionsbereich lag zwischen 13 und 120 (Mittel 55) ppm. Die Dauer der Exposition betrug 5 bis 20 Jahre. MASUSHITA et al. (1975) eruierten bei den Toluolexponierten vermehrt dysmenorrhoeische Beschwerden. Da der genaue Studienansatz nicht bekannt ist, z.T. Mischexpositionen vorlagen, können die Ergebnisse dieser Studien nicht in die Bewertung einbezogen werden.

NG et al. (1992) befragten 231 Produktionsarbeiterinnen mit durchschnittlicher Exposition von 88 (50-150) ppm, 58 Produktionsarbeiterinnen aus einer anderen Abteilung des selben Betriebs (ohne oder mit niedriger Exposition: 0-25 ppm) sowie 187 Frauen der gleichen sozialen Schicht, die sich zu Routineuntersuchungen in einem Gesundheitszentrum vorstellten, nach Menstruationsstörungen. Die Rate für Zyklusstörungen, verlängerte oder verstärkte Menstruationsblutungen, war in allen Gruppen ähnlich. Dysmenorrhoe wurde öfter von Frauen mit hoher Toluolexposition im Vergleich zu in den Gesundheitszentren befragten Frauen, nicht aber im Vergleich mit der betriebsinternen Kontrollgruppe mit niedriger Exposition, angegeben. Einige Arbeiterinnen aus der Abteilung mit niedriger Exposition gegenüber Toluol waren gegenüber weiteren Faktoren, wie Lärm, Hitze, Blei, Methanol und Methylketon exponiert, wobei die entsprechenden Grenzwerte eingehalten wurden.

Es konnte kein Zusammenhang zwischen dysfunktionellen uterinen Blutungen und Toluolexposition nachgewiesen werden. Ob Dysmenorrhoe speziell mit Toluolexposition zusammenhängt ist unklar, da, so die Interpretation der Autoren, viele persönliche und arbeitsbedingte Faktoren einen Einfluss haben können.

SALLMEN et al. (1995) beschreiben in einer retrospektiven Time-to-pregnancy (TTP)- Studie bei als gegenüber Toluol hochexponiert eingestuften Frauen (n=17) eine statistisch nicht signifikante Verminderung der Fekundabilität (Incidence Density Ratio: 0,71; 95% CI 0,4-1,26). Die Schwangerschaften lagen 8 bis 18 Jahre zurück, so dass Recall Bias nicht ausgeschlossen werden können. Die Autoren räumen darüber hinaus auch Response Bias ein.

An der Studie nahmen 235 (66%) der Angeschriebenen (Fälle und Kontrollen aus der Abortstudie von LINDBOHM et al. (1990)) teil. Nach Berücksichtigung der Ausschlusskriterien konnten die Daten von 197 Frauen in die Auswertung einbezogen werden. Die Studienpopulation rekrutierte sich aus Frauen, deren Lösungsmittelexposition im Zeitraum von 1965-1983 mittels biologischem Monitoring überwacht worden war, in Verbindung mit Geburten- und Krankenhausregistern der Jahre 1973-1983 sowie des Fehlbildungsregisters. Mittels postalischem Fragebogen wurden die Frauen nach TTP und anderen Faktoren gefragt wie Planung der

Schwangerschaft, Koitusfrequenz, Kontrazeption, Rauchen, Alkohol- und Kaffeekonsum sowie Rauchen und relevanten Erkrankungen des Partners. Daten zu Reproduktionsanamnese und Gesundheitsstatus wurden der früheren Studie entnommen.

Auf der Basis der Eigenauskunft sowie verfügbarer Daten des Biomonitoring wurde von 2 Experten eine Klassifizierung der Frauen nach wahrscheinlichen Expositionen vorgenommen, zunächst in nicht, potentiell und exponiert, später ging die potentiell exponierte Gruppe in die nicht exponierte ein. Die quantitative Expositionsabschätzung erfolgte auf der Basis der Häufigkeit des Umganges mit den Lösungsmitteln und der Informationen über typische Expositionshöhen bei den jeweiligen Tätigkeiten:

hoch: täglicher Umgang oder 1-4 Tage/Woche bei hoher (gemessener) Exposition

gering: Umgang 1-4 Tage/Woche bei geringer (gemessener) Exposition Umgang seltener als einmal pro Woche

keine.

SALLMEN et al. (1998) stellten eine statistisch nicht signifikante Reduzierung der Fruchtbarkeit von Männern in Zeiträumen mit Toluolbelastung fest. Die Fekundabilitätsrate war bei intermittierender/niedriger Exposition mit 0,76 (95%CI 0,52-1,09; n=73) niedriger als bei hoher Exposition mit 0,93 (95%CI 0,62-1,4; n=51) adjustiert nach kurzem Menstruationszyklus, langem oder unregelmäßigem Menstruationszyklus, Alter bei Menarche, Koitusfrequenz, mütterlichem Alter, mütterlicher Exposition gegenüber organischen Lösungsmitteln und einer Kontrollvariablen für fehlende Daten. Die Zusammenhänge sind schwach und statistisch nicht signifikant. Im Biological Monitoring betrug das arithmetische Mittel für Toluol im Blut 0,33 $\mu\text{mol/l}$ (0,03 mg/l) bei den als hochexponiert Eingestuften bzw. 0,38 $\mu\text{mol/l}$ (0,034 mg/l) bei den niedrig bzw. intermittierend Eingestuften bei morgendlicher Probenahme.

Da bei 31% der Männer die Expositionsabschätzung nur auf deren Angaben beruht sind Fehlklassifikationen nicht auszuschließen. Response Bias können nach Angaben der Autoren ebenfalls nicht ausgeräumt werden. Die Richtung der potentiellen Response und Recall Bias kann nicht eingeschätzt werden. Selektionsbias sind möglich, da sterile Paare in die Untersuchung nicht einbezogen wurden. Der Publikation von TASKINEN (1989), der die selbe Kohorte zu Grunde lag, ist zu entnehmen, dass außerdem von einer erheblichen Mischexposition auszugehen ist.

Die Informationen über Familienstand und Ehefrauen der männlichen Studienpopulation wurden über ein Bevölkerungsregister erhalten. Mittels Personenidentifikationsnummern der Frauen waren die notwendigen Daten aus Geburten-, Krankenhaus- und Fehlbildungsregister verfügbar. Diese Informationen wurden der Studie von TASKINEN (1989) entnommen. Den Frauen wurde mittels Fragebogen Fragen nach Time to Pregnancy und relevanten Faktoren gestellt wie nach Planung der Schwangerschaft Koitusfrequenz, Kontrazeption, Lebensstilfaktoren, Rauchen und Erkrankungen des Partners. Die Reproduktionsanamnese wurde in der früheren Studie erfasst und ergänzende

Fragen gestellt zur Gesundheitsanamnese und zum Menstruationszyklus. Die vorliegenden Erkenntnisse zu den Arbeits- und Expositionsbedingungen zu Beginn der Schwangerschaft in der früheren Studie wurden ergänzt durch Befragung der Partner zu den Arbeitsbedingungen in den 12 Monaten vor Empfängnis.

Die Expositionsabschätzung erfolgte auf der Basis der Tätigkeitsbeschreibung, Angaben zum Gebrauch von Lösungsmitteln, der Häufigkeit des Umganges mit dem Lösungsmittel, unterstützt durch Daten aus dem biologischen Monitoring:

Hoch/häufig: täglicher Umgang und das Biomonitoring ergab eindeutige Exposition (oberhalb des Referenzwertes für die Allgemeinbevölkerung)

mittel Umgang 1-4 Tage /Woche und das Biomonitoring ergab mittlere bis niedrige Exposition

gering: seltener Umgang

PLENGE-BÖHNIG und KARMAUS (1999) beschreiben als Ergebnis ihrer Studie in der Druckindustrie, in der die Fekundabilitätsratio (FR) auf Grundlage der Time-to-pregnancy bzw. Zyklen mit ungeschütztem Geschlechtsverkehr, die nicht zu einer Schwangerschaft führen, für unterschiedlich exponierte Gruppen ermittelt wird, dass Exposition gegenüber Toluol in der Druckindustrie mit Subfekundität bei den Frauen (FR 0,47; 95%CI 0,29-0,77) aber nicht bei den Männern (FR 1,05, 95%CI 0,93-1,19) assoziiert ist. Die statistische Auswertung der Studie ist nicht geeignet die Wirkung einer Toluolbelastung auf die Fruchtbarkeit zu bewerten. Die Autoren räumen in der Diskussion ein, dass andere vorhandene Faktoren, deren Einflüsse auf die Fertilität bekannt sind, wie Lärmexposition, Schichtarbeit oder Stress, nicht berücksichtigt wurden.

Fazit:

In allen Studien zu hormonellen Veränderungen unter Exposition sind geringe Effekte zu sehen, die im Referenzbereich liegen. Die Studie von LUDERER et al. (1999) weist auf die intraindividuelle Schwankung der Hormonkonzentrationen hin. Es zeigte sich jedoch ein Trend einer Abnahme der LH-Pulsfrequenz bei Frauen in der Lutealphase mit Toluolexposition, sowie eine geringe aber signifikante Abnahme der mittleren LH-Konzentration bei exponierten Männern im Vergleich zur Kontrollgruppe. SVENSSON et al. (1992 b) beobachteten eine signifikante Abnahme der Plasmakonzentration von Testosteron und LH mit zunehmender Exposition. SVENSSON et al. (1992 a) fanden bei den Exponierten niedrigere Werte für die Gonadotropinkonzentration und Testosteron und nach 4-wöchiger expositionsfreier Zeit einen signifikanten FSH- und LH- Anstieg. Widersprüchlich sind die Daten zur Fekundität: SALLMEN et al. (1995, 1998) stellten keine statistisch signifikante Reduzierung der Fruchtbarkeit bei exponierten Männern und Frauen fest. PLENGE-BÖHNIG u. KARMAUS (1999) berichteten über eine statistisch verminderte Fekundität bei exponierten Frauen. Alle drei Studien, weisen wie oben beschrieben, methodische Mängel auf.

Einstufungsvorschlag:

Ein Einstufungsvorschlag aus epidemiologischer Sicht kann nicht erbracht werden, da nicht beurteilt werden kann, inwieweit die beobachteten hormonellen Effekte gesundheitliche (reproduktionsbezogene) Relevanz haben.

Entwicklungsschädigung:

Toluolabusus führt bei menschlichen Feten zu charakteristischen Abnormalitäten, die dem fetalen Alkoholsyndrom bei Kindern alkoholkranker Mütter ähnlich sind.

Zahlreiche Publikationen berichten über den Schwangerschaftsausgang bei Frauen mit Toluolabusus (schnüffeln) (TOUTANT und LIPPMANN 1979, STREICHER et al. 1981, HERSH et al. 1985, HOYME et al. 1993, ARNOLD et al. 1994, PEARSON et al. 1994). Bei diesen Kindern wurden u.a. Mikrozephalie, Dysfunktionen des ZNS, kleinere craniofaciale und Gliedmaßenanomalien sowie Retardierung festgestellt.

In einer Fall-Kontroll-Studie (McDONALD et al., 1987) wurden 301 Frauen, deren Kinder kongenitale Defekte aufwiesen, mit 301 Frauen, deren Kinder keine Defekte hatten und die jeweils mindestens 30 Stunden pro Woche vom Zeitpunkt der Konzeption bis zum Ende der 12. Schwangerschaftswoche arbeiteten, verglichen. Die Exposition der Frauen wurde aufgrund der Berufsanamnese und persönlichen Angaben durch zwei Arbeitshygieniker, die den Fall- bzw. Kontrollstatus nicht kannten, nach Schätzung der durchschnittlichen und maximalen Expositionsintensität in schwach, mittel und stark Exponierte klassifiziert, und es erfolgte eine Zuordnung zu neun stofflichen Kategorien. Von den 602 befragten Frauen waren 428 (71%) nicht gegenüber Chemikalien exponiert. 74% der 174 exponierten Frauen waren zwei oder mehr Chemikalien ausgesetzt. Fälle und Kontrollen wurden nach Klinik, Gravidität, Bildungsstand, mütterlichem Alter (\pm 1Jahr) und Geburtsdatum des Kindes gemacht. Für aromatische Lösungsmittel betrug die Fall-Kontroll-Rate 18:8. Die meisten Defekte traten im Bereich der Niere und der Harnwege auf (Fall-Kontroll-Rate 9:0). Von diesen 9 Fällen sind 6 gegenüber Toluol, davon drei gegenüber weiteren Lösungsmitteln (Xylol, Isophoron und aromatische Lösungsmittel (unspezifisch)) exponiert. Das vermehrte Vorkommen von Nieren- und Harnwegsanomalien wurde ursächlich mit einer Toluolexposition in Verbindung gebracht; die Fall-Kontroll-Rate bei Toluolexposition betrug 11:3.

Die Studie kann nur zur Aussage einer pauschalen Expositionswirkung ohne Dosis-Wirkungs-Beziehungen herangezogen werden. Sie ist darüber hinaus in ihrer Aussagefähigkeit wegen fehlender Berücksichtigung von Confoundern, wie z. B. Medikamenteneinnahme und Erkrankungen während der Schwangerschaft eingeschränkt.

Zur Expositionsabschätzung erfolgte zunächst auf der Grundlage der Angaben zur Beschäftigung eine Einteilung in Tätigkeiten mit möglicher chemischer Exposition und solchen, bei denen eine Exposition unwahrscheinlich ist. Nähere Informationen zu möglichen Expositionen der einen Gruppe wurden durch Arbeitsplatzbesichtigungen oder Expertjudgement erhalten, im Fall der anderen Gruppe erfolgten Befragungen, z. B. der Arbeitgeber. Für jede Exposition wurden durchschnittliche und maximale Exposition abgeschätzt und nach leicht (Exposition nach allgemeiner Erkenntnis vorhanden, aber nicht feststellbar), mittel (Exposition

feststellbar, aber unterhalb von Grenzwerten) und schwer (Exposition verursacht Unbehagen) bewertet. Zusätzlich wurde die Dauer der maximalen Exposition pro Woche abgeschätzt. Die Autoren räumen ein, dass sich diese quantitative Expositionsabschätzung schwierig gestaltete und von begrenzter Validität sei. Zur qualitativen Expositionsanalyse nach den Angaben der Befragten wurde ein Toxikologe herangezogen, und es erfolgte eine stoffliche Einteilung in 9 Gruppen, u. a. "aromatische Lösungsmittel".

TASKINEN et al. (1989) fanden im Rahmen einer Fall-Kontroll-Studie zum Einfluss der väterlichen Exposition auf Spontanaborte und angeborene Fehlbildungen in einer Kohorte, die im Zeitraum von 1965-1983 in ein biologisches Monitoring zur Erfassung der Belastung durch sechs organische Lösungsmittel, darunter Toluol, einbezogen worden war, bei häufiger und hoher Exposition gegenüber Toluol ein signifikant erhöhtes Spontanabortrisiko mit einem Odds Ratio von 2,3 (95%CI: 1,1-4,7; $p < 0,05$), kontrolliert nach weiterer potentieller väterlicher Exposition, mütterlicher Exposition gegenüber Lösungsmitteln, schwerem Heben und vorausgegangenem Spontanaborten. Rauchen und Alkoholkonsum wurden berücksichtigt. Bei Toluolexposition insgesamt ergab sich ein erhöhtes, aber nicht signifikantes OR von 1,5 (95%CI 0,9-2,5). Bei den Fehlbildungen ergab die väterliche Exposition gegenüber Toluol ein OR= 1,5 (95% CI: 0,4-5,4) ohne statistische Signifikanz (kleine Fallzahlen, keine detaillierten Angaben). Als potentielle Confounder waren fieberhafte Erkrankungen und väterliche Staubexposition einbezogen worden.

Bei der Studie ist von einer erheblichen Mischexposition auszugehen. Von den hoch/häufig Exponierten waren 97 Männer gegenüber Toluol, Xylol oder Lösungsmittelgemischen exponiert; nur 25 % (14 von 57) der "Toluol-exponierten" gegenüber Toluol allein. In der statistischen Analyse ist auf Grund der einzelnen Korrelationen aller untersuchten Lösungsmittel eine zufällig auf Toluol entfallende Wirkung nicht auszuschließen.

Die Informationen über Familienstand und Ehefrauen der männlichen Studienpopulation wurden über ein Bevölkerungsregister erhalten. Mittels Personenidentifikationsnummern der Frauen waren die notwendigen Daten aus Geburten- Krankenhaus- und Fehlbildungsregister verfügbar. Als Fälle galten Frauen mit Spontanaborten oder einem Kind mit kongenitaler Fehlbildung. Den Fällen mit Spontanaborten wurden jeweils 3 Kontrollen zugeordnet, bei Fehlbildungen 5. Die Auswahl der Kontrollen erfolgte im Hinblick auf Analogie bei Alter und Konzeptionszeitpunkt. Über postalische Fragebögen wurden Angaben zu beruflicher Exposition während des 1. Trimesters der Schwangerschaft sowie Lebensstilfaktoren, fieberhafte Erkrankungen, schwerem Heben und zur Reproduktionsanamnese eingeholt. Die Fragebögen für die Männer umfassten Angaben zu Beschäftigung, Beruf und Arbeitsplatz während des Konzeptionsjahres, Beschreibung der Arbeitsaufgaben, speziell für die Zeit der Spermatogenese vor dem Konzeptionstermin, Umgang mit speziellen Lösungsmitteln, Häufigkeit des Gebrauchs, weitere Expositionen, chronischen Schäden, Rauchgewohnheiten und Alkoholkonsum.

Die Expositionsabschätzung erfolgte auf der Basis der Tätigkeitsbeschreibung, Angaben zum Gebrauch von Lösungsmitteln, der Häufigkeit des Umganges mit dem Lösungsmittel, unterstützt durch Daten aus dem biologischen Monitoring:

Hoch/häufig : täglicher Umgang und das Biomonitoring ergab eine eindeutige berufliche Exposition (oberhalb der Referenzwerte für die Allgemeinbevölkerung)

mittel: Umgang 1-4 Tage / Woche und das Biomonitoring ergab mittlere bis niedrige Exposition

niedrig/selten: seltene Exposition.

Die endgültige Studienpopulation bestand aus 120 Fällen und 251 gematchten Kontrollen für Spontanaborte, für kongenitale Fehlbildungen aus 25 Fällen und 96 Kontrollen. Auf hohe und häufige Toluolexposition entfielen davon 28 Fälle gegenüber 29 Kontrollen.

Eine Fall-Kontroll-Studie (LINDBOHM et al., 1990) ergab für beruflich gegenüber Toluol exponierten Frauen ein erhöhtes, jedoch nicht statistisch signifikantes, Spontanabortrisiko mit OR = 1,6 (95%CI: 0,7-3,8; p=0,25); 15 Fälle/20 Kontrollen. Die Untersuchung der Assoziation im Hinblick auf berufliche Tätigkeiten ergab für in der Schuhfabrikation toluolexponierte Frauen ein statistisch signifikant erhöhtes Risiko mit OR = 9,3 (95%CI: 1,0-84,7; p=0,05); 5 Fälle/2 Kontrollen. Die durchschnittliche Konzentration von Toluol im Blut war bei den Exponierten in der Schuhindustrie höher (0,51 µmol/l (0,05 mg/l), 13 morgendliche Probenahmen) als bei den anderen toluolexponierten Arbeiterinnen (0,38 µmol/l (0,03 mg/l), 10 morgendliche Probenahmen). Die Odds Ratios waren adjustiert nach vorausgegangenem Aborten, Parität, Rauchgewohnheiten und Alkoholgenuss. Fieberhafte Erkrankungen und schweres Heben konnten ausgeschlossen werden.

Insgesamt war die statistische Power für die separat betrachteten Lösungsmittel wegen des geringen Umfanges der Studienpopulation und der niedrigen Expositionsprävalenz gering. Bei 2 von 3 Schuhfabriken, bei denen arbeitshygienische Messungen vorlagen, traten relativ hohe Konzentrationen an Hexan auf (33-56 ppm), so dass für die in der Schuhindustrie toluolexponierten Frauen Mischexposition unterstellt werden muss.

Die Studienpopulation rekrutierte sich aus Frauen, deren Lösungsmittlexposition im Zeitraum von 1965 bis 1983 mittels biologischem Monitoring überwacht worden war, in Verbindung mit Geburten-, Fehlbildungs- und Krankenhausregister der Jahre 1973 bis 1982(3). Frauen mit einem Spontanabort galten als Fälle. Jedem Fall wurden 3 Kontrollen zugeordnet, gemacht nach Alter zum Konzeptionszeitpunkt (+/- 2,5 Jahre). Die endgültige Studienpopulation bestand aus 73 Fällen und 167 Kontrollen. Mittels postalischem Fragebogen waren Angaben zu Beschäftigung, Beruf, Arbeitsplatz und beruflicher Exposition während des 1. Trimesters eingeholt worden. Der Bogen enthielt gezielte Fragen zu Tätigkeiten im Zusammenhang mit Lösungsmittelgebrauch bzw. zum Umgang mit Lösungsmitteln. Außerdem wurden Berufs- und Reproduktionsanamnese erhoben und Informationen zu Erkrankungen sowie Rauchgewohnheiten, Alkoholgenuss und schwerem Heben während des 1. Trimesters erhoben.

Auf der Basis der Eigenauskunft sowie verfügbarer Daten des Biomonitoring wurde von 2 Experten eine Klassifizierung der Frauen nach wahrscheinlichen Expositionen vorgenommen, zunächst in nicht, potentiell und exponiert, später ging die potentiell exponierte Gruppe in die nicht exponierte ein. Die quantitative Expositionsabschätzung erfolgte auf der Basis der Häufigkeit des Umganges mit den Lösungsmitteln und Informationen über typische Expositionshöhen bei den jeweiligen Tätigkeiten:

hoch: täglicher Umgang oder 1-4 Tage/Woche bei hoher (gemessener) Exposition

gering: Umgang 1-4 Tage/Woche bei geringer (gemessener) Exposition
Umgang seltener als einmal pro Woche

keine.

NG et al. (1992) verglichen die Spontanabortraten von 55 Frauen mit hoher beruflicher Toluolexposition (50-150 ppm, mittel 88 ppm) und 105 Schwangerschaften aus einer Kohorte von 309 Frauen einer Lautsprecherfabrik mit 31 niedrig bzw. nicht exponierten Frauen (0-25 ppm) mit 68 Schwangerschaften aus anderen Abteilungen dieses Betriebes sowie einer externen Kontrollgruppe von 190 Frauen mit 444 Schwangerschaften, die sich im Rahmen des öffentlichen Gesundheitsdienstes prä- oder postnatalen Routineuntersuchungen unterzogen. Mittels strukturiertem Fragebogen wurden in persönlichen Interviews Angaben zu beruflicher Exposition und Anamnese, anderen früheren Expositionen gegenüber Lösungsmitteln oder gefährlichen Chemikalien, Schichtarbeit, Häufigkeit schweren Hebens oder Tragens, Rauchgewohnheiten und Alkoholkonsum sowie medizinischer und reproduktiver Vorgeschichte erhoben. Die Abortrate betrug in der hochexponierten Gruppe 12,4% und war damit signifikant höher als in der niedrig exponierten, internen (2,9%) und externen Kontrollgruppe (4,5%). Die nach Alter und Schwangerschaft adjustierten Odds Ratios für Spontanaborte betragen bei hoher Exposition verglichen mit geringer Exposition 4,80 (95% CI: 1,01-22,86) und 2,79 (95% CI: 1,32-5,88) im Vergleich zur externen Kontrolle. Fast alle Frauen waren Nichtraucher und tranken keinen Alkohol.

Ferner wurden bei denselben Frauen des Betriebes die Spontanabortraten hinsichtlich der Toluolexposition durch eine Unterteilung in exponierte und nicht exponierte Schwangerschaften untersucht gemäß Schwangerschaftszeitraum vor bzw. nach dem Beschäftigungseintritt in den Betrieb. Die Raten für die Hochexponierten betragen vor Beginn der Tätigkeit 6,2% verglichen mit 15,1% danach, bei den niedrig Exponierten 0% vorher und 6,7% danach, insgesamt 2,9% verglichen mit 12,6% nach Beschäftigungsbeginn.

Die statistische Power dieser Studie war infolge des geringen Probenumfangs und kleiner Fallzahlen begrenzt. Die gewählte statistische Auswertung ist nicht geeignet, da sie die verschiedenen Schwangerschaften derselben Frauen als Analyseneinheit verwendete, die einzelnen Schwangerschaften jedoch nicht als statistisch unabhängig angesehen werden können.

Während die üblichen Risikofaktoren, wie Alter, Parität, Rauchen und Alkoholkonsum in die Analyse einbezogen waren, war es den Autoren nicht möglich, den Einfluss vorausgegangener Aborte, der Auswirkung auf die Spontanabortrate der hoch exponierten Gruppe hätte haben können, zu berücksichtigen. Auch konnten bei den Beschäftigten des Betriebes, im Gegensatz zu der externen Kontrollgruppe, die Angaben zu den Schwangerschaften nicht durch medizinische Berichte validiert werden. Die Ursachen für die vergleichsweise geringen Spontanabortraten in den Kontrollgruppen im Vergleich zur allgemeinen Bevölkerung mit 5-10% bei retrospektiver Fragebogenerhebung wurde auf mögliche Recall Bias und Underreporting zurückgeführt, da den Beschäftigten das Ziel der Studie nicht bekannt war. Außerdem wurden frühe Aborte und zweifelhafte Schwangerschaften nicht einbezogen. Berücksichtigt wurden Spontanaborte von der 13. bis 28. Schwangerschaftswoche.

In einer retrospektiven Fall-Kontroll-Studie untersuchten TASKINEN et al. (1994) das Spontanabortrisiko sowie das Risiko kongenitaler Fehlbildungen bei Kindern von Frauen die im ersten Trimester der Schwangerschaft in Laboratorien arbeiteten. In die Spontanabortstudie wurden 206 Fälle und 329 Kontrollen, in die Fehlbildungsstudie 36 Fälle und 105 Kontrollen einbezogen. Die Kontrollen wurden individuell nach Alter, Zeit der Konzeption und Jahr des Schwangerschaftsendes gemacht. Während das Odds Ratio für Spontanaborte bei den erwerbstätigen Frauen insgesamt mit $OR=0,9$ (95%CI: 0,5-1,7) nicht erhöht war, wurde bei Frauen, die in Laboratorien arbeiteten, eine leichte, jedoch statistisch nicht signifikante Erhöhung gefunden $OR = 1,4$ (95% CI: 0,9-2,2). In der Analysen wurden Beschäftigungsstatus, Alkoholkonsum, Parität, vorausgegangene Fehlgeburten, fieberhafte Erkrankungen während der Schwangerschaft und Gebrauch von Kontrazeptiva zu Beginn der Schwangerschaft berücksichtigt. Frauen, die während des 1. Trimesters für mindestens 3 Tage/Woche gegenüber Toluol exponiert waren, hatten ein erhöhtes Spontanabortrisiko mit $OR = 4,7$ (95% CI: 1,4-15,9) bei 10 Fällen und 6 Kontrollen. Es wurden keine Assoziationen zu Fehlbildungen gefunden.

Das Studienergebnis weist auf eine positive Assoziation von Toluolexposition (mindestens 3 Tage /Woche) und ein erhöhtes Risiko für Spontanaborte bei Laborassistenten/Laboranten hin. Das Ergebnis muss jedoch vorsichtig interpretiert werden, da in mehreren Laboratorien auch weitere Chemikalien verwendet wurden und eine Mischexposition zu unterstellen ist, so sind z. B. auch häufige Expositionen gegenüber aromatischen Lösungsmittel als Gruppe in dieser Studie mit einem erhöhten Risiko für Spontanaborte verbunden $OR = 2,7$ (95% CI: 1,3-5,6) bei 24 Fällen und 20 Kontrollen. Möglicherweise ist bei der Betrachtung der separaten Lösungsmittel auf Grund der einzelnen Korrelationen bei der statistischen Analyse eine zufällig auf Toluol entfallende Wirkung nicht auszuschließen.

Die Studienpopulation wurde unter Verwendung der Gehaltslisten von Personal aus staatlichen Laboratorien sowie dem Register der "Finnischen Union von Laborassistenten" sowie dem Register der Arbeitnehmer, die gegenüber Kanzerogenen exponiert sind, zusammengestellt. Es ergab sich eine Studienbasis von 9186 Frauen. Im Zusammenhang mit den Krankenhausregistern wurden für den Zeitraum 1973 bis 1986 7316 Schwangerschaften mit 5663 Geburten, 687 Spontanaborten und 966 induzierten Aborten ermittelt. Als Fälle wurden Frauen definiert, die wegen eines Spontanabortes behandelt worden waren. Ausgewählt

wurden nur Frauen, die während des Studienzeitraumes nur einen Spontanabort aufwiesen. Jedem Fall wurden zwei nach Alter (+/- 2 Jahre) Konzeptionszeitpunkt und Jahr der Geburt des Kindes gematchte Kontrollen zugeordnet. Insgesamt wurde nur eine Schwangerschaft pro Frau ausgewählt, und das Alter wurde auf den Bereich 20-34 Jahre eingegrenzt. Bei Fehlbildungen entfielen auf jeden Fall 4 Kontrollen. Angaben zu beruflicher Exposition, zum Gesundheitsstatus, zu Medikamenteneinnahme, Kontrazeptionsverhalten, Rauchen und Alkoholkonsum während des 1. Trimesters sowie reproduktiver Anamnese, Geburtsverlauf, -gewicht und Geschlecht des Kindes wurden mittels postalischem Fragebogen erhoben. Eine Validierung erfolgte über Krankenhausregister bzw. Datenbasen über Spontanaborte.

Die endgültige Studienpopulation bestand aus 206 Fällen und 329 Kontrollen für Spontanaborte und 36 Fällen und 105 Kontrollen für Fehlbildungen.

Die Expositionsabschätzung erfolgte auf der Basis der angegebenen Häufigkeit des Chemikaliengebrauchs:

selten: 1-2 Tage/Woche

häufig: mindestens 3 Tage/Woche.

Fazit:

Einige Studien enthalten Hinweise auf eine Assoziation zwischen mütterlicher/väterlicher Exposition gegenüber Toluol und Entwicklungsstörungen der Nachkommenschaft. Die Interpretation der Daten wird u.a. dadurch erschwert, dass Mischexpositionen vorgelegen haben. McDONALD et al. (1987) beobachteten vermehrt Nieren- und Harnwegsanomalien. TASKINEN et al. (1989) fanden ein erhöhtes aber nicht signifikantes OR von 1,5 für Spontanaborte und Fehlbildungen bei väterlicher Toluolexposition insgesamt und ein signifikant erhöhtes OR von 2,3 für Spontanaborte bei häufiger und hoher Exposition. LINDBOHM et al. (1990) berechneten ein erhöhtes, jedoch nicht statistisch signifikantes Spontanabortrisiko mit einer Odds Ratio von 1,6 für beruflich gegenüber Toluol exponierte Frauen. Die Untersuchung der Assoziation im Hinblick auf berufliche Tätigkeit ergab für in der Schuhfabrikation toluolexponierte Frauen ein statistisch signifikant erhöhtes Risiko mit OR = 9,3, jedoch bei Mischexposition mit Hexan. TASKINEN et al. (1994) fanden bei Frauen, die während des ersten Trimesters für mindestens 3 Tage/Woche im Labor gegenüber Toluol exponiert waren, ein statistisch signifikantes erhöhtes Spontanabortrisiko mit OR = 4,7. Bei TASKINEN et al. (1989,1994) ist in der statistischen Analyse, auf Grund der einzelnen Korrelationen aller untersuchten Lösungsmittel, eine zufällig auf Toluol entfallende Wirkung nicht auszuschließen.

Die epidemiologischen Daten lassen eine Einstufung als entwicklungsschädigend Kategorie 1 nicht zu (R_E: -).

Literatur:

- [1] Arnold GL, Kirby RS, Langendoerfer S, Wilkins-Haug L: Toluene embryopathy: Clinical delineation and developmental follow-up. *Pediatrics* 93 (1994) 216-220
- [2] Berka I, Jelinek E: Menstruationsstörungen bei Frauen, die in einer Atmosphäre mit niedrigkonzentrierten Lösemitteldämpfen arbeiten. *Zentralblatt für Arbeitsmedizin und Arbeitsschutz* 13 (1963) 139-140
- [3] Hersh JH, Podruch PE et al.: Toluene embryopathy. *Journal of Pediatrics* 106 (1985) 6,922-927
- [4] Hoyme HE, Seaver LH, Pearson MA Rimeza ME: *Reproductive toxicology* 3 (1993) 158-159
- [5] Pearson MA, Hoyme HE, Seaver LH, Rimeza ME: Toluene embryopathy: Delineation of the phenotype and comparison with fetal alcohol syndrome. *Pediatrics* 93 (1994) 211-215
- [6] Liira J; Wägar G, Antti-Poika M: Endocrine function in men occupationally exposed to toluene. P312 in Enstance IE (Ed.), XXI International Congress on Occupational Health. ETA Publikations Ltd., Dublin, 1984
- [7] Lindbohm ML, Taskinen H, Sallmen M, Hemminki K: Spontaneous Abortions Among Women Exposed to Organic Solvents. *American Journal of Industrial Medicine* 17 (1990) 449-463
- [8] Luderer U, Morgan MS, Brodtkin C et al.: Reproductive endocrine effects of acute exposure to toluene in men and women. *Occup Environ Med* 56 (1999) 657-666
- [9] Matsushita T, Arimatsu Y, Ueda A, Satoh K, Nomura S: Hematological and neuro-muscular response of workers exposed to low concentration of toluene vapor. *Ind Health* 13 (1975) 115-121
- [10] McDonald JC, Lavoie J et al.: Chemical exposures at work in early pregnancy and congenital defect: a case-referent study. *Brit. J. Ind. Med.* 44 (1987) 527-533
- [11] Mørck HI, Winkel P, Gyntelberg F: Health effects of toluene exposure. *Dan Med. Bull* 35 (1988) 196-200
- [12] Mørck HI, Winkel P, Gyntelberg F: *Helbredseffekter af toluen-udsættelse*. Arbejds miljøfondet, Copenhagen 1985
- [13] Ng TP; Foo SC, Yoong T: Menstrual function in workers exposed to toluene. *British Journal of Industrial Medicine* (1992); 49: 799-803
- [14] Ng TP, Foo SC, Yoong T: Risk of spontaneous abortion in workers exposed to toluene. *British Journal of Industrial Medicine* 1992; 49: 804-808
- [15] Nieschlag E: Hodenfunktion. In: Thomas L (Hrsg.): *Labor und Diagnose. Indikation und Bewertung von Laborbefunden für die medizinische Diagnostik*. TH-Books Verlagsgesellschaft mbH, Frankfurt/Main, 1998
- [16] Nieschlag E, Lammers U et al.: Reproductive functions in young fathers and grandfathers. *J Clin Endocrinol Metab* 55 (1982) 676-681

- [17] Ochsendorf F, Beschmann HA: Männliche Infertilität. Klinik, Diagnostik, Therapie. Berlin; Heidelberg; New York; Springer, 1996
- [18] Plenge-Bönig A, Karmaus W: Exposure to toluene in the printing industry is associated with subfecundity in women but not in men. *Occup. Environ. Med.* 56 (1999) 443-448
- [19] Streicher HZ, Gabow PA, Moss AH, Kono D, Kaehny WD: Syndromes of toluene sniffing in adults. *Ann Intern Med* 94 (1981) 758-762
- [20] Sallmen M, Lindbohm ML, Anttila A, Kyyrönen P, Nykyri E et al.: Reduced Fertility Among Women Exposed to Organic Solvents. *Am J Ind Med* 27 (1995) 699-713
- [21] Sallmen M, Lindbohm ML, Anttila A, Kyyrönen P, Taskinen H, Nykyri E, Hemminki K: Time to pregnancy among the wives of men exposed to organic solvents. *Occup Environ Med* 55 (1998) 24-30
- [22] Svensson BG, Nise G, Erfurth EM, Nilsson A, Skerfving S: Hormone Status in Occupational Toluene Exposure. *American Journal of Industrial Medicine* 22:99-107 (1992 a)
- [23] Svensson BG, Nise G, Erfurth EM, Olsson H: Neuroendocrine effects in printing workers exposed to toluene. *British Journal of Industrial Medicine* 49 (1992 b) 402-408
- [24] Syrovadko ON: Working conditions and health status of women handling organosiliceous varnishes containing toluene. *Gig Tr Prof Zabol* 12 (1977) 15-19 In: Jelnes JE: Occupational exposure limits. Criteria Document for toluene. Commission of the European Communities, 1992
- [25] Taskinen H, Antilla A, Lindbohm ML et al.: Spontaneous abortion and congenital malformations among the wives of men occupationally exposed to organic solvents. *Scand J Work Environ Health* 1989; 15: 345-352
- [26] Taskinen H, Kyyrönen P, Hemminki K et al.: Laboratory Work and Pregnancy Outcome. *JOM* 36 (1994) 3, 311-319
- [27] Toutant C, Lippmann S: Fetal solvents syndrome. *Lancet* 2(1979) 1356
- [28] von Werder K: Prolactin. In: Thomas, L: Labor und Diagnose. Indikation und Bewertung von Laboratoriumsbefunden für die medizinische Diagnostik. TH-Books Verlagsgesellschaft mbH, Frankfurt/Main, 1998.

Embryotoxizität:

Toluol wurde vom früheren "AK Toxikologie" des AGS als nicht fruchtschädigend bewertet (Stand 6/92). Die seit 1992 erschienenen tierexperimentellen Studien sind nachfolgend und in Tabelle 5 aufgeführt.

Teratogenitätsstudien, Ratte, inhalativ:

In Teratogenitätsstudien mit Ratten traten nach inhalativer Exposition bei den Feten im wesentlichen verminderte Körpergewichte und in einigen Studien Ossifikationsstörungen auf. Letztere wurden auch bei den Kontrolltieren gefunden (HRC 1992) bzw. wurden in Studien berichtet, welche nur als Abstract vorliegen (Roberts et al. 1993, Hartmann et al. 1994). In der Studie des Huntingdon Research Center (1992) waren die Körpergewichte der Feten noch bei Konzentrationen (1500 ppm) vermindert (um 8 %) die nur minimal toxisch für die Muttertiere waren. Der NOEL betrug für Feten und Muttertiere 750 ppm, welcher auch von Roberts et al. (1993) als NOEL für die Feten angegeben wurde. Im Gegensatz dazu berichten Ono et al. (1995) noch über Körpergewichtsverminderungen bei männlichen Feten (um 5 %) bei 600 ppm. Maternale Toxizität trat bei dieser Konzentration nicht auf. Von Hartmann et al. (1994, abstract) werden verminderte Körpergewichte der Feten noch bei der niedrigsten geprüften Konzentration von 300 ppm gefunden (um 7 %). Allerdings liegt die Arbeit nur als Abstract vor mit fehlenden Angaben zur maternalen Toxizität. Bei 1200 ppm und 1400 ppm wird über eine erhöhte Anzahl an Resorptionen berichtet (12,4 % und 9,5 %, Kontrolle 4,2 %). Diese traten jedoch in anderen Studien, bei denen höhere Konzentrationen eingesetzt wurden, nicht auf.

Teratogenitätsstudien, Ratte, oral:

Nach oraler Exposition führte die einzige geprüfte Dosis von 520 mg/kgKG/Tag (entspricht etwa 500 ppm) zu Körpergewichtsverminderungen bei den Feten (um 9 %) und zu einer verminderten Körpergewichtszunahme bei den Muttertieren während der Exposition (um 24 % im Vergleich zu den Kontrollen).

Postnatale Studien, Ratte, inhalativ, Exposition während Trächtigkeit:

Peri- und postnatale Schädigungen, sowie die Beeinträchtigung der postnatalen geistigen und physischen Entwicklung der Nachkommen von Ratten, die während der Trächtigkeit inhalativ gegenüber Toluol exponiert wurden, wurden von Ono et al. (1995), Thiel und Chahoud (1997) sowie Hougaard et al. (1999) untersucht.

Bei den Nachkommen wurden verminderte Geburtsgewichte gefunden, welche noch in den ersten Lebenstagen bzw. -wochen persistierten. Die niedrigste geprüfte Konzentration die noch zu einem verminderten Körpergewicht der Nachkommen (um 8 % an PND1) führte, betrug 1000 ppm (Thiel und Chahoud 1997). Das

Körpergewicht der Muttertiere war bei dieser Konzentration ebenfalls vermindert (um 6 %). Die physische Entwicklung der Neugeborenen, Reflexentwicklung und motorische Aktivität während der Säugeperiode sowie das Lernverhalten nach der Säugeperiode waren bei Konzentrationen bis zu 1200 ppm nicht beeinträchtigt (Thiel und Chahoud 1997).

Von Hougaard et al. (1999) wurden bei 1800 ppm neben verminderten Körpergewichten über eine Beeinträchtigung des Lernverhaltens der Nachkommen im "Morris water maze-Test" im Alter von 2-3 Monaten berichtet (siehe auch Tabelle 7). Die physische Entwicklung und die Reflexentwicklung während der Säugeperiode waren im Vergleich zur Kontrolle verzögert, wobei die Effekte bis auf den "surface righting reflex" nicht signifikant waren. Die Körpergewichtszunahme der Muttertiere während der Exposition war bei dieser Konzentration ebenfalls vermindert (um 19% im Vergleich zu den Kontrolltieren).

Im Gegensatz zur o. g. Studie wurden von Ono et al. (1995) keine Beeinträchtigungen der physischen Entwicklung und der Reflexentwicklung der Nachkommen während der Säugeperiode (incl. "surface righting reflex") bei Konzentrationen bis zu 2000 ppm gefunden. Die nach der Säugeperiode durchgeführten verhaltenstoxikologischen Tests wiesen ebenfalls keine Auffälligkeiten auf. Zu letzteren gehörte jedoch nicht der in der Studie von Hougaard (1999) eingesetzte "Morris water maze-Test", sondern das Lernverhalten wurde im "Biel water maze-Test" im Alter von 6 Wochen untersucht.

Postnatale Studien, Ratte, inhalativ, Exposition in utero und postnatal:

Bei Ratten, die in utero und postnatal bis zum 18. Lebensstag inhalativ gegenüber 1200 ppm exponiert wurden, waren, wie in den vorher genannten Studien bereits gezeigt, die Körpergewichte in den ersten Lebensstagen vermindert (Geburtsgewicht um 13 %; bis PND10 um 10 %), die Reflexentwicklung während der Säugeperiode bei einigen Reflexen bei vereinzelt Tieren verzögert, das Lernverhalten bei weiblichen Tieren im "Morris water maze-Test" im Alter von etwa 3 Monaten beeinträchtigt (siehe auch Tabelle 7) sowie die motorische Aktivität erhöht und das Hörvermögen beeinträchtigt (Hass et al. 1999). Die Körpergewichtszunahme der Muttertiere vom 4.-20. Trächtigkeitstag war im Vergleich zu den Kontrollen nur unwesentlich vermindert (um 5 %; 71 g, Kontrolle 75 g).

Postnatale Studien, Maus, inhalativ, Exposition während Trächtigkeit:

Mit Mäusen liegt nur eine Inhalationsstudie mit ungewöhnlichem Expositionsmuster (3x60 Minuten pro Tag, 12.-17. Trächtigkeitstag) vor (Jones und Balster, 1997). Die Nachkommen wiesen bei der höchsten geprüften Konzentration von 2000 ppm verminderte Geburtsgewichte (um 18 %), verminderte Körpergewichte bis zum 6. Lebensstag (um ca. 15 %), verzögerte Reflexentwicklung sowie verminderte Griffstärke und Koordinierung zu verschiedenen Zeitpunkten während der Säugeperiode auf. Nach der Säugeperiode wurden keine verhaltenstoxikologischen Tests durchgeführt. Die Körpergewichtsentwicklung der Muttertiere während der

Exposition war bei dieser Konzentration und den darunterliegenden vermindert (bei 2000 ppm um 18 % gegenüber der Kontrollgruppe). Bei 400 ppm traten keine Effekte bei den Nachkommen auf.

Tabelle 5: Tierexperimentelle Studien zur Embryotoxizität (ab 1992)

Spezies	Exposition/Art der Studie	Konzentration	Effekte	Quelle
Ratte (CD) 25 Tiere/Gruppe	Inhalation 6.-15. g.d. 6 Std./Tag 0, 250, 750, 1500, 3000 ppm Teratogenität	3000 ppm	<u>Feten:</u> <ul style="list-style-type: none"> • vermindertes KG (um 13 %), • Ossifikationsstörungen des Brustbeins: nicht ossifiziert: 60 % der Feten, Kontrolle 37 % verminderte Ossifikation: 45 % der Feten, Kontrolle 29 % <u>maternal:</u> <ul style="list-style-type: none"> • vermindertes KG (um max. 12 % an g.d. 16) • verminderte KG-Zunahme (z. B. 1 g an g.d. 12, Kontrolle 29.5 g relativ zu g.d. 6) • Bewegungsstörungen, Tremor, Speichelfluss, Tränenfluss 	HRC 1992
		1500 ppm	<u>Feten:</u> <ul style="list-style-type: none"> • vermindertes KG (um 8 %) • Ossifikationsstörungen des Brustbeins: nicht ossifiziert: 53 % der Feten, Kontrolle 37 % verminderte Ossifikation: 44 % der Feten, Kontrolle 29 % <u>maternal:</u> <ul style="list-style-type: none"> • leicht vermindertes KG (um max. 1 % an g.d. 16, g.d. 20 o.B.) • verminderte KG-Zunahme (z. B. 24 g an g.d. 12, Kontrolle 29.5 g relativ zu g.d. 6) • Bewegungsstörungen 	
		750 ppm	NOEL (Feten und Muttertiere)	

Spezies	Exposition/Art der Studie	Konzentration	Effekte	Quelle
Ratte (Sprague Dawley) Teratogenität: 13 Tiere/Gruppe postnatal: 7 Tiere/Gruppe	Inhalation 7.-17.g.d. 6 Std./Tag 0, 600, 2000 ppm Teratogenität und postnatal	2000 ppm	<u>Feten:</u> <ul style="list-style-type: none"> • Letalität (leicht erhöhte Anzahl an Muttertieren (n=4; Kontrolle 0) mit fetaler Todesrate > 10 %) • vermindertes KG (w und m: um 5 %) <u>Jungtiere:</u> <ul style="list-style-type: none"> • vermindertes Geburtsgewicht (um 12 %, sign.) • vermindertes KG von Lebenswoche 0-6 (max. ca. 5 %), abgeschätzt aus Abbildung) • verhaltenstoxikologische Tests o.B. (Surface righting, negative Geotaxis, open field exploration, Biel water maze, Rotarod-test) <u>maternal:</u> <ul style="list-style-type: none"> • vermindertes KG während Exposition (um ca. 5 %, abgeschätzt aus Abbildung) • Klinische Chemie, Hämatologie, Organgewichte, Makroskopie o.B. 	Ono et al. 1995
		600 ppm	<u>Feten:</u> <ul style="list-style-type: none"> • Letalität (leicht erhöhte Anzahl an Muttertieren (n=5, Kontrolle 0) mit fetaler Todesrate > 10 %) • vermindertes KG (Männchen: um 5 %, Weibchen: -) <u>Jungtiere:</u> o. B. <u>maternal:</u> o. B.	
Ratte (Wistar) 23-29 Tiere/Expositions- gruppe 38 Tiere in Kontrolle	Inhalation 9.-21. g.d. 6 Std./Tag 0,300, 600, 1000, 1200 ppm postnatal (untersucht bis PND 81)	1200 ppm	<u>Jungtiere:</u> <ul style="list-style-type: none"> • vermindertes KG (PND1: um 8 %, PND7: um 10 %) • erhöhte Mortalität von PND 2-21 (7%, Kontrolle 3%), an PND1 Mortalität o.B. • verzögerte Vaginaöffnung bis PND 50 • Entwicklung, Reflexe, motorische Aktivität, Lernverhalten und Gedächtnis ("Discrimination learning") o. B. • Fertilität F₁: o. B. <u>maternal:</u> <ul style="list-style-type: none"> • vermindertes KG (um 8 % an g.d. 21) • verminderte KG-Zunahme 	Thiel und Chahoud 1997

Spezies	Exposition/Art der Studie	Konzentration	Effekte	Quelle
		1000 ppm	<u>Jungtiere:</u> <ul style="list-style-type: none"> • vermindertes KG (PND1: um 8 %) • verzögerte Vaginaöffnung bis PND 50 <u>maternal:</u> <ul style="list-style-type: none"> • vermindertes KG (um 6 % an g.d. 21) • verminderte KG-zunahme 	
		600 ppm	<u>Jungtiere:</u> o. B. <u>maternal:</u> vermindertes KG (um 3 %, nicht sign.)	
Ratte (Stamm n.a.) Anzahl Muttertiere n.a. (Anzahl untersuchter Feten bei Kontrolle deutlich niedriger (45 vs. 127-194 in exponierten Gruppen))	Inhalation 9. – 20. g. d. 0, 300, 900, 1200, 1400 ppm Teratogenität	1400 ppm	<u>Feten</u> <ul style="list-style-type: none"> • leicht erhöhte Anzahl Resorptionen (9,4 %, Kontrolle 4,2 %) • vermindertes KG (um 7 %) • verzögerte Ossifikation der Vorderextremitäten (8 % der Feten, Kontrolle 0 %) • verzögerte Ossifikation der Hinterextremitäten (8 % der Feten, Kontrolle 0 %) • zusätzliche Lumbalrippe (29 % der Feten, Kontrolle 9 %) <u>maternal:</u> n.a.	Hartmann et al. 1994 (abstract)
		1200 ppm	<u>Feten</u> <ul style="list-style-type: none"> • leicht erhöhte Anzahl Resorptionen (12,4 %) • vermindertes KG (um 11 %) • verzögerte Ossifikation der Vorderextremitäten (4 % der Feten, Kontrolle 0 %) • verzögerte Ossifikation der Hinterextremitäten (2 % der Feten, Kontrolle 0 %) • zusätzliche Lumbalrippe (37 %, Kontrolle 9 %) <u>maternal:</u> n.a.	
		900 ppm	<u>Feten</u> <ul style="list-style-type: none"> • vermindertes KG (um 9 %) • verzögerte Ossifikation der Vorderextremitäten (5 %, Kontrolle 0 %) • zusätzliche Lumbalrippe (13 %, Kontrolle 9 %) <u>maternal:</u> n.a.	

Spezies	Exposition/Art der Studie	Konzentration	Effekte	Quelle
		300 ppm	<u>Feten</u> <ul style="list-style-type: none"> vermindertes KG (um 7 %) <u>maternal:</u> n.a.	
Ratte (Wistar) 16 Tiere/Gruppe	Inhalation 7.-20. g.d. 6 Std./Tag 0,1800 ppm postnatal	1800 ppm	<u>Jungtiere:</u> <ul style="list-style-type: none"> vermindertes Geburtsgewicht (um 17 %, sign.) vermindertes KG von PND1-PND10: um 14-20 %, sign. verzögerte physische Entwicklung und Reflexentwicklung während Säugeperiode (nicht sign., ausser Aufrichtungsreflex ("surface righting reflex") der sign. vermindert war) motorische Funktion (Rotarod Test) o. B. motorische Aktivität im "open-field-test" o. B. Reaktivität auf akustische Reize o. B. vermindertes Lernverhalten im Alter von 2-3 Monaten insbesondere bei Weibchen im Morris water-maze-test (Wiederfindung der neue Plattform Positionen I ("Reversal learning") und II ("New learning") war beeinträchtigt: <u>Reversal learning:</u> Latenzzeit 27,9 ± 8,9 sec., Kontrolle 20,6 ± 3,7 sec. (Erhöhung um 35 %), Wegstrecke 519 ± 116 cm, Kontrolle 336 ± 86 cm (Erhöhung um 54 %) <u>New learning:</u> Latenzzeit 20,3 sec. ± 6,4 sec., Kontrolle 15,6 ± 5.0 sec. (Erhöhung um 30 %), Wegstrecke 369 ± 152 cm, Kontrolle 257 ± 183 cm (Erhöhung um 44 %); Wiederfinden der ursprünglichen Position während Lernphase in PW6 war nur bei einigen Versuchen beeinträchtigt bei Weibchen (vereinzelt erhöhte Latenzzeit); bei Männchen sign. erhöhte Wegstrecke und Schwimmgeschwindigkeit nur in Gedächtnisphase in PW10 leicht erhöhter Hörverlust bei Männchen (sign. bei 8 KHz) <u>maternal:</u> <ul style="list-style-type: none"> verminderte Körpergewichtszunahme während Exposition (um 19 %, nicht sign. 50 g, Kontrolle 62 g) 	Hougaard et al. 1999
Ratte (Sprague-Dawley) 11 Tiere/Gruppe	Schlundsonde 6.-19. g.d. 0, 520 mg/kg/KG/Tag (= 473ppm)	520 mg/kg/KG/Tag	<u>Feten:</u> <ul style="list-style-type: none"> vermindertes KG (um 9 %) vermindertes absolutes Lebergewicht (um 13 %) und Nierengewicht (um 13 %); relative Leber- und Nierengewichte o. B. <u>maternal:</u>	Gospe et al. 1994

Spezies	Exposition/Art der Studie	Konzentration	Effekte	Quelle
	Teratogenität		<ul style="list-style-type: none"> verminderte KG-Zunahme (um 24 % von g.d. 6-19; 70 g, Kontrolle 93 g) 	
Maus (CD-1) 13 Tiere/Gruppe	Inhalation 3x60 Min./Tag 12.-17 g.d. 0,200, 400, 2000 ppm postnatal	2000 ppm	<u>Jungtiere:</u> <ul style="list-style-type: none"> vermindertes Geburtsgewicht (um 18 %, sign.) verminderte Körpergewichtszunahme von PND 2-7 (um ca. 15 %, abgeschätzt aus Abbildung, sign.) verzögerter Aufrichtereflex (sign. an PND1 und PND5-6, an anderen Tagen bis PND 8 war Verzögerung nicht sign. bzw. von PDN 9-12 o.B.) verminderte Griffstärke vorderer Extremitäten (sign. an PNDs 5-7 und 9-11, an PDN 8 und PNDs 12-14 war Verminderung nicht sign., bzw. an PNDs 3,4 und 15 o.B.) verminderte Koordinierung ("inverted screen test"; sign. an PNDs 14-17, an PNDs 18-20 war Verminderung nicht sign., bzw. an PND 13 o.B.) <u>maternal:</u> <ul style="list-style-type: none"> Körpergewichtszunahme von g.d. 12-17 vermindert (um 18 %, nicht sign.; 11 g, Kontrolle 14 g), Futterraufnahme von g.d. 12-17 vermindert (um 7 %, nicht sign.) 	Jones und Balster 1997
		400 ppm	<u>Jungtiere:</u> o. B. <u>maternal:</u> <ul style="list-style-type: none"> verminderte Körpergewichtszunahme von g.d. 12-17 (um 15 %, nicht sign.) verminderte Futterraufnahme von g.d. 12-17 (um 5 %, nicht sign.) 	
		200 ppm	<u>Jungtiere:</u> o. B. <u>maternal:</u> <ul style="list-style-type: none"> verminderte Körpergewichtszunahme von g.d. 12.-17 (um 14 %, nicht sign.) verminderte Futterraufnahme von g.d. 12-17 (um 3 %, nicht sign.) 	
Ratte (Wistar) 18 exponierte Tiere, 14 Kontrolltiere	Inhalation 7. g.d.-PND 18 6 Std./Tag 0,1200 ppm Muttertiere und Nachkommen in postnataler Periode exponiert	1200 ppm	<u>Jungtiere:</u> <ul style="list-style-type: none"> vermindertes Geburtsgewicht (um 13 %, sign.) verminderte Körpergewichtsentwicklung in Säugeperiode (sign. bis PND10, um max. 10% an PND10, abgeschätzt aus Abbildung) Physische Entwicklung während Säugeperiode o. B. verzögerte Reflexentwicklung während Säugeperiode an vereinzelt Tagen bei einigen Reflexen Motorische Funktion (Rotarod-Test) o. B. erhöhte motorische Aktivität im "open field fest" vermindertes Lernverhalten im Alter von 3.5 Monaten bei Weibchen (bei Männchen keine Effekte) im Morris water maze-Test (Wiederfindung der neuen Plattform 	Hass et al. 1999

Spezies	Exposition/Art der Studie	Konzentration	Effekte	Quelle
			<p>Position II ("New learning") war beeinträchtigt: mittlere Latenzzeit ca. 32 ± 13 sec., Kontrolle $24,5 \pm 9,5$ sec. (abgeschätzt aus Abb.), d.h. Erhöhung um 30 % mittlere Wegstrecke ca. 695 ± 350 cm, Kontrolle 513 ± 217 cm (abgeschätzt aus Abb.), d.h. Erhöhung um 35 %;</p> <p>Wiederfinden der ursprünglichen Position in PW 9 und PW 13 sowie der neuen Position I in PW14 ("Reversal learning") war o.B.</p> <ul style="list-style-type: none"> leicht erhöhter Hörverlust bei Männchen (sign. bei 16 KHz) <p><u>maternal:</u></p> <ul style="list-style-type: none"> Körpergewichtsentwicklung und klinische Symptomatik o. B. 	
Ratte (Sprague Dawley) 20 Tiere/Gruppe	Inhalation g.d. 6-15 6 Std./Tag 0, 250, 750, 1500, 3000 ppm Teratogenität	3000 ppm	<p><u>Feten:</u></p> <ul style="list-style-type: none"> vermindertes KG (k.w.A., dosisabhängig) verminderte Ossifikation des Brustbeins (dosisabhängig) <p><u>maternal:</u></p> <ul style="list-style-type: none"> Letalität (1/20) Speichelfluss, Bewegungsstörungen vermindertes KG (k.w.A.) verminderter Futterverbrauch (k.w.A.) erhöhtes relatives Lebergewicht (k.w.A.) 	Roberts et al. 1993 (abstract)
		1500 ppm	<p><u>Feten:</u></p> <ul style="list-style-type: none"> siehe 3000ppm <p><u>maternal:</u></p> <ul style="list-style-type: none"> Speichelfluss, Bewegungsstörungen vermindertes KG (k.w.A.) erhöhtes relatives Lebergewicht (k.w.A.) 	
		750 ppm	<p><u>Feten:</u> NOEL</p> <p><u>maternal:</u></p> <ul style="list-style-type: none"> erhöhtes relatives Lebergewicht (k.w.A.) NOAEL (lt. Autoren) 	

Abkürzungen:

g.d.: Trächtigkeitstag

KG: Körpergewicht

o.B.: ohne Befund
PND: postnataler Tag
PNW: postnatale Woche
sign.: signifikant
n.a.: nicht angegeben
k.w.A.: keine weiteren Angaben

Fertilität:

Die mit Toluol durchgeführten tierexperimentellen Studien zur Fertilität sind in Tabelle 6 zusammengefasst. In ein- bzw. zwei-Generationenstudien mit Ratten, die inhalativ gegenüber Toluol exponiert waren, war die Fertilität nicht beeinträchtigt (API 1985, Ono et al. 1996). In der 1-Generationenstudie von Ono et al. (1996) wurden bei den exponierten Elterntieren bei beiden geprüften Konzentrationen eine verminderte Spermienzahl gefunden (2000 ppm: um ca. 25 %; 600 ppm: um ca. 13 %). Die absoluten und relativen Nebenhodengewichte waren bei 2000 ppm ebenfalls vermindert. Die Histologie von Hoden und Nebenhoden wies keine Auffälligkeiten auf. Ob in der 2-Generationenstudie von API (1985), in der ebenfalls Konzentrationen bis 2000 ppm eingesetzt wurden, die Spermienzahl bestimmt wurde, ist unklar, da die Studie nicht im Original vorliegt. Angaben hierzu wurden in dem Risk Assessment Document zu Toluol nicht gemacht.

In der Studie von Ono et al. (1999) war bei Ratten die für 5 Wochen gegenüber 4000 ppm Toluol exponiert wurden, die Spermienzahl jedoch nicht vermindert. Allerdings betrug die tägliche Expositionsdauer nur 2 Stunden. Bei 6000 ppm waren Spermienzahl (um 69 %), Spermienbeweglichkeit und in-vitro-Penetrationsfähigkeit in Ovarzellen vermindert. Der Gehalt von Testosteron und FSH im Blut war bei dieser Konzentration nicht beeinträchtigt, während der Gehalt von LH leicht, statistisch nicht signifikant, vermindert war.

Tabelle 6: Tierexperimentelle Studien zur Fertilität

Spezies	Exposition/Art der Studie	Konzentration	Effekte	Quelle
Ratte (Charles River CD) 10 Männchen/ Gruppe 20 Weibchen/ Gruppe	Inhalation 2-Generationenstudie 0, 100, 500, 2000 ppm 80 Tage vor Paarung, w weiter exponiert während Trächtigkeit und Laktation	2000 ppm	<u>Fertilität o. B.</u> Vermindertes KG F ₁ F ₀ : vermindertes KG (m, w, k.w.A.)	API 1985
		500 ppm	<u>Nachkommen:</u> o. B. F ₀ : vermindertes KG (m, k.w.A.)	
		100 ppm	NOEL	
Ratte (Sprague-Dawley) 15 Tiere/Geschlecht/ Gruppe	Inhalation 1-Generationenstudie 0, 600, 2000ppm 6 Std./Tag w: 14 Tage vor Paarung bis 7. Trächtigkeitstag; Tötung am 20. Trächtigkeitstag m: 90 Tage insgesamt, davon 60 Tage vor Paarung, Hämatologie, klinische Chemie, Makroskopie, Organgewichtsbe- stimmung und Histologie gemacht	2000 ppm	<u>Fertilität o.B.</u> <u>Feten:</u> <ul style="list-style-type: none"> erhöhte Letalität (Anzahl toter Feten: 1.6 ± 1.8), bzw. erhöhte Anzahl Muttertiere mit toten Feten (11/14, Kontrolle 7/15) <u>Fo:</u> <u>w:</u> <ul style="list-style-type: none"> Speichelfluss, Tränenfluss, KG während Trächtigkeit o. B. bzw. leicht vermindert im Zeitraum vor Paarung (nicht sign., um ca. max 4 %) <u>m:</u> <ul style="list-style-type: none"> verminderte Spermienzahl (sign. um ca. 25 %, abgeschätzt aus Abbildung) Spermienbeweglichkeit o. B. Histologie Hoden, Nebenhoden o. B. vermindertes absolutes und relatives Nebenhodengewicht (sign. um 14 % bzw. 15 %) erhöhtes absolutes und relatives Nierengewicht (sign. um 20 % bzw. um 16 %) basophile Veränderungen der Nieren und Tubulusnekrosen (mittelmäßig: 3/8, Kontrolle 0/8) vermindertes absolutes und relatives Thymusgewicht (sign. um 19 % bzw. 25 %) 	Ono et al. 1996
		600 ppm	<u>Feten:</u> o. B.	

Spezies	Exposition/Art der Studie	Konzentration	Effekte	Quelle
			<u>Fo:</u> <u>w:</u> o. B. <u>m:</u> <ul style="list-style-type: none"> verminderte Spermienzahl (nicht sign., um ca. 13 %, abgeschätzt aus Abbildung) 	
Ratte (m, Sprague-Dawley) 5 Tiere/Gruppe	Inhalation 5 Wochen 2 Std./Tag 0, 4000, 6000 ppm	6000 ppm	<ul style="list-style-type: none"> verminderte Spermienzahl (um 69 %) verminderte Spermienbeweglichkeit verminderte in-vitro Penetrationsfähigkeit in Hamster-Ovarzellen mit gehäuftem Auftreten von schwanzlosen Spermienköpfen in den Ovarzellen Spermatogenese o.B. klinische Symptome (Speichelfluss, Tränenfluss, Ataxie, Tremor) vermindertes Körpergewicht, verminderte Futteraufnahme verminderte Milz- und Thymusgewichte (absolut und relativ) erhöhtes Nebennierengewicht (absolut und relativ) Veränderungen einiger klinisch-chemischer und hämatologischer Parameter Organhistologie o. B. 	Ono et al. 1999
		4000 ppm	<ul style="list-style-type: none"> Spermienzahl o. B. Spermienbeweglichkeit o. B. Penetrationsfähigkeit n. u. klinische Symptome (Speichelfluss, Tränenfluss) vermindertes Körpergewicht, verminderte Futteraufnahme Veränderungen einiger klinisch-chemischer Parameter 	
Ratte (m, Sprague-Dawley) 5 Tiere/Gruppe/ Untersuchungszeitpunkt	Inhalation 7 Tage und 28 Tage 2 Std./Tag 0, 6000 ppm Bestimmung von LH, FSH und Testosteron im Blut	6000 ppm	<ul style="list-style-type: none"> Testosteron, FSH o. B. vermindertes LH nach 28 Tagen Exposition, nicht signifikant (1,37 ± 0,34 ng/ml, Kontrolle 2,65 ± 0,74 ng/ml) 	Ono et al. 1999
Ratte (w, Wistar) 23-29 Tiere in Expogruppe 38 Tiere in Kontrolle	Inhalation 9.-21. g.d. 6 Std./Tag 0,300, 600 1000, 1200 ppm Paarung der F ₁	1200ppm	<u>Fertilität:</u> o. B.	Thiel und Chahoud 1997

Spezies	Exposition/Art der Studie	Konzentration	Effekte	Quelle
Maus (m) (CD-1) 12 Tiere/Gruppe	Inhalation Dominant-Letal-Test (nach OECD-Richtlinie) 8 Wochen, 6 Std./Tag 0, 100, 400 ppm	400ppm	<u>Fertilität:</u> o. B. <u>Toxizität:</u> o. B. (K.w.A.)	Litton Bionetics 1981

Abkürzungen:

- o. B.: ohne Befund
- KG: Körpergewicht
- sign.: signifikant
- k.w.A: keine weiteren Angaben
- n.u.: nicht untersucht
- LH: luteinisierendes Hormon
- FSH: follikelstimulierendes Hormon

Fazit:

Embryotoxizität:

Bei Ratten wurden nach inhalativer Exposition bei den Nachkommen verminderte Körpergewichte, Ossifikationsstörungen, zusätzliche Lumbalrippen und erhöhte Letalität sowie Beeinträchtigungen in Verhaltenstests beobachtet:

Verminderte Körpergewichte bei den Feten, welche in der Regel von Ossifikationsstörungen begleitet waren, oder verminderte Geburtsgewichte wurden durchgängig in allen Studien gefunden. Die Körpergewichte waren zum Teil um über 10 % im Vergleich zu den Kontrolltieren vermindert, bei keiner deutlichen maternalen Toxizität. Darüber hinaus wurden von Hougaard et al. (1999) bzw. Hass et al. (1999) bei 1800 ppm bzw. 1200 ppm Beeinträchtigungen in verhaltenstoxikologischen Tests festgestellt. Dosis-Wirkungsbeziehungen fehlten bzw. waren nicht deutlich erkennbar.

Eine erhöhte Inzidenz zusätzlicher Lumbalrippen konnte nur von Hartmann et al. (1994) nachgewiesen werden, während dieser Befund in anderen Studien bei höheren Konzentrationen nicht reproduziert werden konnte.

Erhöhte Letalität bei Feten oder Jungtieren wurde nur bei Ono et al. (1995) bzw. bei Thiel und Chahoud festgestellt, die jedoch nicht dosisabhängig war bzw. bei Thiel und Chahoud fraglich stoffbedingt ist, da diese bei der nächstniedrigeren Konzentration von 1000 ppm, welche nahe bei der Effektkonzentration von 1200 ppm liegt, nicht auftrat. Darüber hinaus war in anderen Studien bei höheren Konzentrationen (HRC 1992, bis 3000 ppm; Hougaard et al. :1800 ppm) keine erhöhte Letalität feststellbar.

In der einzigen Studie mit Mäusen waren die Körpergewichte bei den Nachkommen ebenfalls vermindert und es wurden Beeinträchtigungen in verhaltenstoxikologischen Tests an einigen Prüftagen beobachtet.

Da bei den Nachkommen in mehreren Studien im wesentlichen geringfügige Retardierungen der Körpergewichtsentwicklung und der Skelettentwicklung sowie geringfügige Einflüsse auf die postnatale Entwicklung festgestellt wurden, erfolgt gemäß den Kriterien der GefStoffV eine Einstufung als entwicklungsschädigend Kategorie 3 (R_E: 3)

Fertilität:

In Ein- bzw. Zwei-Generationenstudien mit Ratten war die Fertilität nach inhalativer Exposition gegenüber bis zu 2000 ppm Toluol nicht beeinträchtigt, jedoch wurde in einer dieser Studien mit arbeitsplatzrelevanter täglicher Expositionsdauer von 6 Stunden, in der die männlichen Tiere über 90 Tage exponiert wurden, eine konzentrationsabhängig verminderte Spermienzahl gefunden. Diese war bei 2000 ppm (ca. 820 mg/kg/Tag) um ca. 25 % signifikant vermindert und bei 600 ppm (ca. 240 mg/kg KGW/Tag) nicht signifikant um ca. 13 % vermindert (Ono et al. 1996). In einer weiteren Studie war bei einer täglichen Expositionsdauer von 2 Stunden, in der die Tiere über 5 Wochen exponiert wurden, die Spermienzahl bei 4000 ppm (ca. 564

mg/kg KGW/Tag) nicht vermindert, während bei 6000 ppm (ca. 1040 mg/kg KGW/Tag) eine deutlich verminderte Spermienzahl und Spermienbeweglichkeit festzustellen war (Ono et al. 1999). Aufgrund dieser Ergebnisse lässt sich vermuten, dass erst bei einer täglichen Exposition über 8 Stunden bei etwa 1000 ppm (entspricht ca. 600 mg/kg KG/Tag bei 70 kg KGW und 60 %iger Resorption) mit einer beginnenden Verminderung der Spermienzahl beim Menschen zu rechnen wäre.

Zusammenfassend ist festzustellen, dass die wiederholte inhalative Exposition gegenüber hohen Toluol-Konzentrationen zu einer Verringerung der Spermienzahl bei Ratten geführt hat, wobei die histologische Untersuchung der Hoden keine Auffälligkeiten zeigte. Da davon auszugehen ist, dass die Bestimmung der Spermienzahl großen Variabilitäten unterworfen ist und aufgrund der Tatsache, dass dieser Effekt erst bei hohen Expositionskonzentrationen auftritt, erfolgt gemäß den Kriterien der GefStoffV keine Einstufung (R_F: -).

Literatur:

- [1] API (American petroleum institute) Two-generation inhalation reproduction/fertility study on petroleum derived hydrocarbon with toluene API Med Res Publ: 32-32854, Washington, 1985 in: Risk Assessment Document Toluene, Draft Sept. 1998, Danish Environmental Protection Agency
- [2] Gospe S.M. et al. The Effects of High-Dose Toluene on Embryonic Development in the Rat Pediatric Research 36(6), 811-815, 1994
- [3] Hartmann J. et al. Embryotoxicity of toluene in rats Teratology 50(5), 37A, 1994 (abstract)
- [4] Hass U. et al. Developmental Neurotoxicity After Toluene Inhalation Exposure in Rats Neurotoxicol Teratol 21(4), 349-357, 1999
- [5] Hougaard K.S. et al. Effects of Prenatal Exposure to Toluene on Postnatal Development and Behaviour in Rats Neurotoxicol Teratol 21(3), 241-250, 1999
- [6] HRC (Huntingdon Research Centre Ltd.) Toluene- the effect on pregnancy of the rat (inhalation exposure). Unveröffentlichter Bericht für American Petroleum Institute, 1992
- [7] Jones H.E., Balster R.L. Neurobehavioural Consequences of Intermittent Prenatal Exposure to High Concentrations of Toluene Neurotoxicol Teratol 19(4), 305-313, 1997
- [8] Litton Bionetics Mutagenicity evaluation of toluene. Mouse dominant lethal assay. LBI project No. 21141-05. Report submitted to American Petroleum Institute, 1981 in: Risk Assessment Document Toluene, Draft Sept. 1998, Danish Environmental Protection Agency
- [9] Ono A. et al. Reproductive and Developmental Toxicity Studies of Toluene. Teratogenicity Study of Inhalation Exposure in Pregnant Rats The Journal of Toxicological Sciences 20, 109-134, 1995

- [10] Ono A. et al. Reproductive and Developmental Toxicity Studies of Toluene Effects of Inhalation Exposure on Fertility in Rats *Journal of Environmental Pathology* 15(1), 9-20, 1996
- [11] Ono A. et al. Toluene inhalation induced epididymal sperm dysfunction in rats *Toxicology* 139, 193-205, 1999
- [12] Roberts L. et al. Developmental toxicity of toluene in the rat *Teratology* 47:434 (abstract), 1993
- [13] Thiel R., Chahoud I. Postnatal development and behaviour of Wistar rats after prenatal toluene exposure *Arch Toxicol* 71, 258-265, 1997

Tabelle 7: Effekte im Morris water maze test

Testphase	Hougaard 1999	Hass 1999
Exposition	7.-20.g.d., 1800 ppm	7.g.d.-PND 18, 1200 ppm
a) Lernen	<ul style="list-style-type: none"> • PNW 6 • Männchen: o.B. • Weibchen: erhöhte Latenzzeit bei einigen Versuchen (Abb. 1) 	<ul style="list-style-type: none"> • PNW 9 • Männchen: o.B. • Weibchen: o.B.
b) Gedächtnis	<ul style="list-style-type: none"> • PNW 10 • Männchen: sign. längere Wegstrecke Tag 1: 353 ± 186 cm, Kontrolle 321 ± 114 cm (10%) Tag 2: 206 ± 123 cm, Kontrolle 146 ± 68 cm (41%) Tag 3 : 128 ± 77 cm, Kontrolle 116 ± 128 cm (10%) Latenzzeit nicht sign. erhöht • Weibchen: o.B. 	<ul style="list-style-type: none"> • PNW 13 • Männchen: o.B. • Weibchen: o.B..
c) Neue Position I ("Reversal learning")	<ul style="list-style-type: none"> • PNW 10 • Männchen: o.B. • Weibchen: Latenzzeit sign. erhöht: 27.9 ± 8.9 sec, Kontrolle 20.6 ± 3.7 sec (Erhöhung um 35 %) Wegstrecke sign. länger 519 ± 116 cm, Kontrolle 336 ± 86 cm (Erhöhung um 54 %) 	<ul style="list-style-type: none"> • PNW 13 • Männchen: o.B. • Weibchen: o.B..
d) Neue Position II ("New learning")	<ul style="list-style-type: none"> • PNW 10 • Männchen: o.B. • Weibchen: Latenzzeit sign. erhöht: 20.3 ± 6.4 sec, Kontrolle 15.6 ± 5.0 sec (Erhöhung um 30 %) Wegstrecke sign. länger 369 ± 152 cm, Kontrolle 257 ± 183 cm (Erhöhung um 44 %) 	<ul style="list-style-type: none"> • PNW 13 • Männchen: o.B. • Weibchen: Latenzzeit sign. erhöht: 32 ± 13 sec, Kontrolle 24.5 ± 9.5 sec (Erhöhung um 30 %, abgeschätzt aus Abb.) Wegstrecke sign. länger 695 ± 350 cm, Kontrolle 513 ± 217 cm (Erhöhung um 35 %, abgeschätzt aus Abb.)

Stand: November 2001