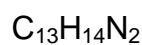
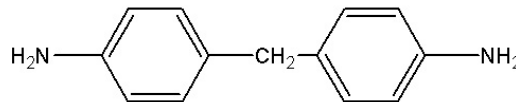


**Ausgabe: Mai 2010****Expositions-Risiko-Begründung zu 4,4'-Methyldianilin**Toleranzrisiko (4:1000): 731 µg/m<sup>3</sup>Akzeptanzrisiko (4:10000 bis 2013): 73 µg/m<sup>3</sup>Akzeptanzrisiko (4:100000 nach 2013, spätestens 2018): 7,3 µg/m<sup>3</sup>**Stoffcharakterisierung**

Summenformel:



Strukturformel:



Molekulargewicht: 198,3 g/Mol (MDA), 271,2 g/Mol (MDA Hydrochlorid)

CAS-Nr.: 101-77-9

Schmelzpunkt: 89°C

Siedepunkt: 398-399 °C bei 1013 hPa

Wasserlöslichkeit: 1,25 g/l bei 20°C

Verteilungskoeffizient (log P<sub>OW</sub>): 1,59Umrechnungsfaktoren: 1 ppm = 8,25 mg/m<sup>3</sup>1 mg/m<sup>3</sup> = 0,12 ppm

1,37 g MDA Hydrochlorid entsprechen 1 g MDA

1 g MDA Hydrochlorid entsprechen 0,73 g MDA

Einstufung EC (2008): Carc. Cat. 2; R45 - Muta. Cat. 3; R68 - T; R39/23/24/25 - Xn; R48/20/21/22 - R43 - N; R51-53

**1 Einleitung**

4,4'-Methyldianilin (MDA, Synonyme: Bis-(4Aminophenyl)-methan, 4,4'-Methylenbisbenzolanilin, 4,4'-Diaminodiphenylmethan, Dianilinmethan) ist bei Raumtemperatur ein farbloser gelblicher, kristalliner Feststoff mit schwachem aminartigem Geruch. Es ist praktisch nicht flüchtig ( $2,87 \times 10^{-8}$  hPa bei 20 °C). Das technische Produkt enthält bis zu ca. 35% zwei- und mehrkernige Amine („Polymere“) und ist bei Raumtemperatur flüssig. Es wird zu über 90% zur Herstellung von 4,4'-Methyldiphenylisocyanat verwendet, in geringerem Umfang auch direkt als Härter in Epoxyharzen, Polyurethanen oder anderen Polymeren sowie Kautschukprodukten.

Die wesentlichen Zielorgane von MDA sind Leber und Schilddrüse, sowohl für nichtkanzerogene Effekte als auch hinsichtlich der krebserzeugenden Wirkung bei Ratte und Maus. Auch beim Menschen wurden Leberschäden nach MDA-Exposition berichtet, weiterhin ist die Substanz beim Menschen sensibilisierend.

Bei der Risikoabschätzung ergeben sich insbesondere folgende kritische Punkte, die relevante Unsicherheiten beinhalten:

- Pfad-zu-Pfad-Übertragung (oral → inhalativ)
- relevante perkutane MDA-Aufnahme bei beruflicher Exposition
- Polymorphismen (langsame, schnelle Acetylierer)
- überwiegend noch unklarer Mechanismus mit unbekannter Relevanz der Genotoxizität
- keine geeigneten Humandaten.

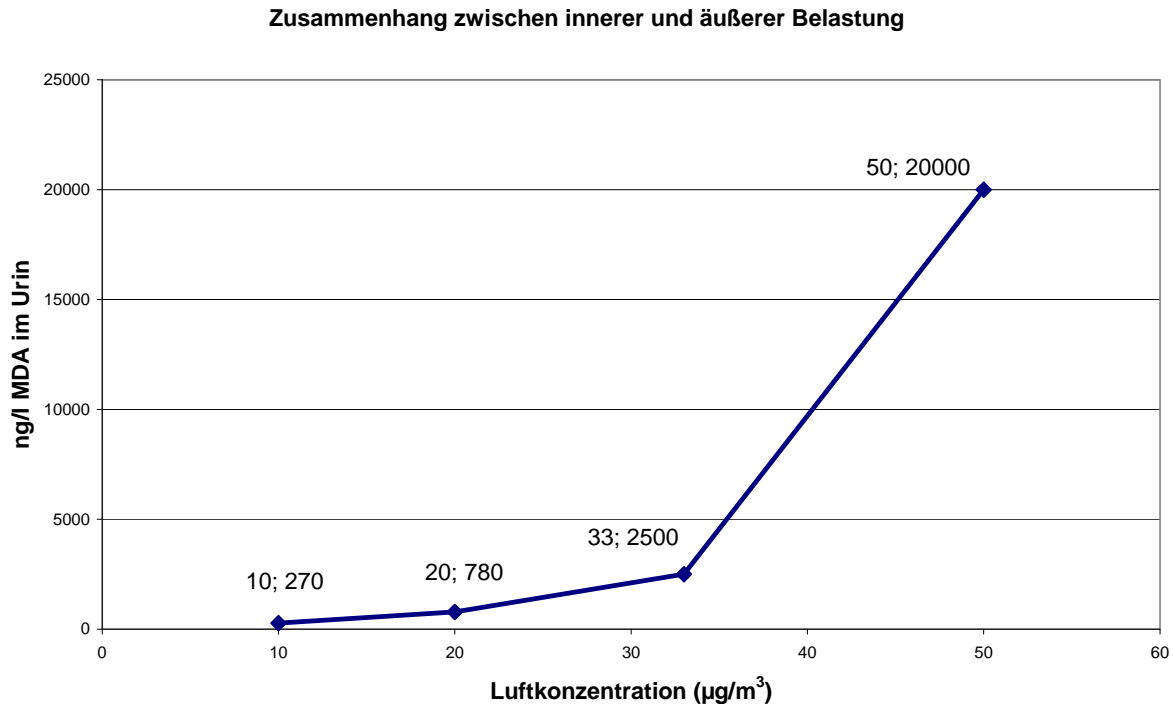
Die Risikozahlen wurden auf Basis der Lebertumore bei Ratten abgeleitet: Bei der Übertragbarkeit der Schilddrüsentumore bei Ratten und Lebertumore bei Mäusen auf den Menschen bestehen große quantitative Unsicherheiten; Schilddrüsentumore bei der Maus zeigten niedrigere Inzidenzen als die Lebertumore bei Ratten.

Eine ausführlichere Beschreibung relevanter toxikologischer Studien befindet sich in ACGIH (2001), ATSDR (1998), DECOS (2000), ECB (2001), Henschler (1987), Montelius (2002) und OECD (2002). Die folgende Darstellung konzentriert sich auf die für die Ableitung einer ERB maßgeblichen Studien.

## **2 Toxikokinetik/Metabolismus**

Wegen der physikochemischen Eigenschaften (MDA ist praktisch nicht flüchtig) ist eine inhalative Exposition nur in Form von Staub oder Aerosolen zu erwarten. Quantitative Angaben zur Resorption liegen nicht vor. Nachdem bei beruflich gegenüber MDA exponierten Personen im Urin MDA und der Metabolit N-Acetyl-MDA nachgewiesen wurde, kann aber qualitativ auf eine Resorption über diesen Pfad geschlossen werden. Auch das Auftreten von Augenschäden bei Meerschweinchen nach inhalativer „nose-only“-Exposition kann als Hinweis auf eine systemische Resorption gewertet werden (ATSDR, 1998; ECB, 2001; Greim und Lehnert, 2007).

Greim und Lehnert (1994) fanden anhand von Daten zu biologischem Monitoring bei beruflichem Umgang keine lineare Korrelation zwischen innerer und äußerer Belastung (Urinausscheidung vs. Luftkonzentrationen), was auch von CSTEE (2000) bestätigt wurde. Die Zusammenhänge sind in der folgenden Abbildung dargestellt.



**Abbildung 1:** Zusammenhang zwischen innerer und äußerer Belastung des Menschen bei beruflicher Exposition (nach Greim und Lehnert, 1994)

Bei oraler Exposition wird die Substanz ebenfalls resorbiert, es liegen aber keine quantitativen Angaben zur Resorption vor. Humanerfahrungen in Form von Fallberichten und epidemischen Vergiftungen belegen das Auftreten toxischer Wirkungen (u.a. Ikterus) nach der Aufnahme MDA-kontaminierter Nahrung oder Flüssigkeiten. In zahlreichen Tierstudien zeigten sich toxische Effekte nach oraler Exposition; weiterhin wurden sowohl MDA als auch Metabolite im Urin nachgewiesen (ATSDR, 1998; ECB, 2001; Montelius, 2002).

Das Auftreten toxischer Effekte bei Fallberichten dermal gegenüber MDA exponierter Personen sowie der Nachweis von MDA und Metaboliten (N-Acetyl-MDA, N,N'-Diacetyl-MDA) bei hauptsächlich dermal exponierten Berufstätigen lässt eine effiziente Resorption durch die Haut vermuten. Ein Patch-Test an Freiwilligen berichtet eine mittlere Resorptionsquote von 28% nach 1-stündiger dermalen Exposition gegenüber 0,75-2,25 µmol MDA (149-446 µg, in Isopropanol gelöst). Aus diesem Ergebnis wurde eine Aufnahme von 0,25 µg/cm<sup>2</sup> • h abgeschätzt. Bei beruflicher Exposition wurden etwa 25% der inneren Belastung dermal aufgenommen (Brouwer et al., 1998; Brunmark et al., 1995, Greim und Lehnert, 2007).

Brouwer et al. (1998) fanden bei beruflich exponierten Personen eine lineare Korrelation zwischen der auf der Haut befindlichen Menge und der Ausscheidung mit dem Urin.

In einer Tierstudie mit dermalen Exposition verschiedener Spezies gegenüber 2 oder 20 mg/kg wurden bei Ratten über 96 h bei der niedrigen Dosis ca. 55% in Exkrementen, Gastrointestinaltrakt und Organen wiedergefunden (43% in Urin, 10% in Faeces), ca. 50% in oder auf der Haut. Bei der höheren Dosis war die aufgenommene Menge absolut gleich (ca. 0,23 mg/Tier), relativ entsprechend

geringer. Bei Meerschweinchen war der über die Haut resorbierte Anteil mit insgesamt 33% geringer, jedoch war im Gegensatz zur Ratte eine Verdoppelung der resorbierten Menge bei der höheren Dosis ersichtlich (ATSDR, 1998; ECB, 2001; Montelius, 2002).

Ältere in vitro-Studien an menschlicher Haut bzw. Rattenhaut ergaben nach Applikation von 17,7-40,6  $\mu\text{g}/\text{m}^2$  in Ethanol nach 72 h eine Penetration von 13% bzw. 6% (nicht-okklusiv) und 33% bzw. 13% (okklusiv); 23-58% der aufgetragenen Menge verblieben bei diesem Versuch in der Haut (ATSDR, 1998; ECB, 2001; Montelius, 2002). Die menschliche Haut ist nach diesen Daten durchlässiger als Rattenhaut.

Eine weitere in vitro Studie von Kenyon et al. (2004) verglich ebenfalls die Penetrationsraten von MDA bei Mensch und Ratte: Die menschliche Haut erwies sich bei dieser Untersuchung wiederum als permeabler als Rattenhaut, und es zeigte sich eine klare Dosisabhängigkeit (5 und 50 mg/ml in 1:1 Ethanol/Wasser, 24 h Exposition: Rattenhaut: 0,74 bzw. 8,02  $\mu\text{g}/\text{cm}^2 \cdot \text{h}$ ; menschliche Haut: 1,04 bzw. 11,35  $\mu\text{g}/\text{cm}^2 \cdot \text{h}$ ). MDA wird dabei offensichtlich in der Haut gespeichert: ein Versuch mit 8 h Exposition im Vergleich zur Entfernung der Substanz nach 4 h Exposition ergab eine nahezu gleiche kumulative Resorption. Ein weiterer Test dieser Autoren zeigte, dass MDA auch Latexhandschuhe durchdringen kann (4% Penetration), allerdings kaum Nitrilhandschuhe (< 0,1%). Wellner et al. (2008) kamen bei ähnlichen in vitro-Penetrationsversuchen an menschlicher Haut zu höheren Werten: nach Exposition gegenüber 5 g/l (in 1:1 Ethanol/0,9% NaCl) durchdrangen innerhalb von 24 h ca. 15% die Haut, es wurde ein maximaler Flux von 34,5  $\mu\text{g}/\text{cm}^2 \cdot \text{h}$  berechnet.

Nachdem in Tierstudien mit oraler oder parenteraler Exposition zahlreiche Zielorgane affektiert waren und Hämoglobinaddukte im Blut nachgewiesen wurden (ATSDR, 1998; ECB, 2001; Montelius, 2002), ist eine Verteilung im ganzen Organismus wahrscheinlich.

MDA kann im Organismus auf mehreren Wegen verstoffwechselt werden:

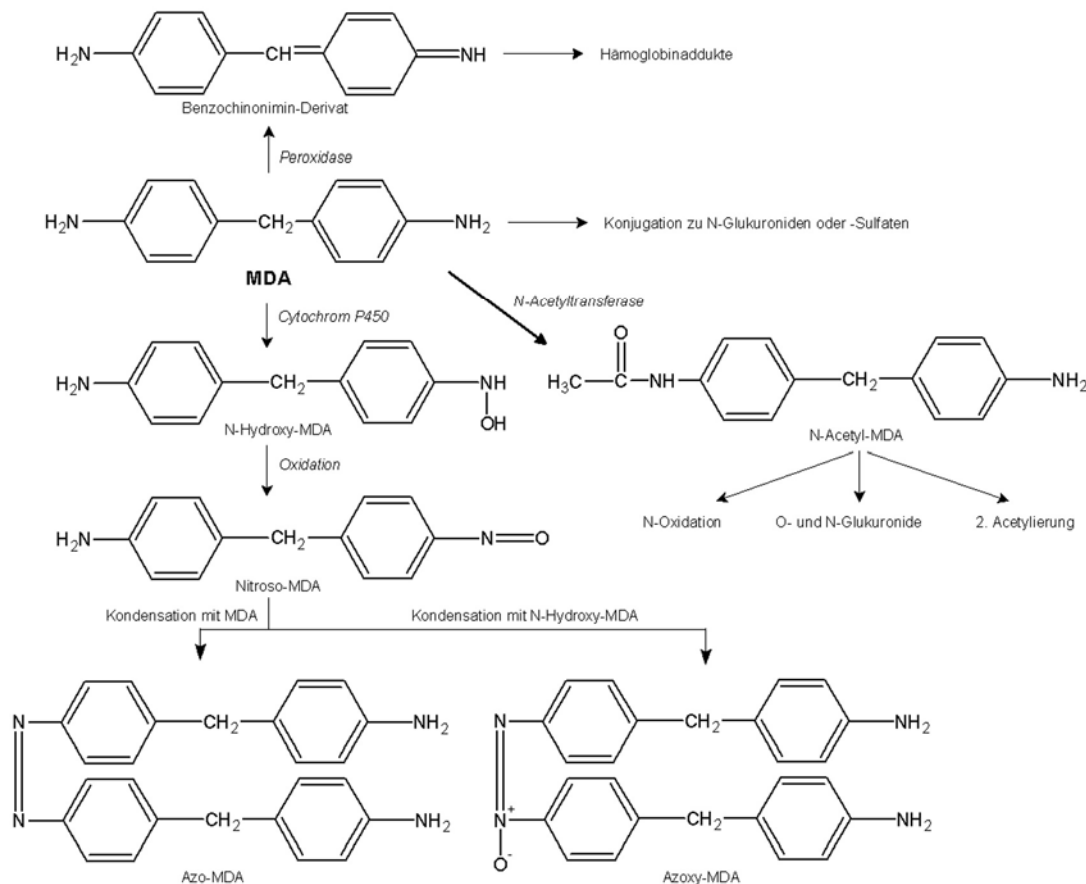
- Direkte Konjugation von MDA zu N-Glukuroniden oder -Sulfaten, welche mit dem Urin ausgeschieden werden.
- Oxidation durch Cytochrom P450 führt zum N-Hydroxy-MDA, welches zum Nitroso-MDA weiterreagiert. Diese beiden Metabolite können konjugiert und mit dem Urin ausgeschieden werden. Reaktionen mit zellulären SH-Gruppen von Proteinen führen u.a. zu Albumin- und Hämoglobinaddukten; mit Nukleinsäuren bilden sich DNA-Addukte (bevorzugt N(Deoxyguanosin-8-yl)-MDA). Durch Kondensation des Nitroso-MDA mit nicht metabolisiertem MDA bzw. N-Hydroxy-MDA können auch Azo-Farbstoffe (Azo-MDA und Azoxy-MDA) entstehen (in vitro mit Rattenlebermikrosomen nachgewiesen).
- Durch eine Peroxidase-katalysierte Reaktion entsteht ein Benzochinonimin-Derivat, welches für die Bildung von Hämoglobinaddukten ursächlich ist.
- Hauptsächlich erfolgt der Metabolismus über eine Acetylierung durch N-Acetyltransferasen zu N-Acetyl-MDA (dem Hauptmetabolit beim Menschen und bei der Ratte) und N,N'-Diacetyl-MDA, welche als O- und N-Glukuronide mit dem Urin ausgeschieden werden. Dieser Stoffwechselweg stellt im Gegensatz zum oxidativen Metabolismus per se eine Entgiftungsreaktion dar (N,N'-Diacetylierung). Jedoch kann bei Acetylierung nur einer Aminogruppe eine Oxidation der zweiten Aminogruppe erfolgen (oder sogar erleichtert werden),

was letztlich zu einer Giftung führt.

- Bei Ratten wurde nach i.p. Gabe auch eine Oxidation am zentralen C-Atom zu Benzohydrol und Benzophenonderivaten beobachtet, weiterhin eine Kombination von N-Acetylierung und Oxidation zu N,N'-Diacetyl-3-hydroxy-MDA.

Die Elimination erfolgt hauptsächlich über den Urin (bei Menschen in der Häufigkeitsabstufung N-Acetyl-MDA > MDA > N,N'-Diacetyl-MDA). Beim Menschen wurde eine schnellere Elimination nach inhalativer im Vergleich zu dermalen Exposition gezeigt. Bei Ratten wurden geringere Anteile in Faeces ausgeschieden; bei Meerschweinchen erfolgte eine Ausscheidung mit Urin und Faeces zu etwa gleichen Teilen (ATSDR, 1998; ECB, 2001; Montelius, 2002; Zhang et al., 2006). Dugas et al. (2001) zeigten bei männlichen Ratten einen relevanten first-pass-Effekt in der Leber nach oraler Exposition, bei weiblichen Tieren war dieser deutlich geringer.

Der Metabolismus von MDA ist schematisch in der folgenden Abbildung wiedergegeben:



**Abbildung 2:** Metabolismus von MDA (nach ATSDR, 1998; ECB, 2001; Montelius, 2002)

Anmerkung: Es wurde postuliert, dass auch eine Exposition gegenüber 4,4'-Methyldiphenyldiisocyanat (MDI) zu einer MDA-Belastung führen kann (WHO, 2002; Kääriä et al., 2001; Pauluhn und Leng, 2003). Doch eine Metabolisierung von MDI durch Hydrolyse und Zerfall zu MDA konnte durch unterschiedliche

experimentelle Ansätze weder beim Menschen noch im Tierversuch nachgewiesen werden (Greim, 2008).

### **Polymorphismus der N-Acetyltransferase**

Beim Menschen und auch bei Tieren (Maus, Ratte, Hamster, Kaninchen) existiert ein genetischer Polymorphismus der N-Acetyltransferasen. Verschiedene Mutationen vor allem des NAT2-Allels führen gegenüber dem Wildtyp zu einer geringeren Acetylierungsaktivität, was zur Unterscheidung von schnellen und langsamen Acetylierern führt. Auch beim NAT-1 Enzym wurden unterschiedliche Aktivitäten nachgewiesen. Aus diesem Grund liegen, bedingt durch schnellere oder langsamere Entgiftung, innerartliche Sensitivitätsunterschiede vor. Die Acetylierungsrate kann für unterschiedliche Genotypen (Allel-Mutationen) stark variieren: zwischen Individuen mit sehr geringer und sehr hoher Aktivität der NAT-2 betragen die Unterschiede etwa 2 Größenordnungen. Im Mittel beträgt der Unterschied 12,8 (Basis Individuen) bzw. 10,5 (Basis phänotypische Unterscheidung).

Der Anteil der langsamen Acetylierer an der Gesamtbevölkerung ist bei Asiaten niedrig (< 25%), bei Europäern, weißen Amerikanern und Australiern beträgt der Anteil etwa 50%, bei Bewohnern des mittleren Ostens liegt er bei 70%.

Der Phänotyp des schnellen Acetylierers wird bei N-Acetylierungsreaktionen häufig mit einer erhöhten Entgiftungskapazität assoziiert und aus diesem Grund die langsamen Acetylierer als Gruppe mit höherer Sensitivität betrachtet. Wie bereits ausgeführt, muss dies nicht notwendigerweise zutreffen: eine Entgiftung ist nur bei Acetylierung *beider* Aminogruppen des MDA zu unterstellen. Bei Acetylierung *einer* Aminogruppe kann eine Oxidation der zweiten Aminogruppe erfolgen, was wiederum zur Bildung eines toxischen Metaboliten führt. Experimentell wurde diese Hypothese bestätigt durch die Beobachtungen von Zhang et al. (2006), welche sowohl F344-Ratten (schnelle Acetylierer) als auch WKY-Ratten (langsame Acetylierer) oral gegenüber 37,5 mg/kg MDA exponierten. Die Lebertoxizität (erhöhte ALT-Aktivität im Serum, Gallengangsnekrosen, Entzündung, Hämorrhagien) war in F344-Ratten deutlich höher als in WKY-Ratten. Die Autoren sehen dies als Folge einer metabolischen Aktivierung der zweiten Aminogruppe beim mono-N-acetylierten MDA, was auch für andere Diamine wie Benzidin beobachtet wurde (Griem et al., 2002; Hein, 2002; Zhang et al., 2006).

## **3 Toxizität nach wiederholter Belastung (ERB-relevante, nicht krebserzeugende Wirkung)**

### **Tierexperimentelle Daten**

Die wichtigsten Zielorgane bei wiederholter Applikation sind, wie bei der kanzerogenen Wirkung, Schilddrüse und Leber, wobei sich Ratten im Vergleich zu Mäusen als empfindlichere Spezies erwiesen. In der Schilddrüse von Ratten wurden in mehreren Studien follikuläre Hyperplasie und/oder Hypertrophie beobachtet (LOAEL 9 mg/kg • d in der Kanzerogenitätsstudie des NTP, kein NOAEL). Hepatotoxische Effekte waren erhöhte Serumwerte für leberspezifische Transaminasen, hepatozelluläre Degeneration sowie nekrotische Veränderungen und Hyperplasien des Gallenganges (LOAEL 9 mg/kg • d in der Kanzerogenitätsstudie des NTP (1983; Weisburger et al., 1984; Lamb et al., 1986),

kein NOAEL). Ähnliche Effekte zeigten sich in dieser Studie in Mäusen bei höheren Dosen. In den Untersuchungen von Dugas et al. (2001) reagierten Weibchen hinsichtlich hepatotoxischer Effekte empfindlicher als männliche Ratten. (ATSDR, 1998; BUA, 1994; ECB, 2001; Montelius, 2002).

Ein weiterer relevanter Endpunkt war in Tierstudien Hämatotoxizität (Anämie, extramedulläre Hämatopoese, LOAEL 22-25 mg/kg • d bei Ratten, bei Katzen auch Methämoglobinämie).

MDA wirkte im Tier leicht haut- und augenreizend.

Nach inhalativer „nose-only“-Exposition wurden bei Meerschweinchen Augenschäden (Degeneration der Retina, LOAEL 440 mg/m<sup>3</sup>, 4 h/d, 5 d/w, 2 Wochen, nur diese Konzentration getestet, kein NOAEL) beobachtet. Ähnliche Effekte zeigten sich auch in Katzen nach oraler Exposition. Zur sensibilisierenden Wirkung liegen nur ältere Studien mit sowohl positiven als auch negativen Ergebnissen vor (ATSDR, 1998; BUA, 1994; ECB, 2001; Montelius, 2002).

Hinsichtlich reproduktionstoxischer Effekte liegen weder verlässliche Tierstudien noch Humanerfahrungen vor. Eine Untersuchung in Mäusen berichtet nach Exposition von Mäusen gegenüber 1000 mg/kg Futter an den Trächtigkeitstagen 1-18 keine fruchtschädigenden Effekte, jedoch fehlen Angaben zur Stabilität im Futter. Bei Hühnerembryonen führte Injektion von 50 µl einer 10% Lösung zu Fehlbildungen der Gliedmaßen und des Schnabels (BUA, 1994).

## **Humandaten**

Beim Menschen wurden nach beruflicher Exposition und kurzzeitiger Intoxikation durch kontaminierte Nahrungsmittel gastrointestinale Beschwerden und vor allem Leberschäden berichtet (Ikterus, zelluläre Infiltration, Entzündungen des Gallenganges, Cholestase, Hyperbilirubinämie, erhöhte Serumwerte für Transaminasen). Verlässliche Konzentrations- bzw. Dosisangaben liegen nicht vor. In verschiedenen Untersuchungen wurde eine sensibilisierende Wirkung von MDA beim Menschen zweifelsfrei gezeigt, ebenso Kreuzreaktionen zu anderen p-Aminoverbindungen und ein Fall von Photosensibilisierung (ATSDR, 1998; BUA, 1994; ECB, 2001; Montelius, 2002). Auch eine aktuellere, in den Übersichtsarbeiten noch nicht berücksichtigte Untersuchung bestätigt das sensibilisierende Potenzial: In einem Patch-Test an ca. 6800 Patienten konnte in 132 Fällen eine Sensibilisierung gegenüber MDA nachgewiesen werden (Fortina et al., 2001). Ein aktueller Fallbericht mit positiver Reaktion gegenüber 0,5% MDA liegt ebenfalls vor (Isaksson und Gruvberger, 2003).

## **4 Gentoxizität**

Alle Untersuchungen zur Gentoxizität wurden mit reinem MDA oder MDA Hydrochlorid (nicht mit technischem Produkt) durchgeführt.

## **in vitro**

In Untersuchungen an Bakterien (*Salmonella typh.*) wurden überwiegend dosisabhängig mutagene Effekte (primäre Gentoxizität<sup>1</sup>) bei metabolischer Aktivierung beobachtet. Ohne Aktivierung waren die Resultate durchwegs negativ. Ames-Tests mit mono- oder di-N-acetyl-lierten Metaboliten kamen ohne oder mit metabolischer Aktivierung zu negativen Ergebnissen, während die Metabolite N'-Nitroso- und N'-Hydroxy-N-Acetyl-MDA mit und ohne metabolische Aktivierung mutagen wirkten (ATSDR, 1998; BUA, 1994; ECB, 2001; Montelius, 2002; Morgott et al., 1982).

In Säugerzellen in vitro wurde eine Induktion von Chromosomenaberrationen (CHO-Zellen, positiv bei metabolischer Aktivierung, ohne Aktivierung fragliches Ergebnis) und im gleichen Testsystem marginal positive Ergebnisse hinsichtlich der Induktion von Schwesterchromatidaustausch (SCE) erhalten. Es fehlen jedoch Angaben zu zytotoxischen Wirkungen bei den effektiven Dosen. In menschlichen Leukozyten waren die Befunde für diese beiden Tests mit oder ohne metabolische Aktivierung negativ. Im Mauslymphomtest wurde (nur ohne metabolische Aktivierung getestet) ein schwach positives Ergebnis erhalten. Untersuchung zur Induktion unplanmäßiger DNA-Synthese (UDS) in Rattenhepatozyten erbrachten unter vergleichbaren Versuchsbedingungen widersprüchliche Resultate. Im EU-RAR (ECB, 2001) werden als Beleg für eine gentoxische Wirkung in vitro die mutagene Aktivität in Bakterien und die Induktion von Chromosomenaberrationen in Säugerzellen aufgeführt, die Ergebnisse in den anderen Testsystemen als unklar gewertet (ATSDR, 1998; BUA, 1994; ECB, 2001; Montelius, 2002).

Weitere, in diesen Übersichtsarbeiten noch nicht berücksichtigte Studien:

Zhong et al. (2001) wiesen eine dosisabhängige Induktion von Mikronuklei in V79-Zellen nach; die Mikrokerne waren negativ für Anti-Kinetochor Antikörper und zeigten somit klastogene Effekte von MDA an. Matsuoka et al. (2008) bestätigten die bereits in früheren Studien in CHO-Zellen beobachtete chromosomenschädigende Wirkung in CHL-Zellen (SCE, in geringerem Ausmaß auch Chromosomengaps und -brüche).

Robbiano et al. (1999) beobachteten hingegen keine DNA-Brüche oder Mikronuklei-Bildung in primären Nierenzellen von Ratte oder Mensch. Ein ebenfalls negatives Ergebnis berichten auch Martelli et al. (2002) in Primärkulturen von Niere, Blase und Ovarien der Ratte sowie primären humanen Nieren- und Blaszellen. Dagegen wiesen diese Autoren DNA-Brüche in primären Hepatozyten und Thyreozyten von Ratte und Mensch nach, welches typische Zielorgane der kanzerogenen Wirkung von MDA sind (stärkerer Effekt in Ratten im Vergleich zu humanen Zellen und jeweils ausgeprägter in Leber- als in Schilddrüsenzellen). Diese DNA-Schäden waren nach Expositionsende teilweise reversibel. Nach Ansicht der Autoren sind sowohl primäre Gentoxizität (DNA-Addukte) als auch sekundäre Gentoxizität (Hemmung der DNA-Reparatur) als Ursache zu diskutieren.

---

<sup>1</sup> Differenzierung primäre/ sekundäre Gentoxizität nach Leitfaden, Abschnitt 2.2. Primäre Gentoxizität: unmittelbare DNA-Interaktion durch Muttersubstanz (direkt) bzw. Metaboliten (indirekt), z.B. Addukte, Mutationen. Sekundäre Gentoxizität: initialer Schritt findet nicht an DNA statt (z.B. oxidativer Stress, Interferenz mit mitotischem Prozess etc.) (AGS, 2008)



Kenyon et al. (2004) beobachteten eine DNA-Adduktbildung nach 24-stündiger MDA-Exposition von menschlicher Haut *in vitro*. Drei verschiedene Addukte wurden unterschieden, jedoch nicht näher charakterisiert. Die Zahl der Addukte (total) pro  $10^6$  Nukleotide und die eines der Addukte war dosisabhängig erhöht, während die anderen beiden Addukte keine Veränderung in Abhängigkeit von der Dosis zeigten.

### **in vivo**

Evidenz für primäre Genotoxizität *in vivo* liefert eine Studie an Ratten, wo nach i.p. Gabe von bis zu 23,1 mg/kg eine schwache DNA-Adduktbildung in der Leber berichtet wurde.

*In vivo*-Tests in Mäusen zur Induktion von Mikronuklei in Knochenmark und peripheren Blutzellen erbrachten nach i.p. Applikation (bis zu 140 mg/kg) schwach positive Resultate, ebenso eine (allerdings mit methodischen Mängeln behaftete) Untersuchung zur Induktion von SCE im Knochenmark von Mäusen (i.p. Dosen bis zu 18 mg/kg). In Ratten und Mäusen konnte bei oralen Dosen bis zum Bereich der LD50 keine Induktion von UDS beobachtet werden. Das Auftreten von DNA-Brüchen wurden nach i.p. Gabe von 74 mg/kg (LD50) in der Rattenleber berichtet (ATSDR, 1998; BUA, 1994; ECB, 2001; Montelius, 2002).

Weitere, in den genannten Übersichtsarbeiten nicht berücksichtigte Studien:

In einer Studie von Vock et al. (1996) wurden Ratten oral gegenüber MDA exponiert (3-malig bis zu 50 mg/kg) und eine dosisabhängige DNA-Adduktbildung in der Leber festgestellt.

Eine weitere Studie zu DNA-schädigender Wirkung (Induktion von Strangbrüchen) in verschiedenen Organen der Maus nach oraler Exposition (250 mg/kg) berichtet positive Effekte in Magen, Leber, Niere, Blase, Lunge und Gehirn, jedoch nicht in Colon oder Knochenmark (Sasaki et al., 1999a,b). Von Robbiano et al. (1999) wurde keine DNA-Fragmentierung oder Mikronuklei-Bildung in Nierenzellen der Ratte beobachtet (orale Exposition, einmalig 415 mg/kg oder 3-mal 277 mg/kg). Suzuki et al. (2005) exponierten Ratten einmalig gegenüber MDA in Dosen bis zu 400 mg/kg oral oder i.p. (Pfad unklar). Untersucht wurde die Induktion von Mikronuklei im peripheren Blut (negativ) und in Hepatozyten (ein Labor: negativ, zweites Labor: positiv bei der höchsten Dosis, bei erhöhter Mortalität, nur 2 Tiere untersucht).

## **5 Kanzerogenität**

### **5.1 Tierexperimentelle Daten**

#### **in vitro**

MDA verursachte in BHK21/C13-Hamsterzellen keine morphologische Zelltransformation (Trueman, 1982).

#### **inhalativ**

Studien zu inhalativer Exposition liegen nicht vor.

**oral**

In einer Studie des NTP (1983; Weisburger et al., 1984; Lamb et al., 1986) wurden F344-Ratten und B6C3F1-Mäuse (je 50 pro Geschlecht und Dosis) über 103 Wochen gegenüber MDA Hydrochlorid im Trinkwasser in Konzentrationen von 150 bzw. 300 mg/l (umgerechnet auf MDA) exponiert. Die aufgenommenen Körperdosen waren 9 bzw. 16 mg/kg • d bei männlichen Ratten, 10 bzw. 19 mg/kg • d bei weiblichen Ratten, 25 bzw. 58 mg/kg • d bei männlichen Mäusen und 19 bzw. 43 mg/kg • d bei weiblichen Mäusen. Als Kontrollen dienten Tiere, die Trinkwasser erhielten, das mit HCl auf den gleichen pH wie die Lösung der Testsubstanz bei den exponierten Tieren eingestellt wurde.

Die aufgenommene Trinkwassermenge bei den exponierten Gruppen war, außer bei männlichen Mäusen, vermindert. Bei der höheren Dosis waren die Körpergewichtsentwicklung weiblicher Ratten und Mäusen beiderlei Geschlechts verzögert, bei männlichen Mäusen der höheren Dosis war die Lebensdauer vermindert. Klinische Symptome traten während der Behandlung nicht auf.

Sowohl bei Ratten als auch bei Mäusen wurde eine krebserzeugende Wirkung in Schilddrüse und Leber beobachtet.

Bei männlichen Ratten war die Inzidenz für follikuläre Karzinome der Schilddrüse in der Hochdosisgruppe signifikant vermehrt (Kontrolle: 0/49; 150 mg/l: 0/47; 300 mg/l: 7/48), bei weiblichen Tiere waren entsprechende Adenome signifikant vermehrt (Kontrolle: 0/47; 150 mg/l: 2/47; 300 mg/l: 17/48). Bei den weiblichen Tieren der Hochdosisgruppe wurden auch nichtkanzerogene Effekte in der Schilddrüse beobachtet (follikuläre Zysten).

In männlichen Ratten traten signifikant und dosisabhängig vermehrt neoplastische Leberknoten (Kontrolle: 1/50; 150 mg/l: 12/50; 300 mg/l: 25/50) sowie je 1 Karzinom pro Dosisgruppe auf, bei weiblichen Tieren war für die neoplastischen Leberknoten keine klare Dosisabhängigkeit ersichtlich (Kontrolle: 4/50; 150 mg/l: 8/50; 300 mg/l: 8/50). Karzinome der Leber traten bei weiblichen Ratten nicht auf.

Männliche Mäuse zeigten signifikant erhöhte Inzidenzen für follikuläre Adenome der Schilddrüse (Kontrolle: 0/47; 150 mg/l: 3/49; 300 mg/l: 16/49), ebenso die weiblichen Tiere (Kontrolle: 0/50; 150 mg/l: 1/47; 300 mg/l: 13/50). In der Leber waren signifikante Effekte erhöhte Raten an hepatozellulären Karzinomen (Männchen: Kontrolle: 10/49; 150 mg/l: 33/50; 300 mg/l: 29/50; Weibchen: Kontrolle: 1/50; 150 mg/l: 6/50; 300 mg/l: 11/50) und Adenomen (nur Weibchen: Kontrolle: 3/50; 150 mg/l: 9/50; 300 mg/l: 12/50).

Weitere statistisch signifikante kanzerogene Effekte waren:

- Phäochromozytome bei männlichen Mäusen (Kontrolle: 2/48; 150 mg/l: 12/49; 300 mg/l: 14/49)
- Alveoläre/Bronchiale Adenome bei weiblichen Mäusen (Kontrolle: 1/50; 150 mg/l: 2/50; 300 mg/l: 6/49)
- Maligne Lymphome bei weiblichen Mäusen (Kontrolle: 13/50; 150 mg/l: 28/50; 300 mg/l: 29/50).

Außerdem wurden ein seltenes Gallengangsadenom bei einer männlichen Ratten der Hochdosisgruppe und drei Blasenpapillome (2 bei der niedrigen Dosis, 1 bei der höheren Dosis) beobachtet.

MDA wirkte bei oraler Exposition von Ratten nach Initiation mit N-bis(2-hydroxypropyl)nitrosamin oder aufeinander folgend gegebenen verschiedenen Nitrosaminen in der Schilddrüse tumorpromovierend, nicht aber in Leber, Niere und Blase (in der Mehrzahl der Studien nach Initiation mit verschiedenen Nitrosaminen). Zusätzlich zu diesen Untersuchungen liegen mehrere ältere Studien vor, die aber wegen methodischer Mängel oder ungenügender Dokumentation als nicht bewertungsrelevant erachtet werden (ATSDR, 1998; BUA, 1994; ECB, 2001).

### **dermal**

Eine Studie zu dermaler Exposition von C3Hf/BD-Mäusen berichtet nach 24-monatiger Exposition (3-mal pro Woche) gegenüber 5,3-21,3 mg/kg • d eine dosisabhängig vermehrte Inzidenz für Lebertumore. Nachdem dieser Stamm besonders empfindlich hinsichtlich der Bildung von Lebertumoren reagiert, bedürfen die Befunde der Absicherung (ATSDR, 1998).

## **5.2 Humandaten**

Die vorliegenden Humandaten zu beruflicher Exposition gegenüber MDA sind generell in ihrer Aussagkraft beschränkt durch methodische Mängel (kleine Kollektive, fehlende Expositionsbestimmung, keine Berücksichtigung von Störfaktoren, u.a. Mischexposition). Aus diesen Studien lässt sich eine Assoziation zwischen der MDA-Exposition am Arbeitsplatz und dem vermehrten Auftreten von Blasenkrebs vermuten, was aber durch weitere Studien abzusichern wäre (ATSDR, 1998; ECB, 2001; Montelius, 2002).

## **6 Vorherrschendes Wirkprinzip der Kanzerogenität**

Der Mechanismus der kanzerogenen Wirkung von MDA ist noch nicht geklärt. Hinsichtlich der vermehrten Bildung von Schilddrüsentumoren in Ratten und Mäusen können sowohl gentoxische als auch andere Mechanismen vermutet werden, so bei der Ratte eine sekundäre Stimulierung der Schilddrüse nach Induktion der Glukuronidierung in der Leber. Die Effekte einer MDA-Exposition auf den Status der Schilddrüsenhormone sind aber derzeit noch nicht untersucht.

Unklar ist bislang auch der Mechanismus der Induktion der Lebertumore bei Ratten und Mäusen. Für diesen Endpunkt kommen sowohl primäre Gentoxizität als auch sekundär gentoxisch (und dann krebserzeugend) wirkende Prozesse sowie Toxizität in Betracht. Einen Beitrag sekundärer Gentoxizität legen die Untersuchungen von Kwon et al. (2008) nahe, die in einer Toxikogenomics-Studie an Mäusen eine höhere Expression von Genen beobachteten, die mit oxidativem Stress, Zellzyklusregulierung und Apoptose assoziiert werden.

Denkbar ist für beide Lokalisationen auch ein Zusammenwirken der verschiedenen Mechanismen (ECB, 2001; CSTEE; 2000; SCOEL, 2004).

## **7 Ableitung der ERB**

### **7.1 Expositions – Risiko – Beziehung bei krebserzeugender Wirkung**

#### **7.1.1 Krebslokalisierung mit Humanrelevanz und quantifizierbaren Krebsinzidenzen**

In der Studie des NTP (1983; Weisburger et al., 1984; Lamb et al., 1986) wurden neben den relevanten Leber- und Schilddrüsentumoren weitere Tumore in anderen Organen, jedoch nur in jeweils einer Spezies beobachtet (Phäochromozytome bei männlichen Mäusen, alveoläre/bronchiale Adenome und maligne Lymphome bei weiblichen Mäusen). Diese Lokalisationen werden nicht weiter betrachtet. Bei Ratten traten vereinzelt seltene Tumore auf, so ein Gallengangsadenom und drei Blasenpapillome. Aufgrund der geringen Inzidenz werden diese Lokalisationen ebenfalls nicht weiter betrachtet.

Angesichts der Diskussion zum Wirkmechanismus (vgl. Kap. 8) wird bei konservativer Vorgehensweise von einer genotoxischen Wirkung und damit von einem linearen Dosis-Wirkungsverlauf in den Niedrigdosisbereich (ohne Schwellenwert) ausgegangen. Dies kann mit Hinblick auf mögliche modulierende Faktoren unter Umständen eine Überschätzung des Krebsrisikos bedeuten. Andererseits könnte das Risiko auch unterschätzt werden, weil die Risikoabschätzung auf Basis der Tumoren mit den höchsten Inzidenzen vorgenommen wird, aber zwei Tumorlokalisierungen (nicht notwendigerweise beim gleichen Tier) beobachtet wurden.

#### **Schilddrüse**

MDA verursachte in den Studien des NTP in Ratten und Mäusen beiderlei Geschlechts Schilddrüsentumoren. Qualitativ werden Befunde zu Schilddrüsentumoren bei Tieren als übertragbar auf den Menschen angesehen. Allerdings liegen deutliche Unterschiede in der Physiologie bei Ratte und Mensch vor, die grosse Unsicherheiten in der quantitativen Übertragbarkeit bedingen (AGS, 2008; CSTE, 2000; Capen et al., 1999; ECB, 2001; SCOEL, 2004). Aus diesem Grund werden die Schilddrüsentumoren bei Ratten nicht für eine Risikoabschätzung herangezogen.

Die in männlichen Mäusen durch MDA Hydrochlorid-Exposition signifikant vermehrt auftretenden Schilddrüsenadenome wiesen folgende Inzidenzen auf:

Kontrolle: 0/47

150 mg/l: 3/49

300 mg/l: 16/49

Die Trinkwasserkonzentrationen wurden von den Autoren bereits auf MDA umgerechnet und entsprechen aufgenommenen Körperdosen von 25 bzw. 58 mg/kg • d MDA. Damit zeigen sich im Vergleich zu den Lebertumoren bei der Ratte niedrigere Inzidenzen bei höheren Körperdosen (auch unter Berücksichtigung der entsprechenden Scalingfaktoren).

Aus diesem Grund ist die Tumorlokalisierung Leber bei der Ratte der kritische Parameter zur Abschätzung des Krebsrisikos nach MDA-Exposition.

## Leber

MDA verursachte in den Studien des NTP in Ratten und Mäusen beiderlei Geschlechts Lebertumoren. Wegen der beobachteten hepatotoxischen Effekte bei Humanexposition wird die Relevanz für den Menschen hervorgehoben (CSTEE, 2000). Die Lebertumoren bei B6C3F1-Mäusen werden jedoch angesichts der Unsicherheiten der quantitativen Übertragbarkeit auf den Menschen (vgl. AGS, 2008) hier nicht für eine Risikoabschätzung herangezogen. Anders als bei den nichtkanzerogenen Effekten in der Leber, wo Weibchen empfindlicher reagierten (Dugas et al., 2001), erwiesen sich hinsichtlich der Kanzerogenität männliche Tiere als empfindlicher im Vergleich zu weiblichen Tieren. Möglicherweise ist dies eine Folge einer höheren kovalenten Bindung von Metaboliten in der Leber, wie sie von Dugas et al. (2001) berichtet wird.

Die in männlichen Ratten durch MDA Hydrochlorid-Exposition signifikant vermehrt auftretenden neoplastischen Leberknoten plus die 2 Karzinome (je 1 pro Dosisgruppe) wiesen aufsummiert folgende Inzidenzen auf:

Kontrolle: 1/50

150 mg/l: 13/50

300 mg/l: 26/50

Die Trinkwasserkonzentrationen wurden von den Autoren bereits von MDA Hydrochlorid auf MDA umgerechnet und entsprechen aufgenommenen Körperdosen von 9 bzw. 16 mg/kg • d MDA. Unter Berücksichtigung eines scaling-Faktors von 4 (Ratte/Mensch, vgl. AGS, 2008) entsprechen diese Körperdosen humanäquivalenten Dosen von 2,25 bzw. 4 mg/kg • d bei lebenslanger kontinuierlicher Exposition. Hieraus ergeben sich korrespondierende Luftkonzentrationen am Arbeitsplatz von 44,8 bzw. 79,6 mg/m<sup>3</sup> (Annahmen: 70 kg Gewicht, 10 m<sup>3</sup> Atemvolumen/8 h, 5 d/w, 48 von 52 Wochen pro Jahr über 40 von 75 Jahren).

Bei der hier zugrunde gelegten Methodik werden angesichts der höheren Tumorinzidenzen in der Leber (Ratte) bei niedrigeren Körperdosen im Vergleich zur Tumorraten in der Schilddrüse (Maus) die Lebertumore als Grundlage der Risikoabschätzung herangezogen. Im Folgenden wird gemäß der Methodik in AGS (2008) zunächst eine Benchmark-Dosis-Modellierung auf einem Risikoniveau von 10% Tumorinzidenz durchgeführt (BMD10), wenn auch die Studie nur 3 Datenpunkte (Kontrolle plus 2 Dosisgruppen) aufweist. Eine lineare Extrapolation in den Niedrigdosisbereich steht im Einklang mit dem vermuteten Wirkmechanismus (direkte Wechselwirkung reaktiver Metabolite mit der DNA relevanter Zielorgane).

Zur Anpassung des polynomischen Regressionsmodells an die experimentellen Daten wurde die Benchmark-Dose-Software (BMDS) Version 2.0.0.33 der U.S. EPA verwendet. Die Kurvenanpassung erfolgte mittels der maximum likelihood-Methode. Zur Berücksichtigung der Hintergrundinzidenz wurde die extra risk-Methode gewählt.

Mehrere Modelle (u.a. Multistage-Cancer) lieferten zwar eine optisch gute Anpassung an die Versuchsdaten (vgl. Abbildung 2, Beispiel 2-parametriges Multistage-Cancer-Modell), jedoch war die mathematische Anpassung nicht erfolgreich ( $\beta$ -Parameter an Grenzen), so dass die ausgewiesenen Ergebnisse für die BMD10- und BMDL10-Werte von 21,4 und 10,1 mg/m<sup>3</sup> (Multistage-Cancer) nicht verlässlich sind. Die Details dieser Benchmark-Dosis-Modellierung finden sich in

Tabelle 1 des Anhangs. Logistic-, Probit- und Quantal-Modell ermöglichten zwar die mathematische Modellierung, jedoch mit niedrigen p-Werten und (auch optisch) unbefriedigender Anpassung an die Versuchsdaten mit einem angenommenen deutlichen sublinearen Verlauf und entsprechend höheren BMD-Werten (Modellierung nicht gezeigt).

Nachdem die Benchmark-Modellierung dieses Datensatzes nicht erfolgreich war, wird gemäß AGS (2008) eine Risikoabschätzung mit Hilfe der T25-Methode vorgenommen. Die Angaben der T25 in ECB (2001) in Höhe von 8,4 mg/kg • d für MDA Hydrochlorid bzw. 6,2 mg/kg • d basieren auf den Daten von Dybing et al. (1997), aus denen aber nicht hervorgeht, auf Basis welcher Versuchsdaten die Berechnung erfolgte. Aus diesem Grund erfolgt eine Neuberechnung.

Die T25 wird berechnet nach:

$$T25 = C \cdot \frac{\text{Bezugsinzidenz (0,25)}}{(\text{Inzidenz bei C} - \text{Inzidenz Kontrolle})} \cdot \frac{(1 - \text{Inzidenz Kontrolle})}{1}$$

wobei C die niedrigste signifikante tumorigene Konzentration oder Dosis ist.

Für die Lebertumore bei Ratten (Inzidenzen: Kontrolle: 1/50; Dosisgruppe 9 mg/kg • d mit humanäquivalenter Konzentration von 44,8 mg/m<sup>3</sup>: 13/50) ergibt sich eine hT25<sup>2</sup> von 45,7 mg/m<sup>3</sup>.

Entsprechend wären in linearer Extrapolation Konzentrationen von

731 µg/m<sup>3</sup> für ein Risiko von 4:1.000,

73 µg/m<sup>3</sup> für ein Risiko von 4:10.000 und

7,3 µg/m<sup>3</sup> für ein Risiko von 4:100.000

abzuleiten.

Aus der (optisch befriedigenden) BMD-Modellierung lässt sich ein leicht sublinearer Verlauf ablesen. Dies lässt die Möglichkeit eines gewissen Verstärkereffekts zytotoxischer Effekte zusätzlich zur gentoxischen Wirkung offen. Allerdings sollte dieser Effekt nach den Beobachtungen von Dugas et al. (2001) nicht die Gentoxizität dominieren: die Autoren berichten eine erhöhte Empfindlichkeit von Weibchen gegenüber nichtkanzerogenen Effekten in der Leber im Vergleich zu männlichen Tiere, während ja bei der kanzerogenen Wirkung Männchen empfindlicher als Weibchen reagierten.

Dennoch wird im Folgenden auch die Verwendung der Methodik für sublineare Verläufe („Knickfunktion“) gemäß AGS (2008, Anhang 10.2) dargestellt, letztlich aber nicht für die Risikobewertung verwendet.

Es ergibt sich folgende Basis für die Festlegung des Knickpunktes für einen angenommenen sublinearen Dosis-Wirkungsverlauf:

Der LOAEL für Hepatotoxizität (nicht kanzerogen) ist 9 mg/kg • d, umgerechnet auf eine humanäquivalente Konzentration ergäbe sich für den „Schwellenwert“ für verstärkende (nicht kanzerogene) Lebereffekte (Faktor 3 zur Abschätzung des NOAEL aus dem LOAEL, Interspeziesfaktor 10 (4 x 2,5), Intraspeziesfaktor 5;

<sup>2</sup> hT25 = humanäquivalenter T25

Annahmen: 70 kg Gewicht, 10 m<sup>3</sup> Atemvolumen/8 h) eine Konzentration von 0,42 mg/m<sup>3</sup>.

In linearer Extrapolation aus der hT25 wäre diesem Wert ein Risiko von 0,0023 (ca. 2:1000) zuzuordnen und gemäß der Methodik in AGS (2008) um den Faktor von 10 zu reduzieren (2:10000).

Aus den Punkten 420/0,0002 und 457000/0.25 ergibt sich für den Bereich von 420-45700 mg/m<sup>3</sup> folgende Geradengleichung:  $y = 1,8127 \cdot 10^6 x + 383,75$

Unter Berücksichtigung der Knickfunktion ergäben sich Konzentrationen von 1109 µg/m<sup>3</sup> für ein Risiko von 4:1.000, bzw. 456 µg/m<sup>3</sup> für ein Risiko von 4:10.000 und 84 µg/m<sup>3</sup> für ein Risiko von 4:100.000. Die graphische Darstellung dieser Ableitung ist im Anhang, Abbildung 2 wiedergegeben.

Nachdem der Beitrag der zytotoxischen Wirkungen aber nicht abzuschätzen ist (vgl. EU, 2001; CSTEE, 2000), wird in konservativer Vorgehensweise einer linearen Extrapolation in den Niedrigdosisbereich der Vorzug gegeben.

#### *Dermale Exposition:*

Eine Umrechnung der Krebsrisikoabschätzung ist aus den Versuchsdaten von NTP (1983; Weisburger et al., 1984; Lamb et al., 1986) prinzipiell möglich. Es wurde auch eine lineare Korrelation zwischen Hautbedeckung bei beruflich Exponierten und der inneren Belastung beobachtet. Jedoch bestehen beträchtliche Unsicherheiten hinsichtlich des Anteils dermalen Exposition an der Gesamtaufnahme infolge von Luftbelastungen.

#### 7.1.2 ERB / Risikoquantifizierungen und OEL anderer Organisationen

MDA wurde von verschiedenen Organisationen als gentoxisch wirkend angesehen (EU, 2001, CSTEE, 2000; Montelius, 2002; SCOEL, 2004).

Es liegt eine Risikoabschätzung des DECOS (2000) auf Basis der NTP-Studie vor. Die Autoren addierten dabei, getrennt für Ratten und Mäuse, die Tumorzinidenzen bei der höheren Expositionsgruppe (jeweils abzüglich der Kontrollinzidenzen) und rechneten unter Berücksichtigung der anteiligen Expositionsdauer an der Lebenszeit linear auf Risiken pro mg/kg • d um. Es ergaben sich Risikoschätzer von  $8,5 \cdot 10^{-2}$  pro mg/kg • d für Ratten und  $1,5 \cdot 10^{-2}$  mg/kg • d für Mäuse. Der Wert für Ratten wurde als Basis für eine Umrechnung in eine humanäquivalente Konzentration am Arbeitsplatz in Höhe von  $4,3 \cdot 10^{-3}$  µg/m<sup>3</sup> verwendet. Dies entspricht einem Risiko von 4:100.000 bei beruflicher Exposition (40 Jahre) gegenüber 9 µg/m<sup>3</sup>, praktisch identisch zu den im Folgenden abgeleiteten Risikozahlen. Bei dieser Vorgehensweise werden bei beiden Spezies die Tumorkolonisationen einbezogen, welche hinsichtlich ihrer quantitativen Übertragbarkeit auf den Menschen mit großen Unsicherheiten behaftet sind (Schilddrüse bei der Ratten, Leber bei der B6C3F1-Maus).

Eine weitere Risikoschätzung der CEPA (2005) basiert auf den Inzidenzen für Lebertumore bei männlichen Mäusen und ist aus den genannten Gründen ebenfalls ungeeignet.

ECB (2001) übernahm die von Dybing et al. (1997) ermittelte T25 in Höhe von 6,2 mg/kg • d für die Risikobewertung kanzerogener Effekte und berücksichtigte bei der Festlegung des „point of departure“ (POD) für Margins of Exposure (MOE) einen

Faktor von 10 für eine erhöhte Empfindlichkeit des Menschen (hT25: 0,62 mg/kg• d). Nach der Umrechnung auf die Exposition am Arbeitsplatz ergab sich so eine humanäquivalente Luftbelastung von 12 mg/m<sup>3</sup>.

CSTEE (2000) lehnten eine Risikobewertung vor allem mit folgenden Begründungen ab: a) MDA ist sensibilisierend und gentoxisch, b) bei Inhalation besteht keine Korrelation zwischen innerer Belastung und Luftbelastung und c) die Pfad-zu-Pfad-Extrapolation beinhaltet zu große Unsicherheiten.

Nach Montelius (2002) sind die vorliegenden Humandaten unzureichend um einen kritischen Effekt auszuweisen. Angesichts der Einschätzung als gentoxische Substanz und der krebserzeugenden Wirkung im Tierexperiment sei MDA als krebserzeugend für den Menschen zu betrachten. Weder für die krebserzeugende Wirkung noch für andere Endpunkte wird eine Expositionsrisikobeziehung abgeleitet. Es erfolgt kein Grenzwertvorschlag für den Arbeitsplatz.

Auch SCOEL (2004) leitet keinen Arbeitsplatzgrenzwert ab und führt keine quantitative Krebsrisikoberechnung durch. Die Autoren verweisen auf ein mögliches Blasenkrebsrisiko aufgrund einer beruflichen Exposition gegenüber MDA, zu dessen Quantifizierung jedoch die tierexperimentellen Befunde ungeeignet sind.

## 7.2 Relevante systemische oder lokale nicht krebserzeugende Wirkung

Die kritische nichtkanzerogene Toxizität bei oraler Exposition sind bei Ratten Effekte auf Schilddrüse und Leber (in mehreren Studien follikuläre Hyperplasie und/oder Hypertrophie der Schilddrüse, LOAEL 7,5 mg/kg • d, kein NOAEL; Leberschäden: erhöhte Serumwerte für leberspezifische Transaminasen, hepatozelluläre Degeneration sowie nekrotische Veränderungen und Hyperplasien des Gallenganges, LOAEL 9 mg/kg • d, kein NOAEL). In der Methodik zur Ableitung von AGW-Werten ([http://www.baua.de/nr\\_16808/de/Themen-von-A-Z/Gefahrstoffe/TRGS/pdf/TRGS-901.pdf](http://www.baua.de/nr_16808/de/Themen-von-A-Z/Gefahrstoffe/TRGS/pdf/TRGS-901.pdf)) ist ein NOAEL als POD als obligatorisch vorgesehen. Zu Vergleichszwecken wird aber hier mangels eines NOAEL ausgehend vom LOAEL eine Dosis abgeschätzt, nach der mit hinreichender Wahrscheinlichkeit keine nichtkanzerogenen Effekte zu erwarten sind. Umgerechnet auf eine humanäquivalente Konzentration ergibt sich für den „Schwellenwert“ für (nichtkanzerogene) Lebereffekte unter der Verwendung von Defaultfaktoren (Faktor 3 zur Abschätzung des NOAEL aus dem LOAEL, Interspeziesfaktor 4, Intraspeziesfaktor 5; Annahmen: 70 kg Gewicht, 10 m<sup>3</sup> Atemvolumen/8 h) eine Konzentration von 1,05 mg/m<sup>3</sup>.

Dieser Wert („Schwellenwert“ für die kritische nicht krebserzeugende Wirkung) ist somit etwas höher als der oben abgeleitete Toleranzwert auf Basis krebserzeugender Wirkungen.

Der von ACGIH (2001) abgeleitete TLV-Wert für den Arbeitsplatz in Höhe von 0,8 mg/m<sup>3</sup> wurde auf Basis nichtkanzerogener Effekte bei beruflicher Exposition abgeleitet (keine Effekte bei Exposition gegenüber 2,5-3,3 mg/m<sup>3</sup>). In Polen wurde, offensichtlich ebenfalls auf Basis der nichtkanzerogenen Effekte von MDA, ein Arbeitsplatzgrenzwert in gleicher Höhe abgeleitet (Golofit-Szymczak, 2005). Diese Veröffentlichung lag zur Zeit der Abfassung nicht im Original vor, so dass Details nicht bekannt sind.



Reproduktionstoxische Wirkungen können mangels geeigneter Studien nicht in die Betrachtung einbezogen werden.

### 7.3 Schlussfolgerung

Angesichts der nichtkanzerogenen Lebereffekte in Ratten bei der niedrigeren Dosis der Kanzerogenitätsstudie des NTP und des leicht sublinearen Verlaufes der modellierten Dosis-Wirkungsbeziehung erscheint ein Beitrag zytotoxischer Wirkungen auf die Leber, zusätzlich zur Gentoxizität, bei der Entstehung der Lebertumore zwar möglich, ist jedoch nicht quantifizierbar. Gegen einen relevanten Einfluss zytotoxischer Effekte spricht unter anderem die Beobachtung, dass männliche Ratten sensibler für kanzerogene Effekte sind, während bei weiblichen Ratten eine höhere Empfindlichkeit für nichtkanzerogene Effekte beobachtet wurde.

Es wird bei der Ableitung der Risikozahlen in konservativer Vorgehensweise eine lineare Risikoabschätzung auf Basis der T25 zugrunde gelegt.

Danach lauten die Risikozahlen (zusätzliches nominelles Risiko bei inhalativer Exposition über Arbeitslebensdauer, an Krebs zu erkranken):

Risiko	Konzentration
“Point of Departure”: hT25 (Leberkrebs; NTP 1983; Ratte)	45,7 mg/m <sup>3</sup>
4:1.000 (Toleranzrisiko)	731 µg/m <sup>3</sup>
<i>Schwellenwert Arbeitsplatz (für nicht krebserzeugende Wirkung):</i>	1 mg/m <sup>3</sup>
4:10.000 (Akzeptanzrisiko bis 2013)	73 µg/m <sup>3</sup>
4:100.000 (Akzeptanzrisiko nach 2013, spätestens 2018)	7,3 µg/m <sup>3</sup>

Damit richtet sich die maximal tolerierte Konzentration am Arbeitsplatz nach dem Toleranzrisiko (Krebs), was auch wegen dem nur wenig darüber liegenden geschätzten Schwellenwert für nicht krebserzeugende Wirkung nicht überschritten werden sollte.

#### *Unsicherheiten der Krebsrisikoabschätzung:*

Zwar ist in Studien nachgewiesen, dass sich die Beziehung zwischen interner und externer Exposition nicht über den gesamten Bereich von Expositionshöhen linear verhält. Für den hier betrachteten Konzentrationsbereich ist jedoch von einer linearen Beziehung auszugehen.

Eine wesentliche Unsicherheit dieser Risikoabschätzung besteht in der Pfad-zu-Pfad-Übertragung von Ergebnissen bei oraler Exposition auf den Inhalationspfad. Dugas et al. (2001) zeigten, dass bei Ratten, speziell bei männlichen Tieren, nach oraler Exposition ein relevanter first-pass-Effekt vorliegt. Nachdem bei männlichen Tieren auch eine stärkere kovalente Bindung in der Leber im Vergleich zu Weibchen

beobachtet wurde, scheint die Leber bei oraler Exposition tendenziell empfindlicher gegenüber im Vergleich zu anderen Organen. Bei inhalativer Exposition würde die Leber erst nach systemischer Zirkulation erreicht und deshalb wären auch andere Zielorgane von Relevanz. Experimentelle Vergleichsdaten für den inhalativen Pfad liegen jedoch nicht vor, so dass die Studie des NTP (1983; Weisburger et al., 1984; Lamb et al., 1986) trotz dieser Unsicherheiten zur Risikoabschätzung herangezogen werden muss. Diese Vorgehensweise deckt sich mit der anderer Organisationen (z.B. CEPA, 2005; DECOS, 2000; EU, 2001). Zusätzlich besteht die Unsicherheit, dass auf Basis der gewählten Methodik die zusätzliche Tumorlokalisierung Schilddrüse (im Tier) sowie andere, beim Menschen vermutete Zielorgane (speziell die Blase bei strukturverwandten Substanzen, vgl. SCOEL, 2004), quantitativ nicht in die Ableitung der Risikozahlen eingehen.

Wegen der Konzeption dieser Studie mit nur zwei Dosisgruppen führen kleine Variationen der Beobachtungen bereits zu Änderungen des Charakters der Dosis-Wirkungsbeziehung: Die tatsächlich beobachteten Versuchsdaten für die Lebertumoren (Kontrolle: 1/50, 150 mg/l: 12/50; 300 mg/l: 25/50) zeigen einen leicht sublinearen Verlauf. Angesichts der nichtkanzerogenen Lebereffekte bereits bei der niedrigeren Expositionskonzentration könnte ein nicht ausschließlich gentoxischer Mechanismus unterstellt und entsprechend eine Knickfunktion zur Ableitung der Risikozahlen verwendet werden (siehe Ableitung unter Abschnitt 9.2.1). Bei nur geringer Verschiebung der Tumorinzidenzen (angenommen: Kontrolle: 0/50 (-1), 150 mg/l: 12/50; 300 mg/l: 24/50 (-1)) ergäbe sich aber bereits eine lineare Dosis-Wirkungsbeziehung als wahrscheinlichste Modellierung, welche in Einklang mit einem primär gentoxischen Mechanismus stünde.

Aufgrund des Polymorphismus der N-Acetyltransferasen (NAT) können beträchtliche innerartliche Sensitivitätsunterschiede (schnelle und langsame Acetylierer) bestehen. Prinzipiell ist die Acetylierung als Entgiftungsschritt zu sehen, doch nur wenn beim bifunktionellen MDA beide N-Atome acetyliert werden. Bei Rattenstämmen waren jedoch schnelle Acetylierer hinsichtlich hepatotoxischer Effekte empfindlicher als der langsame Phänotyp, was mit der Bioaktivierung der zweiten Aminogruppe des N-Acetyl-MDA-Moleküls durch eine Hydroxylierung (Giftung) erklärt wurde. Ob NAT-Polymorphismen beim Menschen zu einer erhöhten oder erniedrigten Sensitivität bei MDA-Exposition führen, ist bislang noch nicht geklärt. Nachgewiesen ist nur, daß neben der Muttersubstanz mehr N-Monoacetyl-MDA als N,N'-Diacetyl-MDA im Urin gefunden wird.

Als weitere Unsicherheit ist anzuführen, dass relevante nichtkanzerogene Endpunkte (Reproduktionstoxizität inkl. Fruchtschädigung, Sensibilisierung) nicht ausreichend untersucht sind, so dass dafür zum jetzigen Zeitpunkt keine Wirkungsschwellen abzuleiten sind.

### **Dermale Aufnahme:**

Ein Umrechnung der Krebsrisikoabschätzung ist aus den Versuchsdaten von NTP (1983; Weisburger et al., 1984; Lamb et al., 1986) prinzipiell möglich. Es wurde auch eine lineare Korrelation zwischen Hautbedeckung bei beruflich Exponierten und der inneren Belastung beobachtet. Jedoch bestehen beträchtliche Unsicherheiten hinsichtlich des Anteils dermalen Exposition an der Gesamtaufnahme infolge von Luftbelastungen (Greim und Lehnert, 2007; SCOEL, 2004)..

### **Biologisches Monitoring:**

Eine verlässliche Korrelation der äußeren und inneren Belastung ist nach Greim und Lehnert (2007) nicht möglich, weder für die MDA-Ausscheidung mit dem Urin (als Maß für eine aktuelle Belastung) noch für Hämoglobinaddukte (als Maß für eine kumulative Belastung). Aus diesem Grund wurde kein EKA-Wert für MDA abgeleitet, sondern auf Basis von (unveröffentlichten) Erfahrungen bei beruflichem Umgang ein Biologischer Leitwert (BLW) aufgestellt.

## **8 Literatur**

- [1] ACGIH, American Conference of Governmental Industrial Hygienists: 4,4'-Methylene Dianiline. In: ACGIH: Documentation of the TLVs and BEIs with Other Worldwide Occupational Exposure Values. Cincinnati, OH 2001
- [2] AGS, Ausschuss für Gefahrstoffe: Leitfaden zur Quantifizierung von Krebsrisikozahlen bei Exposition gegenüber krebserzeugenden Gefahrstoffen für die Grenzwertsetzung am Arbeitsplatz. Bundesanstalt für Arbeitsschutz und Arbeitsmedizin, Dortmund/Berlin/Dresden 2008
- [3] ATSDR, Agency for Toxic Substances and Disease Registry: Toxicological Profile for Methylenedianiline. U.S. Department of Health and Human Services; Public Health Service 1998
- [4] Brouwer, D.H.; Hoogendoorn, L.; Bos, P.M.J.; Boogaard, P.J.; van Hemmen, J.J.: Proposal for the assessment of quantitative dermal exposure limits in occupational environments: Part 2: Feasibility study for application in an exposure scenario for MDA by two different dermal exposure sampling methods. Occupational and Environmental Medicine 55 (1998), 805-811
- [5] Brunmark, P.; Bruze, M.; Skerfving, S.; Skarping, G: Biomonitoring of 4,4'-methylene dianiline by measurement in hydrolysed urine and plasma after epicutaneous exposure in humans. International Archives of Occupational and Environmental Health 67 (1995), 2, 95-100
- [6] BUA, Beratergremium für umweltrelevante Altstoffe: 4,4'-Methyldianilin, BUA-Stoffbericht 132S. Hirzel Verlag, Stuttgart, 1994
- [7] Capen, C. C.; Dybing, E.; Rice, J. M.; Wilbourn, J. D.: IARC Scientific Publication No. 147. Species Differences in Thyroid, Kidney and Urinary Bladder Carcinogenesis. IARC, International Agency for Research on Cancer, Lyon, 1999
- [8] CEPA, California Environmental Protection Agency: Technical Support Document for Describing Available Cancer Potency Factors. California Environmental Protection Agency, Office of Environmental Health Hazard Assessment. Air Toxicology and Epidemiology Section, 2005, online: [http://www.oehha.org/air/hot\\_spots/pdf/May2005Hotspots.pdf](http://www.oehha.org/air/hot_spots/pdf/May2005Hotspots.pdf), Abfragedatum November 2008

- [9] CSTEE (Scientific Committee on Toxicity, Ecotoxicity and the Environment): Opinion on the results of Risk Assessment of 4,4'-Methylenedianiline (C<sub>13</sub>H<sub>14</sub>N<sub>2</sub>) [MDA], CAS N° : 101-77-9, EINECS N°: 202-974-4 carried out in the framework of Council Regulation (EEC) 793/93 on the evaluation and control of the risks of existing substances - Opinion expressed at the 15th CSTEE plenary meeting, Brussels, 5th of May 2000, online: [http://ec.europa.eu/health/ph\\_risk/committees/sct/docshhtml/sct\\_out58\\_en.htm](http://ec.europa.eu/health/ph_risk/committees/sct/docshhtml/sct_out58_en.htm), Abfrage: November 2008
- [10] DECOS, Dutch Expert Committee on Occupational Standards: Health-Based Calculated Occupational Cancer Risk Values. 4,4'-Methylene Dianiline. (MDA). No. 2000/10OSH. Health Council of the Netherlands (Gezondheidsraad) 2000
- [11] Dugas, T.R.; Santa Cruz, V.; Liu, H.; Kanz, M.F.: Evaluation of the gender differences in 4,4'-methylenedianiline toxicity, distribution, and effects on biliary parameters. *Journal of Toxicology & Environmental Health. Part A* 62 (2001), 6, 467-483
- [12] EC, European Commission: European Chemical Substances Information System, 2008, online: <http://ecb.jrc.ec.europa.eu/esis/index.php?PGM=esi&DEPUIIS=autre>, Abfragedatum November 2008
- [13] ECB, European Chemicals Bureau: European Union Risk Assessment Report: 4,4'-Methylenedianiline. 1<sup>st</sup> Priority List, Vol. 9. EUR 19727 EN. European Commission. Joint Research Centre 2001
- [14] Fortina, A.B.; Piaserico, S.; Larese, F.; Recchia, G.P.; Corradin, M.T.; Gennaro, F.; Carrabba, E.; Peserico, A.: Diaminodiphenylmethane (DDM): frequency of sensitization, clinical relevance and concomitant positive reactions. *Contact Dermatitis* 44 (2001), 5, 283-288
- [15] Greim H.: Diphenylmethan-4,4'-diisocyanat (MDI), polymeres MDI. In:
- [16] Gesundheitsschädliche Arbeitsstoffe, Toxikologisch-arbeitsmedizinische Begründungen von MAK-Werten, Loseblattsammlung, 45. Lfg. DFG, Deutsche Forschungsgemeinschaft, WILEY-VCH Verlag, Weinheim, 2008
- [17] Golofit-Szymczak, M.: [4,4'-Methylenedianiline: Documentation of maximum admissible values for occupational exposure]. *Podstawy i Metody Oceny Srodowiska Pracy* 44 (2005), 2, 131-161, , zitiert nach CIS-Bulletin, online: [www.oit.org/dyn/cisdoc/cisdoc\\_bull.bulletin?p\\_vol=200604EE751-1000](http://www.oit.org/dyn/cisdoc/cisdoc_bull.bulletin?p_vol=200604EE751-1000), Abfragedatum November 2008
- [18] Greim, H.; Lehnert, G.: Biologische Arbeitsstoff-Toleranz-Werte (BAT-Werte) und Expositionsäquivalente für krebserzeugende Arbeitsstoffe (EKA), Arbeitsmedizinisch-toxikologische Begründungen. 7. Lfg., DFG, Deutsche Forschungsgemeinschaft, VCH Verlag Weinheim 1994
- [19] Greim, H.; Lehnert, G.: Biologische Arbeitsstoff-Toleranz-Werte (BAT-Werte) und Expositionsäquivalente für krebserzeugende Arbeitsstoffe (EKA), Arbeitsmedizinisch-toxikologische Begründungen. 14. Lfg., DFG, Deutsche Forschungsgemeinschaft, VCH Verlag Weinheim 2007

- [20] Griem, P.; Hassauer, M.; Kalberlah, F.; Oltmanns, J.; Scheibner, J.; Schneider, K.; Schuhmacher-Wolz, U.: Quantitative Unterschiede im Fremdstoffmetabolismus zwischen Versuchstier und Mensch. Schriftenreihe der Bundesanstalt für Arbeitsschutz und Arbeitsmedizin. Fb 963. Wirtschaftsverlag NW, Bremerhaven 2002
- [21] Hein, D.W.: Molecular genetics and function of NAT1 and NAT2: role in aromatic amine metabolism and carcinogenesis. *Mutation Research - Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis* 506-507 (2002), 65-77
- [22] Henschler, D.: Gesundheitsschädliche Arbeitsstoffe, Toxikologisch-arbeitsmedizinische Begründungen von MAK-Werten, Loseblattsammlung, 13. Lfg.. DFG, Deutsche Forschungsgemeinschaft, VCH Verlag Weinheim 1987
- [23] Isaksson, M.; Gruvberger, B.: Patch test sensitization to methylchloroisothiazolinone + methylisothiazolinone and 4,4'-diaminodiphenylmethane. *Contact Dermatitis* 48 (2003), 1, 53-54
- [24] Kääriä, K.; Hirvonen, A.; Norppa, H.; Vainio, H.; Rosenberg, C.; Piirilä, P.: Exposure to 4,4'-methylenediphenyl diisocyanate (MDI) during moulding of rigid polyurethane foam: determination of airborne MDI and urinary 4,4'-methylenedianiline (MDA). *The Analyst* 126 (2001), 4, 476-479
- [25] Kenyon, S.H.; Bhattacharyya, J.; Benson, C.J.; Carmichael, P.L.: Percutaneous penetration and genotoxicity of 4,4'-methylenedianiline through rat and human skin in vitro. *Toxicology* 196 (2004), 1-2, 65-75
- [26] Kwon, S.B.; Park, J.S.; Yi, J.Y.; Hwang, J.W.; Kim, M.; Lee, M.O.; Lee, B.H.; Kim, H.L.; Kim, J.H.; Chung, H.; Kong, G.; Kang, K.S.; Yoon, B.I.: Time- and dose-based gene expression profiles produced by a bile-duct-damaging chemical, 4,4'-methylene dianiline, in mouse liver in an acute phase. *Toxicologic Pathology* 36 (2008), 5, 660-673
- [27] Lamb, J.C.; Huff, J.E.; Haseman, J.K.; Murthy, A.S.; Lilja, H.: Carcinogenesis studies of 4,4'-methylenedianiline dihydrochloride given in drinking water to F344/N rats and B6C3F1 mice. *Journal of Toxicology and Environmental Health* 18 (1986), 325-337, zitiert nach ECB, 2001
- [28] Martelli, A.; Carrozzino, R.; Mattioli, F.; Brambilla, G.: DNA damage induced by 4,4'-methylenedianiline in primary cultures of hepatocytes and thyreocytes from rats and humans. *Toxicology and Applied Pharmacology* 182 (2002), 3, 219-225
- [29] Matsuoka, A.; Haishima, Y.; Hasegawa, C.; Matsuda, Y.; Tsuchiya, T.: Organic-solvent extraction of model biomaterials for use in the in vitro chromosome aberration test. *Journal of Biomedical Materials Research, Part A* 86 (2008), 1, 13-22
- [30] Montelius, J.: Consensus Report for 4,4'-Methylenedianiline (MDA). In: Montelius, J.: Scientific Basis for Swedish Occupational Standards XXIII. Arbete och Hälsa. Arbetsmiljöinstitutet, Solna, Sweden 2002, 1-14
- [31] Morgott, D.; Cornish, H.; Weber, W.: Metabolism and Toxicogenetics of Methylenedianiline Report. NTIS/OTS0514789, submitted by International Isocyanate Institute, 16.08.1982

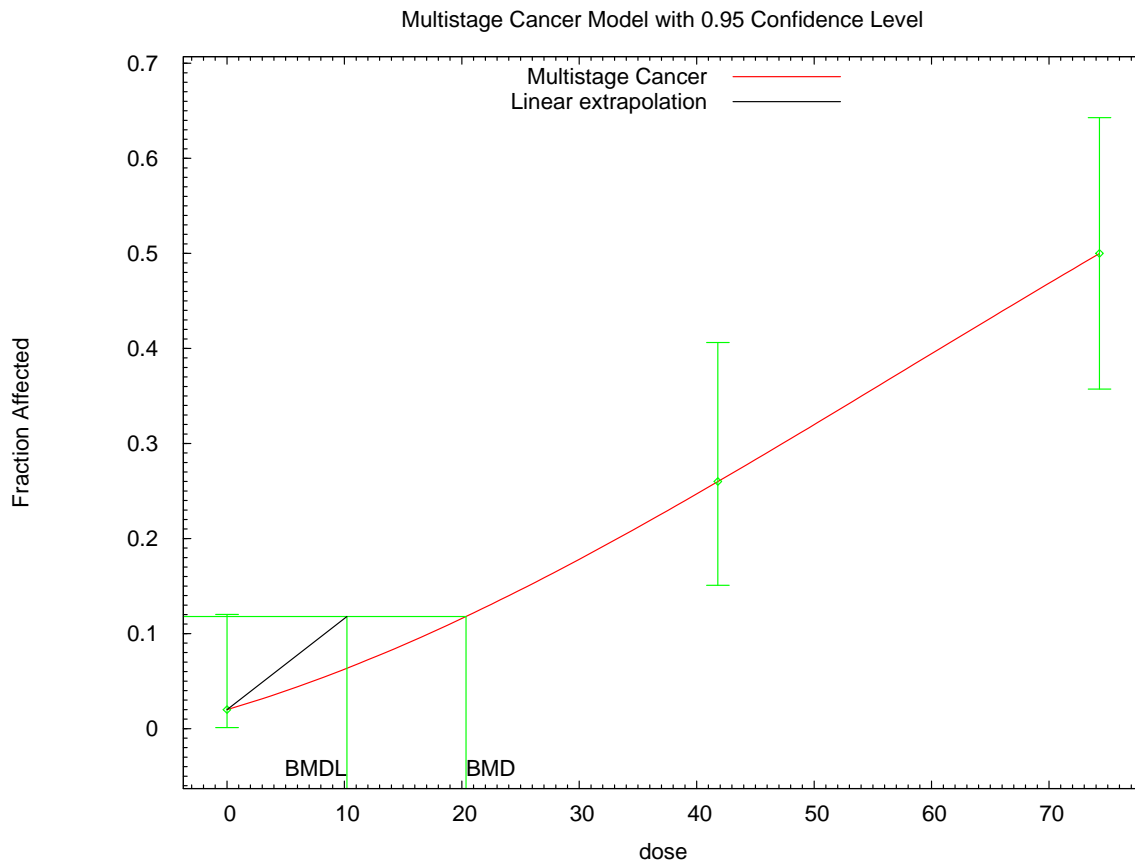
- [32] NTP. National Toxicology Program: Carcinogenesis Studies of 4,4'-Methylenedianiline Dihydrochloride (CAS No. 13552-44-8) in F344/N Rats and B6C3F1 Mice (Drinking Water Studies). Technical Report Series No 248. NIH. Publication No. 83-2504. Research Triangle Park, NC, zitiert nach ECB, 2001
- [33] OECD, Organisation for Economic Co-Operation and Development: Summary Risk Assessment Report 4,4'-Methylenedianiline. SIDS, Screening Information Data Set for High Production Volume Chemicals (2002). <http://www.inchem.org/documents/sids/sids/101779.pdf>, Abfragedatum November 2008
- [34] Pauluhn, J.; Leng, G.: Concentration-dependence of biomarkers of exposure of methylenediphenyl-diisocyanate following acute inhalation exposure of rats. Toxicology 185 (2003), 1-2, 35-48
- [35] Robbiano, L.; Carrozzino, R.; Puglia, C.P.; Corbu, C.; Brambilla, G.: Correlation between induction of DNA fragmentation and micronuclei formation in kidney cells from rats and humans and tissue-specific carcinogenic activity. Toxicology and Applied Pharmacology 161 (1999), 2, 153-159
- [36] Sasaki, Y.F.; Fujikawa, K.; Ishida, K.; Kawamura, N.; Nishikawa, Y.; Ohta, S.; Sato, hM.; Madarame, H.; Ueno, S.; Susa, N.; Matsusaka, N.; Tsuda, S.: Erratum to: The alkaline single cell gel electrophoresis assay with mouse multiple organs: results with 30 aromatic amines evaluated by the IARC and U.S. NTP. Mutation Research - Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis 444 (1999a), 1, 249-255
- [37] Sasaki, Y.F.; Fujikawa, K.; Ishida, K.; Kawamura, N.; Nishikawa, Y.; Ohta, S.; Sato, hM.; Madarame, H.; Ueno, S.; Susa, N.; Matsusaka, N.; Tsuda, S.: The alkaline single cell gel electrophoresis assay with mouse multiple organs: results with 30 aromatic amines evaluated by the IARC and U.S. NTP. Mutation Research - Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis 440 (1999b), 1, 1-18
- [38] SCOEL, Scientific Committee on Occupational Exposure Limits: Recommendation from the Scientific Committee on Occupational Exposure Limits for 4,4'-methylenedianiline. SCOEL/SUM/107. Nov. 2004
- [39] [http://ec.europa.eu/employment\\_social/health\\_safety/docs/sum\\_107.pdf](http://ec.europa.eu/employment_social/health_safety/docs/sum_107.pdf), Abfragedatum November 2008
- [40] Suzuki, H.; Ikeda, N.; Kobayashi, K.; Terashima, Y.; Shimada, Y.; Suzuki, T.; Hagiwara, T.; Hatakeyama, S.; Nagaoka, K.; Yoshida, J.; Saito, Y.; Tanaka, J.; Hayashi, M.: Evaluation of liver and peripheral blood micronucleus assays with 9 chemicals using young rats. A study by the Collaborative Study Group for the Micronucleus Test (CSGMT)/Japanese Environmental Mutagen Society (JEMS)-Mammalian Mutagenicity Study Group (MMS). Mutation Research - Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis 583 (2005), 2, 133-145
- [41] Trueman, R. W.: An Examination of 4,4'-Diaminodiphenylmethane Using the Mammalian Cell Transformation Test. NTIS/OTS0511861 submitted by Imperial Chemical Industries PLC, Macclesfield, Cheshire, UK, 1.10.1982

- [42] Vock; E.H.; Hoymann; H.G.; Heinrich; U.; Lutz; W.K.: 32P-Postlabeling of a DNA adduct derived from 4,4'-methylenedianiline, in the olfactory epithelium of rats exposed by inhalation to 4,4'-methylenediphenyl diisocyanate. *Carcinogenesis*, 17 (1996), 5, 1069-1073
- [43] Weisburger, E.K.; Murthy, A.S.; Lilja, H.S.; Lamb, J.C.: Neoplastic response of F344 rats and B6C3F1 mice to the polymer and dyestuff intermediates 4,4'-methylenebis(N,N-dimethyl)-benzenamine, 4,4'-oxydianiline, and 4,4'-methylenedianiline. *Journal of the National Cancer Institute* 72 (1984), 1457-1463, zitiert nach ECB, 2001
- [44] Wellner, T.; Lüersen, L.; Schaller, K.H.; Angerer, J.; Drexler, H.; Korinth, G.: Percutaneous absorption of aromatic amines - a contribution for human health risk assessment. *Food and Chemical Toxicology* 46 (2008), 6, 1960-1968
- [45] Zhang, X.; Doll, M.A.; Walraven, J.M.; Arteel, G.E.; Hein, D.W.: 4,4'-methylenedianiline-induced hepatotoxicity is modified by N-acetyltransferase 2 (NAT2) acetylator polymorphism in the rat. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 316 (2006), 1, 289-294
- [46] Zhong, B.Z.; Depree, G.J.; Siegel, P.D.: Differentiation of the mechanism of micronuclei induced by cysteine and glutathione conjugates of methylenedi-p-phenyl diisocyanate from that of 4,4'-methylenedianiline. *Mutation Research - Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis* 497 (2001), 1-2, 29-37

**Anlage**

**Detailberechnungen und Detailtabellen**

**Abbildung 1:** Modellierung der Dosis-Wirkungsbeziehung für die Inzidenz der Lebertumore bei männlichen Ratten (Anzahl tumortragender Tiere) nach MDA-Exposition (NTP (1983; Weisburger et al., 1984; Lamb et al., 1986)) (Multistage-Cancer Modell).



11:50 11/27 2008

**Tabelle 1:** Details der Benchmark-Dosis-Modellierung (Multistage-Cancer-Modell) der Daten aus NTP (1983; Weisburger et al., 1984; Lamb et al., 1986)

```

=====
Multistage Cancer Model. (Version: 1.7; Date: 05/16/2008)
Input Data File: F:\Fobig\WP51\BAuA-ERB\MDA\BMD\MuIMDASet.(d)
Gnuplot Plotting File: F:\Fobig\WP51\BAuA-ERB\MDA\BMD\MuIMDASet.plt
Thu Nov 27 11:53:23 2008
=====
    
```

BMDS Model Run

~~~~~



The form of the probability function is:

$$P[\text{response}] = \text{background} + (1 - \text{background}) * [1 - \text{EXP}(-\beta_1 * \text{dose} - \beta_2 * \text{dose}^2)]$$

The parameter betas are restricted to be positive

Dependent variable = Inzidenz

Independent variable = DOSE

Total number of observations = 3

Total number of records with missing values = 0

Total number of parameters in model = 3

Total number of specified parameters = 0

Degree of polynomial = 2

Maximum number of iterations = 250

Relative Function Convergence has been set to: 2.22045e-016

Parameter Convergence has been set to: 1.49012e-008

\*\*\*\* We are sorry but Relative Function and Parameter Convergence \*\*\*\*  
 \*\*\*\* are currently unavailable in this model. Please keep checking \*\*\*\*  
 \*\*\*\* the web sight for model updates which will eventually \*\*\*\*  
 \*\*\*\* incorporate these convergence criterion. Default values used. \*\*\*\*

#### Default Initial Parameter Values

Background = 0.02

Beta(1) = 0.00300781

Beta(2) = 8.88121e-005

#### Asymptotic Correlation Matrix of Parameter Estimates

|            | Background | Beta(1) | Beta(2) |
|------------|------------|---------|---------|
| Background | 1          | -0.48   | 0.3     |
| Beta(1)    | -0.48      | 1       | -0.96   |
| Beta(2)    | 0.3        | -0.96   | 1       |

#### Parameter Estimates

##### 95.0% Wald Confidence Interval

| Variable   | Estimate     | Std. Err. | Lower Conf. Limit | Upper Conf. Limit |
|------------|--------------|-----------|-------------------|-------------------|
| Background | 0.02         | *         | *                 | *                 |
| Beta(1)    | 0.00300781   | *         | *                 | *                 |
| Beta(2)    | 8.88121e-005 | *         | *                 | *                 |

\* - Indicates that this value is not calculated.

Error in computing chi-square; returning 2

#### Analysis of Deviance Table

| Model         | Log(likelihood) | # Param's | Deviance Test | d.f. | P-value |
|---------------|-----------------|-----------|---------------|------|---------|
| Full model    | -68.1721        | 3         |               |      |         |
| Fitted model  | -68.1721        | 3         | 0             | 0    | NA      |
| Reduced model | -86.9873        | 1         | 37.6303       | 2    | <.0001  |

AIC: 142.344

Goodness of Fit  
Scaled

| Dose    | Est._Prob. | Expected | Observed | Size | Residual |
|---------|------------|----------|----------|------|----------|
| 0.0000  | 0.0200     | 1.000    | 1.000    | 50   | -0.000   |
| 41.8000 | 0.2600     | 13.000   | 13.000   | 50   | 0.000    |
| 74.3000 | 0.5200     | 26.000   | 26.000   | 50   | -0.000   |

Chi<sup>2</sup> = 0.00 d.f. = 0 P-value = NA

Benchmark Dose Computation

Specified effect = 0.1

Risk Type = Extra risk

Confidence level = 0.95

BMD = 21.4471

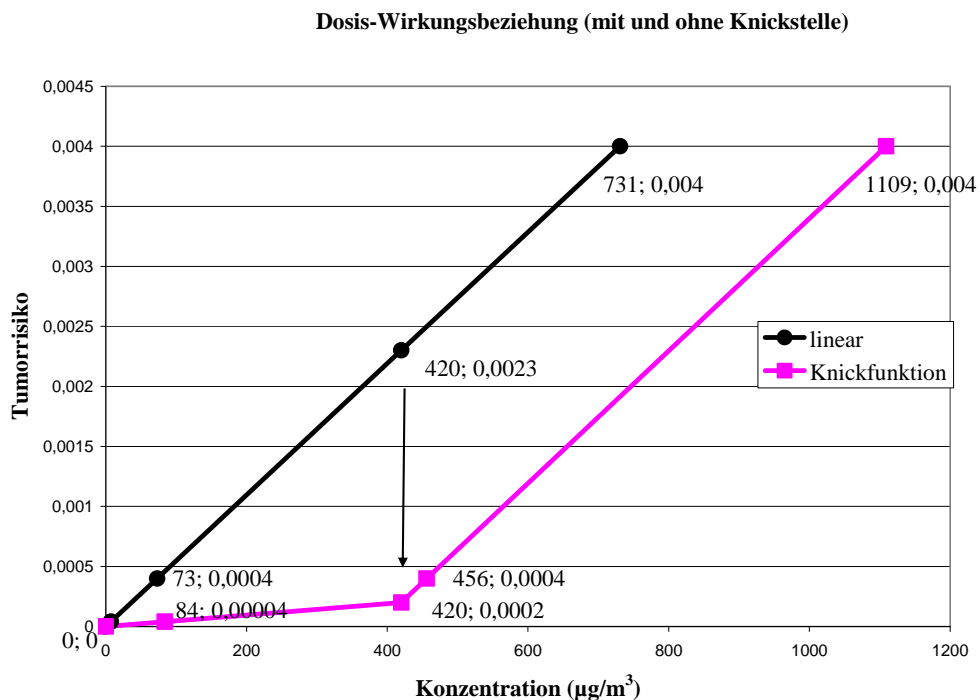
BMDL = 10.0561

BMDU = 32.1416

Taken together, (10.0561, 32.1416) is a 90 % two-sided confidence interval for the BMD

Multistage Cancer Slope Factor = 0.00994423

**Abbildung 2:** Dosis-Wirkungsbeziehungen für die Ableitung der Risikozahlen im Niedrigdosisbereich (linear und Knickfunktion). Der Schnittpunkt der Geraden ist die T25 bei  $x = 45700 \mu\text{g}/\text{m}^3$  und  $y = 0,25$ .



**Anlage-MDA: Berechnungen****1 Berechnung der Luftkonzentration am Arbeitsplatz aus den Trinkwasserkonzentrationen der Kanzerogenitätsstudie bei Ratten**

|                                                                                                                                                                                 |                                                                                                            |                                                                                                           |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Trinkwasserkonzentration</b>                                                                                                                                                 | 150 mg/l                                                                                                   | 300 mg/l                                                                                                  |
| <b>Körperdosis (Autorenangabe)</b>                                                                                                                                              | 9 mg/kg • d                                                                                                | 16 mg/kg • d                                                                                              |
| <b>Humanäquivalente Körperdosis (Scalingfaktor: 4, Ratte)</b>                                                                                                                   | 2,25 mg/kg • d                                                                                             | 4 mg/kg • d                                                                                               |
| <b>Umrechnung auf Luftkonzentration am Arbeitsplatz (70 kg Gewicht, 10 m<sup>3</sup> Atemvolumen pro 8 h, Exposition an 5 d/w, 48 von 52 Wochen pro Jahr, 40 von 75 Jahren)</b> | $\frac{2,25 \cdot 70 \cdot 7 \cdot 52 \cdot 75}{10 \cdot 5 \cdot 48 \cdot 40} =$<br>44,8 mg/m <sup>3</sup> | $\frac{4,0 \cdot 70 \cdot 7 \cdot 52 \cdot 75}{10 \cdot 5 \cdot 48 \cdot 40} =$<br>79,6 mg/m <sup>3</sup> |

**2 Berechnung der T25**

Die T25 wird berechnet nach:

$$T25 = C \cdot \frac{\text{Bezugsinzidenz (0,25)}}{(\text{Inzidenz bei C} - \text{Inzidenz Kontrolle})} \cdot \frac{(1 - \text{Inzidenz Kontrolle})}{1}$$

wobei C die niedrigste Konzentration oder Dosis ist, bei der die Tumorinzidenz signifikant erhöht ist.

Für die Lebertumore bei Ratten (Inzidenzen: Kontrolle: 1/50, 2%; Dosisgruppe 9 mg/kg • d mit humanäquivalenter Konzentration von 44,8 mg/m<sup>3</sup>: 13/50, 26%) ergibt sich:

$$T25 = 44,8 \text{ mg/m}^3 \cdot \frac{0,25}{(0,26 - 0,02)} \cdot \frac{(1 - 0,02)}{1} = 45,7 \text{ mg/m}^3$$

Entsprechend wären in linearer Extrapolation Konzentrationen von  
 731 µg/m<sup>3</sup> für ein Risiko von 4:1.000,  
 73 µg/m<sup>3</sup> für ein Risiko von 4:10.000 und  
 7,3 µg/m<sup>3</sup> für ein Risiko von 4:100.000  
 abzuleiten.