

1,2,3-Trichlorpropan
(CAS-Nr.: 96-18-4)

Grundlage für die Bewertung von 1,2,3-Trichlorpropan ist im wesentlichen die MAK-Begründung aus dem Jahre 1993 [1].

1,2,3-Trichlorpropan (TCP) wirkt reizend an Haut und Auge [1].

Genotoxizität:

TCP wirkt im Ames-Test an *S. typhimurium* und im Maus-Lymphom-Test in Gegenwart von S9-Mix mutagen. Positiv verliefen auch ein Chromosomenschädigungstest an CHO-Zellen, ein Mikronucleus-Test in vitro und SCE-Tests an V 79- und an CHO-Zellen, jeweils in Gegenwart von S9-Mix. Im DNA-Schädigungs- und im UDS-Test an Hepatozyten in vitro war TCP inaktiv [1].

Ein weiterer Mikronucleus-Test in vitro an isolierten Humanlymphozyten mit TCP-Konzentrationen von 2-8 mM (295-1180 µg/ml) verlief mit und ohne Zusatz von S9-Mix negativ [2].

Im Comet-Assay an isolierten Humanlymphozyten zeigte TCP bei Konzentrationen von 2-4 mM (295-590 µg/ml) in Gegenwart von S9-Mix eine deutliche DNA-schädigende Wirkung; ohne S9-Mix war der Effekt viel schwächer ausgeprägt [2].

Negativ verliefen ein UDS-Test in vivo an Rattenhepatozyten, ein Dominant-Letal-Test an der Ratte sowie ein Mikronucleus-Test in vivo am Knochenmark der Maus. Nach einmaliger i.p.-Applikation konnten bei der Ratte DNA-Fragmentierungen in Hepatozyten und in Nierenzellen durch alkalische Elution nachgewiesen werden [1].

Im Rahmen einer DNA-Bindungsstudie erhielten männliche F344/N-Ratten und männliche B6C3F₁-Mäuse eine einmalige Gabe von mit ¹⁴C-markiertem TCP in Höhe der in der NTP-Kanzerogenesestudie eingesetzten jeweils niedrigsten und höchsten Dosierung (Ratte: 3 und 30 mg/kg KGW; Maus: 6 und 60 mg/kg KGW) mit der Schlundsonde. 6 Stunden nach der Applikation wurden die Tiere getötet und die DNA-gebundene Radioaktivität in verschiedenen Organen gemessen.

Die höchsten Radioaktivitätsgehalte wurden bei der Ratte in Leber, Niere, Pankreas, Drüsenmagen, Zunge und Vormagen und bei der Maus in Drüsenmagen, Leber, Vormagen, Niere festgestellt. Die Adduktkonzentrationen in den Organen waren dosisabhängig.

Zur Isolierung und Identifizierung der DNA-Addukte erhielten männliche Ratten eine einmalige i.p.-Gabe von 300 mg TCP/kg KGW und wurden 8 Stunden p.a. getötet. In der Leber-DNA konnte ein Hauptaddukt nachgewiesen und als S-[1-(Hydroxymethyl)-2-(N⁷-guanyl)-ethyl]-glutathion identifiziert. Dieses Addukt wurde früher bereits in Studien mit der strukturverwandten Substanz 1,2-Dibrom-3-chlorpropan nachgewiesen.

Die Tatsache, dass keine klare Korrelation zwischen dem Ausmaß der Adduktbildung in den Organen und der organbezogenen tumorigenen Wirkung von TCP erkennbar ist, weist darauf hin, dass zusätzlich zur DNA-Bindung noch weitere Faktoren zur Tumorbildung durch TCP beitragen [3].

Weiterhin wurde der Einfluss des Applikationsweges auf die DNA-Adduktbildung in Vormagen, Leber, Drüsenmagen und Niere untersucht. Dazu erhielten männliche B6C3F₁-Mäuse über einen Zeitraum von 1 Woche jeweils 6 mg ¹⁴C-TCP/kg KGW/Tag per Schlundsonde oder mit dem Trinkwasser. Während die Adduktkonzentrationen in Vormagen und Drüsenmagen gleichblieben, war die Adduktbildung in Leber und Niere nach Schlundsonden-Gabe etwa 1,5 bis zweimal so hoch wie nach Trinkwasser-Gabe.

Außerdem wurde die Zellproliferation in den 4 Organen nach 2-wöchiger Verabreichung von je 6 mg TCP/kg KGW/Tag an 5 Tagen/Woche per Schlundsonde bzw. mit dem Trinkwasser an männlichen B6C3F₁-Mäusen untersucht. Nach Schlundsonden-Gabe war die Proliferationsrate in Vormagen, Niere und Leber ca. dreimal so hoch wie nach Verabreichung mit dem Trinkwasser [4].

Zur Überprüfung der Bedeutung der gefundenen DNA-Addukte für die Tumorbildung wurde aus in Paraffin eingebetteten Gewebeproben von Vormagen-Tumoren von B6C3F₁-Mäusen aus der NTP-Kanzerogenesestudie die ras-Gen-DNA isoliert und auf Mutationen hin untersucht. Bei 10 von 16 Tumoren fanden sich H-ras oder K-ras aktivierende Mutationen; in 6 Tumoren lag eine Mutation am Codon 61 des H-ras Gens vor mit Transversion von AT nach TA an der 2. Base (in 5 von 6 Fällen) und in den restlichen 4 Tumoren wurde eine K-ras Mutation am Codon 13 mit Transversion von GC nach CG an der 1. Base nachgewiesen. Da diese Mutationen nicht mit dem misskodierenden Eigenschaften des TCP-DNA-Hauptadduktes im Einklang stehen, müssen für die Tumorbildung andere Faktoren verantwortlich sein. Vorläufige Befunde weisen darauf hin, dass die Schlundsonden-Gabe von in Maisöl gelöstem TCP zur Bildung der DNA-Ethenoaddukte 1,N⁶-Ethenodesoxyadenosin (1,N⁶-Etheno dA) und 3,N⁴-Ethenodesoxycytidin (3,N⁴-Etheno dC) im Vormagen führt, wahrscheinlich bedingt durch eine lokale Glutathiondepletion gefolgt von Lipidperoxidation [5].

Zur weiteren Abklärung des Mechanismus der Tumorbildung durch TCP erhielten Fischer 344-Ratten über 1 Woche tägliche Gaben von 30 mg TCP/kg KGW per Schlundsonde (in Maisöl) oder mit dem Trinkwasser. Anschließend wurden in der Leber- und Vormagen-DNA die Ethenoaddukte 1,N⁶-Etheno dA, 3,N⁴-Etheno dC sowie 8-Hydroxydesoxyguanosin gemessen. Die Gehalte an diesen Addukten waren nur nach Schlundsonden-Gabe deutlich erhöht [6].

Kanzerogenität:

Bereits in einer 90-Tage-Studie an Ratten mit Schlundsondenapplikation treten bei einer Dosis von 59 mg/kg KGW/Tag vereinzelt präneoplastische Veränderungen (zelluläre Vormagen-Hyperplasie) und Tumoren (bronchioalveoläres Adenom, Mamma-Adenokarzinom, Vormagen-Papillom) auf [1].

Es liegt eine Kanzerogenesestudie des NTP an F344-N-Ratten und B6C3F₁-Mäusen vor. Dabei erhielten je 50-52 männliche und weibliche Ratten 0; 3; 10 bzw. 30 mg TCP/kg KGW/ Tag an 5 Tagen wöchentlich über einen Zeitraum von maximal 103-104 Wochen mit der Magensonde. Wegen tumorbedingter stark erhöhter Mortalität mussten die Tiere der höchsten Dosisgruppen vorzeitig getötet werden (Ratte/30 mg/kg: 76 (m) bzw. 65 (w) Wochen; Maus/60 mg/kg: 79 (m) bzw. 73 (w) Wochen; Maus/20 mg/kg (m/w): 88 Wochen).

Ab 10 mg/kg war die Körpergewichtsentwicklung verzögert und die Mortalität erhöht, bedingt durch die Entstehung TCP-induzierter Tumoren. Bereits ab 3 mg/kg war die Inzidenz von Tumoren der Mundhöhle (m/w), des Vormagens (m/w), der Niere (m/w), des Pankreas (m), der Vorhautdrüse (m), der Klitorisdrüse (w) und der Brustdrüse (w) teilweise deutlich dosisabhängig erhöht [1].

Je 60 männliche und weibliche Mäuse erhielten 0; 6; 20 bzw. 60 mg TCP/kg KGW/Tag an 5 Tagen wöchentlich über maximal 103-104 Wochen mit der Magensonde.

Ab 6 mg/kg war die Mortalität tumorbedingt stark erhöht und die Körpergewichtsentwicklung der Männchen verzögert, die der Weibchen erst ab 20 mg/kg. Die Tumorzinzenzen in Vormagen (m/w), Leber (m/w), Harderscher Drüse (m/w), Mundhöhle (w) und Uterus/Endometrium (w) waren teilweise bereits ab 6 mg/kg deutlich dosisabhängig erhöht [1].

Reproduktionstoxizität:

Im Rahmen einer Fertilitätsstudie wurden jeweils 10 männliche und 20 weibliche Sprague-Dawley-Ratten/Dosisgruppe gegenüber TCP-Dampf-Konzentrationen von 0 (Luft-Kontrolle und unbehandelte Kontrolle); 28,2 bzw. 92,0 mg/m³ für 6 Stunden täglich an 5 Tagen/Woche für insgesamt 10 Wochen vor der Paarung und anschließend für weitere 40 Tage während der Paarung exponiert. Die Weibchen wurden bis zum 14. Tag der Trächtigkeit weiter exponiert.

Bei den Tieren der 92 mg/m³-Gruppe war die Körpergewichtsentwicklung teilweise signifikant verzögert. Bei den mit TCP behandelten weiblichen Tieren wurde bei Expositionsende eine Gelbfärbung des Anogenitalbereichs festgestellt. Der Paarungsindex der Weibchen der 92 mg/m³-Gruppe war im Vergleich zur Luft-Kontrolle signifikant verringert, nicht jedoch im Vergleich zu den unbehandelten Tieren. Der Paarungsindex der Männchen war in allen Gruppen recht niedrig. In beiden mit TCP behandelten Gruppen lagen der Fertilitätsindex beider Geschlechter und die Wurfgröße sowie Geschlechtsverhältnis, Überlebensindex und Körpergewichtsentwicklung der Jungtiere im Bereich der Luft-Kontrolle. Die erhöhte durchschnittliche Zahl totgeborener Jungtiere in beiden TCP-Gruppen war jeweils auf eine erhöhte Mortalität in jeweils nur 1 Wurf zurückzuführen und daher ohne Relevanz. Die histologische Untersuchung der Reproduktionsorgane der Elterntiere blieb ohne Befund [1].

In einem nachgeschobenen Versuch unter gleichen Versuchsbedingungen aber mit TCP-Dampf-Konzentrationen von 3,0 bzw. 9,0 mg/m³ wurde keine substanzbedingte Veränderung von Paarungs- und Fertilitätsindex sowie von Wurf- und Jungtierparametern festgestellt. TCP-bedingte histopathologische Veränderungen an den Reproduktionsorganen traten bei den Elterntieren nicht auf [1].

Bei trächtigen Sprague-Dawley-Ratten führte die i.p.-Gabe von je 37 mg TCP/kg KGW/Tag vom 1.-15. Tag der Trächtigkeit zu maternaltoxischen Effekten (veränderte Organgewichte; keine näheren Angaben), die bei der Sektion der Tiere am 21. Tag der Trächtigkeit festgestellt wurden. Es ergaben sich keine Anzeichen für eine embryo- oder fetotoxische bzw. teratogene Wirkung von TCP [1].

Im Rahmen einer subchronischen Toxizitätsstudie mit Schlundsonden-Applikation von TCP an B6C3F₁-Mäusen beiderlei Geschlechts wurden bei der Zwischensektion nach 60 Tagen bei den Tieren der 125 mg/kg-Gruppe verminderte Hoden- und Nebenhodengewichte registriert. Bei Versuchsende nach 120 Tagen waren diese Organgewichte unauffällig, allerdings wiesen die Tiere der 125- und 250 mg/kg-Gruppe deutlich verminderte Spermienzahlen auf [7].

Es liegt eine neuere Studie an Swiss CD-1 Mäusen vor, die gemäß dem „Continuous Breeding Protocol“ durchgeführt wurde. Dazu erhielten männliche und weibliche Tiere tägliche Gaben von je 0 (Maisöl-Kontrolle); 30; 60 bzw. 120 mg TCP/kg KGW mit der Schlundsonde über einen Zeitraum von 7 Tagen vor der Paarung bis zum 98. Tag der Paarungszeit. Anschließend wurden die F₀-Tiere der Kontrollgruppe und der 120 mg/kg-Gruppe untereinander gepaart um festzustellen, welches Geschlecht primär durch die TCP-Behandlung betroffen ist.

TCP führte in dieser Studie ab 60 mg/kg KGW/Tag zu einer dosis- und zeitabhängigen Beeinträchtigung der Fertilität. Folgende Endpunkte waren betroffen:

- Anzahl der Würfe pro Zuchtpaar signifikant vermindert bei 120 mg/kg.
- Anzahl der lebenden Jungtiere signifikant vermindert in den 2. bis 5. Würfen bei 120 mg/kg und im 5. Wurf bei 60 mg/kg.
- Dosisabhängige Verschiebung des Geschlechterverhältnisses (weniger männliche als weibliche lebende Jungtiere). Dieser Befund ist insofern interessant, als er für das strukturverwandte 1,2-Dibrom-3-chlorpropan (DBCP) bei den Nachkommen exponierter Männer beschrieben ist.

Bei den Elterntieren der F₀-Generation blieb das Körpergewicht unbeeinflusst; bei beiden mit 120 mg/kg behandelten Geschlechtern war das Lebergewicht erhöht, bei den weiblichen Mäusen waren das Nieren- und das Ovargewicht erhöht und bei den männlichen das Nebenhodengewicht verringert. Die aus den Nebenhoden untersuchten Spermien waren nach Anzahl, Aussehen und Form sowie Motilität unverändert. Histologisch wurden mit Ausnahme von Amyloidose der Ovarien bei 4 von 10 mit der höchsten Dosis behandelten Mäusen (Kontrolle: 0 von 13) keine abnormen Befunde erhoben.

Paarungs- und Fertilitätsindex waren in dem Studienteil, in dem behandelte mit unbehandelten Mäusen gepaart wurden (nur 120 mg/kg, „Cross-Over-Design“) nicht verändert. Die mit TCP behandelten weiblichen Mäuse hatten weniger lebende Jungtiere als die Kontrollen, und die männlichen Jungtiere waren leichter als die weiblichen. Auch wurde (vergleiche oben) ein Trend zu weniger männlichen als weiblichen Jungtieren festgestellt.

Die Autoren der Studie vertreten die Auffassung, dass durch die Überkreuz-Verpaarung nicht eindeutig festgestellt werden konnte, welches der beiden Geschlechter die Ursache der verminderten Fertilität war. Sie beurteilen die Toxizität für das weibliche Geschlecht allerdings höher im Vergleich zu den männlichen, weil die Ovarien, nicht aber die Hoden, schwerer waren.

Bei der Verpaarung von F₁-Mäusen, die ebenso wie die Elterntiere mit 120 mg/kg behandelt waren, waren der Paarungs- und der Fertilitätsindex vermindert. Soweit in dieser Studie geprüft, waren die lebend geborenen Jungtiere normal entwickelt.

Diese Studie hat somit gezeigt, dass die Fertilität der Mäuse, die mit Dosen von >60 mg/kg per os langfristig behandelt wurden, nachteilig beeinflusst wurde. Der Mechanismus der Schädigung bleibt offen, und es ist fraglich, inwieweit neben den weiblichen auch die männlichen Mäuse ursächlich beteiligt sind. Die fertilitätshemmende Wirkung wäre wahrscheinlich nicht gefunden worden, wenn man nur eine Standardprüfung durchgeführt hätte, die üblicherweise nach dem 1. Wurf beendet wird. Die Autoren dieser Studie betonen, dass eine mehrwöchige Behandlung (beider Geschlechter) erforderlich war, bevor die nachteilige Wirkung auf die Fertilität evident wurde. Dies wird unterstrichen mit dem Hinweis auf die Anzahl der lebenden Feten, die im 1. Wurf der Tiere noch normal war und erst ab dem 2. Wurf bei 120 mg/kg signifikant niedriger war als bei den Kontrollen: 11,5; 5,2; 6,7; 2,9 und 2,5 im Vergleich zu 11,1; 12,5; 12,4; 11,8 und 12,9 (jeweils 1. bis 5. Wurf) [8].

Fazit:

Genotoxizität:

1,2,3-Trichlorpropan (TCP) zeigt sowohl in vitro (mit S9-Mix) als auch in vivo (Schlundsonden-Applikation/DNA-Addukte) eine genotoxische Wirkung. Daher erfolgt gemäß den EU-Einstufungskriterien eine Einstufung in Kategorie 3 (M: 3).

Kanzerogenität:

Aufgrund der deutlichen kanzerogenen Wirkung von 1,2,3-Trichlorpropan bei Ratte und Maus sowie angesichts des genotoxischen Potentials erfolgt gemäß den EU-Einstufungskriterien eine Einstufung in Kategorie 2 (C: 2).

Reproduktionstoxizität/Fertilität:

Aus der vorliegenden inhalativen Fertilitätsstudie an Ratten ergibt sich kein konkreter Verdacht auf eine fertilitätsmindernde Wirkung von 1,2,3-Trichlorpropan. In einer subchronischen Toxizitätsstudie an B6C3F₁-Mäusen mit Schlundsonden-Applikation sind jedoch ab einer Dosis von 125 mg/kg/Tag erste Anzeichen einer reproduktionstoxischen Wirkung von TCP bei den männlichen Tieren erkennbar. In einer neueren Mehrgenerationen-Studie an Swiss-Mäusen hat sich TCP als fertilitätsmindernd erwiesen in einem Dosisbereich (≥ 60 mg/kg/Tag), der noch zu

keiner deutlichen parentalen Toxizität führt. Angesichts dieser Befunde und der klaren Strukturverwandtschaft zum ebenfalls fertilitätsschädigenden 1,2-Dibrom-3-chlorpropan wird 1,2,3-Trichlorpropan gemäß den EU-Einstufungskriterien in Kategorie 2 ((R_F: 2). eingestuft.

Reproduktionstoxizität/Entwicklungsschädigung:

In der vorliegenden Teratogenitätsstudie mit i.p.-Gabe traten auch im bereits maternal toxischen Dosisbereich keine embryotoxischen oder teratogenen Effekte auf. Daher ergibt sich gemäß den EU-Einstufungsrichtlinien keine Einstufung (R_E: -).

Literatur:

- [1] Greim, H. (Hrsg.): Gesundheitsschädliche Arbeitsstoffe. Toxikologisch-arbeitsmedizinische Begründung von MAK-Werten: 1,2,3-Trichlorpropan. VCH, Weinheim (1993)
- [2] Tafazoli, M., Kirsch-Volders, M.: In vitro mutagenicity and genotoxicity study of 1,2-dichloroethylene, 1,1,2-trichloroethane, 1,3-dichloropropane, 1,2,3-trichloropropane and 1,1,3-trichloropropene, using the micronucleus test and the alkaline single cell gel electrophoresis technique (comet assay) in human lymphocytes. Mutation Res. 371, 185-202 (1996)
- [3] La, D.K.; Lilly, P.D.; Anderegg, R.J.; Swenberg, J.A.: DNA adduct formation in B6C3F₁ mice and Fischer-344 rats exposed to 1,2,3-trichloropropane. Carcinogenesis 16, 1419-1424 (1995)
- [4] La, D.K.; Schoonhoven, R.; Ito, N.; R.J.; Swenberg, J.A.: The effect of exposure route on DNA adduct formation and cellular proliferation by 1,2,3-trichloropropane. Toxicol. Appl. Pharmacol. 140, 108-114 (1996)
- [5] Ito, N.; La, D.K.; Holt, S.; Craft, T.R.; Sills, R.C.; Swenberg, J.A.: Analysis of ras mutations in forestomach tumors from B6C3F₁ mice exposed to 1,2,3-trichloropropane. Proc. Am. Assoc. Cancer Res. 37, 137 (Abstract No. 946) (1996)
- [6] La, D.K.; Swenberg, J.A.: The induction of endogenous DNA adducts in tissues of Fischer-344 rats following gavage administration of 1,2,3-trichloropropane. Proc. Am. Assoc. Cancer Res. 38, 131 (Abstract No. 878) (1997)
- [7] Hazleton Laboratories America Inc.: Final report. 120 day gavage toxicity study in B6C3F₁ mice. 1,2,3-Trichloropropane. Unveröffentlichter Bericht an US-NTP (1983)
- [8] Gulati, D.K., Mounce, R.C., Russell, S., Poonacha, K.B., Chapin, R.E., Heindel, J.: 1,2,3-Trichloropropane Reproduction and fertility assessment in Swiss CD-1 mice when administered via gavage. Final report. US-NTP Report # NTP-90-209 (NTIS PB 91-129676) (1990).

(Stand: Mai 1998)