

1,4-Dioxane

[1,4-Dioxan]

MAK Value Documentation in German language

A. Hartwig^{1,*}, MAK Commission^{2,*}

DOI: 10.1002/3527600418.mb12391d0067

Abstract

The German Commission for the Investigation of Health Hazards of Chemical Compounds in the Work Area has re-evaluated 1,4-dioxane [123-91-1] considering all toxicological endpoints. Available publications and unpublished study reports are described in detail.

The critical effect is nasal toxicity and irritation as well as carcinogenic effects in the nose, liver, and kidneys. New carcinogenicity studies with 1,4-dioxane in drinking water confirm the previous tumour findings in rats and mice. Squamous cell carcinomas in the rat nose, also occurring in a long-term rat inhalation study at 1250 ml/m³, are a result of direct tissue contact with 1,4-dioxane in the drinking water. At 50 ml/m³ (LOAEC, lowest observed adverse effect level), no increase in tumour incidences, but nuclear enlargement, atrophy, and respiratory metaplasia in the nasal cavity were noted. The mechanisms involved in the tumour development in the nose are most likely cytotoxicity, inflammation, regenerative cell proliferation and hyperplasia. As the primary mode of action is non-genotoxic and genotoxic effects play no or at most a minor part at cytotoxic doses, 1,4-dioxane remains in Carcinogen Category 4.

A NAEC of 16.67 ml/m³ (LOAEC / 3) for effects in the nose was calculated from the long-term rat inhalation study, which is in the same range as the NOAEC of 20 ml/m³ from studies with 2- to 8-hour inhalation exposure of volunteers. To provide additional protection from tumour induction in the nose, the MAK value is lowered to 10 ml/m³.

As the critical effect of 1,4-dioxane is local and no irritation was observed in the study with 2-hour exposure of volunteers to 20 ml/m³, Peak Limitation Category I and the excursion factor of 2 are retained.

There is an adequate margin between the NOAEC for developmental toxicity and the MAK value. Therefore, damage to the embryo or foetus is unlikely when the MAK value is not exceeded and 1,4-dioxane remains assigned to Pregnancy Risk Group C.

Because skin contact is expected to contribute significantly to systemic toxicity, the substance remains designated with "H".

Limited data do not show a sensitizing potential.

Keywords

1,4-Dioxan; 1,4-Diethylenoxid; 1,4-Diethylenoxid; Diethylenether; 1,4-Dioxacyclohexan; Dioxethylenether; Tetrahydro-p-dioxin; Wirkungsmechanismus; Toxikokinetik; Metabolismus; (sub)akute Toxizität; (sub)chronische Toxizität; allergene Wirkung; Reproduktionstoxizität; Fertilität; Entwicklungstoxizität; Genotoxizität; Kanzerogenität; Spitzenbegrenzung; fruchtschädigende Wirkung; krebserzeugende Wirkung; keimzellmutagene Wirkung; Hautresorption; sensibilisierende Wirkung; Arbeitsstoff; maximale Arbeitsplatzkonzentration; MAK-Wert; Toxizität; Gefahrstoff

Author Information

¹ Vorsitzende der Ständigen Senatskommission zur Prüfung gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe, Deutsche Forschungsgemeinschaft, Institut für angewandte Biowissenschaften, Abteilung Lebensmittelchemie und Toxikologie, Karlsruher Institut für Technologie (KIT), Adenauerring 20a, Geb. 50.41, 76131 Karlsruhe

² Ständige Senatskommission zur Prüfung gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe, Deutsche Forschungsgemeinschaft, Kennedyallee 40, 53175 Bonn

* Email: A. Hartwig (andrea.hartwig@kit.edu), MAK Commission (arbeitsstoffkommission@dfg.de)

1,4-Dioxan

[123-91-1]

Nachtrag 2019

MAK-Wert (2018)	10 ml/m³ (ppm) $\triangleq$ 37 mg/m³
Spitzenbegrenzung (2018)	Kategorie I, Überschreitungsfaktor 2
Hautresorption (1966)	H
Sensibilisierende Wirkung	–
Krebserzeugende Wirkung (1998)	Kategorie 4
Fruchtschädigende Wirkung (2006)	Gruppe C
Keimzellmutagene Wirkung	–
BAT-Wert (2012)	400 mg 2-Hydroxyethoxyessigsäure/g Kreatinin
Löslichkeit	mit Wasser mischbar (ECHA 2018)
log K _{ow}	–0,42 (ECHA 2018)
1 ml/m ³ (ppm) $\triangleq$ 3,656 mg/m ³	1 mg/m ³ $\triangleq$ 0,273 ml/m ³ (ppm)

Es liegen eine Begründung aus dem Jahr 2003 und ein Nachtrag von 2007 zur fruchtschädigenden Wirkung vor. Neue Studien zur inhalativen Exposition, zur kanzerogenen Wirkung sowie zum Metabolismus und Wirkungsmechanismus erfordern eine Reevaluierung.

1,4-Dioxan wird aufgrund seiner guten Mischbarkeit mit anderen Lösungsmitteln und da es relativ inert ist vor allem als Lösungsmittel eingesetzt.

Der Blut:Luft-Verteilungskoeffizient ist 1666 (Sweeney et al. 2008), so dass das erhöhte Atemvolumen am Arbeitsplatz für die Ableitung von Grenzwerten, die auf systemischen Effekten basieren, zu berücksichtigen ist.

Allgemeiner Wirkungscharakter

Die nach der Begründung 2003 publizierten chronischen Trinkwasserstudien bestätigen die bisherigen Daten. Bei F344-Ratten induziert 1,4-Dioxan in der Nase Plattenepithelzellkarzinome, hepatozelluläre Adenome und Karzinome. Bei Mäusen treten hepatozelluläre Adenome und Karzinome auf. Im Nasenepithel werden nukleäre Vergrößerungen beobachtet. Das Nasengewebe ist in Trinkwasserstudien durch direkten Kontakt mit 1,4-Dioxan exponiert, so dass die Entstehung der Nasentumoren in den Trinkwasserstudien auf eine lokale Exposition, zusätzlich zu einer etwaigen systemischen Exposition, zurückzuführen ist. In der neu hinzugekommenen Kanzerogenitätsstudie mit inhalativer Exposition induziert 1,4-Dioxan bei Ratten bei der höchsten Konzentration von 1250 ml/m³ ebenfalls Plattenepithelzellkarzinome in der Nase. Bei 50 ml/m³ werden keine Tumoren beobachtet, am Zielorgan Nase treten aber bereits eine erhöhte Inzidenz von Kernvergrößerungen im respiratorischen und olfaktorischen Epithel sowie Atrophie und respiratorische Metaplasie des olfaktorischen Epithels auf.

Die Untersuchungen zur genotoxischen Wirkung zeigen, dass 1,4-Dioxan in vivo nur in zytotoxischen Konzentrationen, zumeist nahe oder oberhalb der empfohlenen Limit Dose von 2000 mg/kg KG und Tag, DNA-Strangbrüche und Mikrokernbildung induziert.

Zur hautsensibilisierenden Wirkung von 1,4-Dioxan gibt es keine neuen klinischen Befunde beim Menschen. Ein Maximierungstest an Meerschweinchen ist negativ. Angaben über eine atemwegssensibilisierende Wirkung von 1,4-Dioxan liegen nicht vor.

Wirkungsmechanismus

In der Begründung 2003 sind zahlreiche Wirkungsmechanismen untersucht und erläutert. Ungeklärt ist der kritische kanzerogen wirkende Metabolit. Der Stoffwechsel von 1,4-Dioxan ist noch nicht befriedigend aufgeklärt. 2-Hydroxyethoxyessigsäure wird als Entgiftungsprodukt und als Hauptausscheidungsmetabolit angesehen, der jedoch mit dem Lacton Dioxan-2-on im Gleichgewicht steht. Möglicherweise ist die direkte und induzierbare alpha-Oxidation zu Dioxan-2-ol, das ein Halbacetal darstellt und im Gleichgewicht mit einem Hydroxyaldehyd steht, der Aktivierungsweg. Zur Klärung müsste die Dosis-Abhängigkeit der Entstehung eines kritischen Metaboliten oder dessen Reaktionsprodukte bestimmt werden (Begründung 2003).

Im Folgenden werden nur die seit der Begründung 2003 neu hinzugekommenen Untersuchungen zum Wirkungsmechanismus beschrieben.

Nasentumoren

Zur offenen Frage, ob bei 1,4-Dioxan-Exposition über das Trinkwasser das Nasenepithel Kontakt mit Trinkwasser haben kann, wurde eine spezifische Untersuchung durchgeführt. Gruppen mit jeweils fünf Ratten erhielten Trinkwasser ohne Zusatz (Kontrolle), Trinkwasser mit einem Fluoreszenzfarbstoff (Gruppe 1) oder Trinkwasser mit Fluoreszenzfarbstoff und 0,5 % 1,4-Dioxan (Gruppe 2). Die Exposition

erfolgte über Nacht. Einem weiteren Tier wurde zweimal in einem Abstand von 30 Minuten 2 ml des Trinkwassers mit Fluoreszenzfarbstoff mit der Schlundsonde verabreicht. Die Aufnahmemenge von Trinkwasser mit Fluoreszenzfarbstoff in Gruppe 1 war entsprechend der Kontrollgruppe, wohingegen die Anwesenheit von 1,4-Dioxan im Trinkwasser (Gruppe 2) die Aufnahmemenge auf durchschnittlich 62 % reduzierte. Bei der Untersuchung der Trinkwassergruppen war der Fluoreszenzfarbstoff in der Mundhöhle sowie auch den Nasenatmungswegen nachzuweisen. Die Anwesenheit von 1,4-Dioxan veränderte dieses Bild nicht. Der Fluoreszenzfarbstoff war in verschiedenen Bereichen im vorderen Drittel der Nase nachzuweisen, dort wo in den Langzeitstudien (siehe Abschnitt „Subakute, subchronische und chronische Aufnahme“ und „Kanzergenität“) Reizungen und Tumoren beobachtet wurden. Nach Schlundsondengabe wurde kein Fluoreszenzfarbstoff in der Nase gefunden. Die Ergebnisse zeigen, dass das Nasengewebe in den Trinkwasserstudien zusätzlich zu einer etwaigen systemischen Belastung auch durch direkten Kontakt exponiert war (Sweeney et al. 2008).

Der Mechanismus der Entstehung der Nasentumoren bei Inhalation dürfte über eine Irritation des Nasenepithels zu Zytotoxizität, Entzündung, regenerativer Zellproliferation und Hyperplasie verlaufen.

Lebertumoren

Der Metabolit 1,4-Dioxan-2-on induziert nach 12-wöchiger oraler Gabe an F344-Ratten keine präneoplastischen Foci an der Leber. Die Dosierungen betrugen 0,02 g/Ratte (15 % der LD₅₀) an drei Tagen in der 1. Woche (Behandlung jeden zweiten Tag) und nach dem entsprechenden Schema 0,04 g/Ratte in den verbleibenden elf Wochen. Die Positivkontrolle Aflatoxin induzierte die erwarteten präneoplastischen Foci (Koissi et al. 2012).

Eine Untersuchung zum Wirkungsmechanismus der Entstehung der Lebertumoren unterstützt die bisherige Hypothese, dass die hepatozellulären Adenome und Karzinome durch 1,4-Dioxan aufgrund von Zytotoxizität mit folgender regenerativer Hyperplasie der Leber entstehen. Die Autoren dieser Untersuchung evaluierten die vorhandenen subchronischen und chronischen Studien an Ratten und Mäusen bezüglich dieses Mechanismus und folgerten, dass die zytotoxische Wirkung auf die Leber erst nach Sättigung des Metabolismus von 1,4-Dioxan entsteht und sich anhand erhöhter Blutwerte von AST (Aspartat-Aminotransferase) und ALT (Alanin-Aminotransferase) sowie entsprechender dosis- sowie zeitabhängiger histopathologischer Befunde zeigt. Die beobachtete Lebertoxizität beginnt bei Ratten bei 9,6 bis 42 mg/kg KG und Tag und bei Mäusen bei 57 bis 66 mg/kg KG und Tag. So zeigt sich bei Ratten eine Vergrößerung von Leberzellen, Hypertrophie der Leber und Anstieg des Organgewichtes bei 42 bis 55 mg/kg KG und Tag; dies führt zu Nekrosen bei Dosierungen von 94 bis 219 mg/kg KG und Tag, zu Hyperplasie und Entstehung von Foci bei 55 bis 389 mg/kg KG und Tag sowie folgend zur Entwicklung von Adenomen und Karzinomen bei 274 bis 1015 mg/kg KG und Tag. Eine solche dosisabhängige Auflistung kann für Mäuse nicht erfolgen, da schon bei der geringsten Dosierung von 66 mg/kg KG und Tag hepatozelluläre Adenome und Karzinome beobachtet werden. Der der Zytotoxizität zugrundeliegende Sättigungsmetabolismus von 1,4-Dioxan ist im Tierexperiment und beim Menschen gut untersucht. Bei

geringen Dosierungen folgt der 1,4-Dioxan-Metabolismus einer nicht-gesättigten Kinetik erster Ordnung mit dem Hauptmetaboliten 2-Hydroxyethoxyessigsäure mit einer pH-abhängigen Umkehr zu 1,4-Dioxan-2-on. Eine Sättigung tritt bei höheren Dosierungen ein, und es folgt eine nicht-lineare Kinetik. Diese ist bei Ratten bei etwa 30 bis 100 mg/kg KG, bei der Maus ab 200 mg/kg KG und Tag zu erwarten. Untersuchungen zeigen, dass 1,4-Dioxan-2-on keine präneoplastischen Foci in Nagern induziert, woraus die Autoren schließen, dass 1,4-Dioxan selbst das toxische Agens ist, welches sich bei Sättigung des Metabolismus anreichert (Dourson et al. 2017).

Die Theorie, dass 1,4-Dioxan selbst das lebertoxische Agens ist, ist jedoch kritisch zu hinterfragen. Erstens hat das Molekül keine reaktive funktionelle Gruppe, zweitens ist die metabolische Sättigung nur bei einmaliger, nicht aber bei mehrmaliger Applikation gegeben, denn in letzterem Fall induziert 1,4-Dioxan seinen eigenen Metabolismus (Dietz et al. 1982). So ist bei eintägiger Applikation von 1000 mg/kg KG an Ratten die Belastung um das 900-Fache höher als bei 10 mg/kg KG, bei 17-tägiger Applikation reduziert sich das Verhältnis aber auf den rechnerischen Faktor 100 (1000 mg/kg KG / 10 mg/kg KG). Außerdem ist in der 13-Wochen-Inhalationsstudie mit Ratten der Verlauf des 1,4-Dioxan-Plasmaspiegels ab 400 ml/m³ absolut linear, die Konzentrations-Wirkungs-Beziehung für die Lebereffekte (Nekrosen) aber sublinear (Kasai et al. 2008).

Nierentumoren

Als möglichen Mechanismus der Kanzerogenität in den Nieren wird eine erhöhte Belastung durch Sauerstoffradikale durch die Induktion von CYP2E1 bei chronischer 1,4-Dioxan-Exposition diskutiert (siehe Abschnitt „Enzyminduktion“; Nannelli et al. 2005).

Fibroadenome in der Brustdrüse von Ratten

Wie beim Menschen ist das Fibroadenom der Brustdrüse von Ratten ein benigner Tumor, der aus stark ausdifferenziertem epithelialen und faserförmigen Bindegewebe besteht. Die Spontaninzidenz von Fibroadenomen bei weiblichen Ratten liegt für die meisten Rattenstämme zwischen 20 und 40 %. Die Periode mit dem höchsten Risiko liegt zwischen 31 und 36 Monaten, bei älteren Ratten nimmt die Inzidenz wieder ab. Chemikalien-induzierte Brustdrüsentumoren bei Ratten sind im Allgemeinen Hormonspiegel-abhängige Adenokarzinome. Fibroadenome werden bei der Ratte und beim Menschen nicht als eine prämale Läsion angesehen (Russo 2015).

Fibrome der Subkutis

Die Kanzerogenitätsstudien an Ratten (Kano et al. 2009; Kasai et al. 2009) wurden mit dem F344-/DuCrj-Stamm durchgeführt, bei dem subkutane Fibrome mit relativ hoher Spontaninzidenz von 6 % und mehr auftreten (k. w. A.; Takanobu et al. 2015; englische Zusammenfassung der japanischen Studie). Die höhere Sensitivität auf Chemikalien ist auch bei anderen Tumorlokalisationen mit hoher Spontaninzidenz bekannt. Ein Beispiel dafür ist die hohe Spontanantumorzellen und -karzinomen bei B6C3F1-Mäusen (Haseman et al. 1998; Maronpot 2009). Das späte Auftreten von ausschließlich gut-

artigen Tumoren an Orten mit hoher Spontaninzidenz ist eher auf einen wachstumsfördernden Effekt zurückzuführen (US EPA 2005) und kann daher bei sorgfältiger Fall-zu-Fall-Prüfung gegebenenfalls als nicht humanrelevant betrachtet werden.

Enzyminduktion

Die orale Gabe von 1,4-Dioxan in Dosierungen von zweimal 2000 mg/kg KG und Tag oder die zehntägige Gabe von 1,5 % im Trinkwasser (ca. 1800 mg/kg KG und Tag, Umrechnungsfaktor 0,12 (subakut) nach EFSA 2012) an männliche Ratten führte zur Induktion von Cytochrom P450 (CYP). Es waren CYP2B1/2- und CYP2C11-Aktivitäten (Pentoxoresorufin-O-Depentylase und 2- α -Testosteronhydroxylase) in der Leber und CYP2E1-Aktivitäten (p-Nitrophenolhydroxylase) in Leber, Nieren und Nase induziert. In der Lunge wurde keine Induktion der CYP-Enzyme beobachtet. 1,4-Dioxan änderte nicht die Plasma-Alanin-Aminotransferase-Aktivität (ALT) oder den Gehalt an Glutathion (GSH) in der Leber von Ratten, deren CYP2B1/2- und CYP2E1-Aktivitäten durch Vorbehandlung mit Phenobarbital oder Fasten erhöht waren. Dies sahen die Autoren als Nachweis, dass keine reaktiven oder toxischen Zwischenprodukte im Metabolismus von 1,4-Dioxan entstehen. Auch das Markerenzym der Peroxisomenproliferation, die Palmitoyl-CoA-Oxidase, konnte durch die zehntägige Gabe von 1,4-Dioxan nicht induziert werden. Bei längerer Behandlungszeit stand in der Leber die Induktion von CYP2E1 im Vordergrund, bei akuter Behandlung die Induktion von CYP2B1 und CYP3A1/2. Oft ist eine Begleiterscheinung bei einer CYP2B1/2-, CYP2E1- oder CYP1A-Induktion die Verringerung von CYP2C11, welches unter hormoneller Kontrolle steht. In diesem Fall war CYP2C11 jedoch induziert, was auf eine Veränderung des Gehalts an Wachstumshormon im Plasma hinweisen kann. Als möglichen Mechanismus der Zellproliferation in der Leber und der Kanzerogenität in Leber, Nieren und Nase sehen die Autoren eine erhöhte Belastung durch Sauerstoffradikale aufgrund der Induktion von CYP2E1 bei chronischer 1,4-Dioxan-Exposition (Nannelli et al. 2005). Die Induktion von CYP2B1/2 deutet auf eine Beteiligung des CAR-Rezeptors hin, dessen Aktivierung auch zu einer erhöhten Zellproliferation in der Leber von Ratten führt (Elcombe et al. 2014).

In den Lebermikrosomen von Ratten, die an drei Tagen 500 mg 1,4-Dioxan/kg KG pro Tag intraperitoneal erhielten, waren die Aktivitäten von CYP2E und CYP2B signifikant erhöht und die von CYP2C signifikant vermindert (Takano et al. 2010).

Replikative DNA-Synthese

In einer In-vivo-/In-vitro-Untersuchung führte 1,4-Dioxan in Dosierungen von 1000 oder 2000 mg/kg KG an Ratten bei den isolierten Hepatozyten zu Zytotoxizität und bei 2000 mg/kg KG zu einer erhöhten replikativen DNA-Synthese. Das Ergebnis wurde jedoch als fraglich bewertet (Uno et al. 1994).

Hemmung der RNA-Polymerase A und B

Männlichen Sprague-Dawley-Ratten wurde 1,4-Dioxan intravenös in Dosierungen von 0 und etwa 2 oder 20 mg/kg KG (10 bzw. 100 mg/Ratte) verabreicht und zu verschiedenen Zeitpunkten wurden bei sechs Tieren je Dosis die Hepatozyten isoliert.

In den isolierten Hepatozyten wurde bei 2 mg/kg KG nach zehn Minuten eine Hemmung der RNA-Polymerase A und B auf ca. 75 bzw. 50 % nachgewiesen, die nach einer Stunde bei Polymerase B reversibel war, während die Aktivität der Polymerase A bis zu 40 % höher war als der Kontrollwert. Beide Polymerasen waren bei der Messung nach zwei und vier Stunden erneut bis auf 65 % des Kontrollwertes gehemmt. Die Aktivität der Polymerase B erholte sich innerhalb von 24 Stunden nach Substanzgabe nahezu vollständig, während die Aktivität der Polymerase A nach 24 Stunden um 35 % höher war als der Kontrollwert. Nach Gabe von 100 mg/kg KG zeigte sich ein ähnlicher Verlauf, jedoch war die Hemmung deutlicher und die Aktivität von Polymerase B erreichte im Gegensatz zur Polymerase A nicht wieder die Kontrollwerte (Kurl et al. 1981).

Toxikokinetik und Metabolismus

Aufnahme, Verteilung, Ausscheidung

1,4-Dioxan wird von Ratten nach oraler Gabe vollständig aufgenommen. Auch eine inhalative Aufnahme ist bei Ratten und Menschen nachgewiesen (Begründung 2003).

An Probanden wurde die inhalative Toxikokinetik von 1,4-Dioxan in Ruhe und unter körperlicher Belastung untersucht. Die 18 Probanden (acht Männer, zehn Frauen) wurden in drei Gruppen aufgeteilt, die jeweils acht Stunden lang gegen 20 ml/m³ (73 mg/m³) exponiert waren. Gruppe 1 wurde in Ruhe exponiert, die Probanden in Gruppe 2 und 3 waren pro Stunde zehn Minuten lang auf einem Ergometer mit 50 W (Experiment 2) bzw. 75 W (Experiment 3) unter Belastung. Es wurden nach vier und acht Stunden Blutproben entnommen, der Urin wurde 24 Stunden gesammelt und auf 1,4-Dioxan und den Metaboliten 2-Hydroxyethoxyessigsäure untersucht. Die Konzentration von 1,4-Dioxan in Blut und Urin lag mit etwa 1 mg/l nur knapp über der Nachweisgrenze. Von der theoretisch inhalierten 1,4-Dioxan-Dosis wurden innerhalb von 24 Stunden etwa 53 ± 15 % als 2-Hydroxyethoxyessigsäure eliminiert. Da nahezu die gesamte Menge des Metaboliten mit dem Urin ausgeschieden wird, entspricht diese in etwa der pulmonalen Retention. Aus dem empirisch abgeleiteten Verhältnis zwischen pulmonaler Aufnahme und Blut-Luft-Verteilungskoeffizient für wasserlösliche Stoffe kann von einer pulmonalen Retention von 60,5 % ausgegangen werden. Der Metabolit 2-Hydroxyethoxyessigsäure hatte sein Maximum im Urin 9,8 ± 1,9 Stunden nach Expositionsbeginn erreicht. Die maximale Eliminationsrate erhöhte sich signifikant abhängig von der körperlichen Belastung von 23,2 ± 7,7 in Gruppe 1 auf 30,4 ± 7,2 und 41,8 ± 23,8 mg/Stunde in Gruppe 2 bzw. 3. Ebenso war die kumulative Ausscheidung von 2-Hydroxyethoxyessigsäure mit dem Urin bei Belastung erhöht. Die durchschnittliche maximale 2-Hydroxyethoxyessigsäure-Konzentration lag zwischen 378 und 451 mg/g Kreatinin und stieg mit der Belastung. Die Halbwertszeit von 2-Hydroxyethoxyessigsäure betrug 3,4 ± 0,5 Stunden. Da 24 Stunden nach Beginn der Exposition 31 bis 51 mg 2-Hydroxyethoxyessigsäure/g Kreatinin nachgewiesen wurden, nehmen die Autoren eine geringe Akkumulation während einer Arbeitswoche an (Göen et al. 2016).

Zur dermalen Aufnahme gibt es neue Untersuchungen: In einer In-vitro-Studie wurden 200 µl 1,4-Dioxan/cm² in statischen Franz-Zellen okklusiv auf frisch exziierte Humanhaut aufgebracht. Das Rezeptormedium bestand aus physiologischer Kochsalzlösung. Aus den in der Rezeptorphase nach einer Stunde, sowie zwei, drei und vier Stunden gefundenen Mengen an 1,4-Dioxan wurde ein Flux von 1,4 mg/cm² und Stunde berechnet (Dennerlein et al. 2013).

In einer ähnlichen Studie wurde bei einstündiger nicht okklusiver Applikation von 100 µl 1,4-Dioxan auf 0,64 cm² Humanhaut nach acht Stunden ein kumulativer Gehalt von 309 µg im Rezeptormedium und von 6 µg in der Epidermis und Dermis gefunden. Nach acht Stunden war die Aufnahme weitgehend abgeschlossen. Es wurden nur 63 % der applizierten Menge wiedergefunden, was auf das Verdampfen der Substanz zurückzuführen ist (Dennerlein et al. 2015). Umgerechnet auf 2000 cm² exponierte Hautfläche würden bei einstündiger Exposition etwa 984 mg aufgenommen.

Bei Ratten ist eine Sättigung des Metabolismus bekannt (Begründung 2003). Neu hinzugekommen ist eine Untersuchung an männlichen B6C3F1-Mäusen, die diesen Nachweis auch für diese Spezies erbringt. Jeweils 27 Tieren pro Gruppe wurde eine einzelne orale Dosis von 20, 200 oder 2000 mg/kg KG und Tag verabreicht. Nach 0, 30 und 60 Minuten bzw. 2, 3, 6, 9, 12 und 24 Stunden wurde das Blut auf 1,4-Dioxan und seinen Hauptmetaboliten 2-Hydroxyethoxyessigsäure untersucht. Bei der mittleren und hohen Dosis war nach einer Stunde die maximale Blutkonzentration von 1,4-Dioxan erreicht, in der niedrigen Dosis lag sie über den ganzen Zeitverlauf an der Nachweisgrenze. In allen drei Gruppen war die maximale Konzentration des Metaboliten zwischen 30 Minuten und zwei Stunden erreicht. Die prozentual höchste Metabolisierung wurde mit 20 mg/kg KG gemessen. Nur in der hohen Dosisgruppe war der Metabolit noch nach 12 und 24 Stunden zu messen. Ein Vergleich der AUC (Zeitintegral der Blutkonzentration) von 1,4-Dioxan und 2-Hydroxyethoxyessigsäure lässt auf einen nicht-linearen Metabolismus schließen, was der überproportionale Anstieg von 1,4-Dioxan im Vergleich zur gegebenen Dosis bei gleichzeitigem Abfall des Verhältnisses des Metaboliten zur Muttersubstanz im Blut nahelegt. Neben dem Nachweis des Sättigungsmetabolismus zeigt die Untersuchung an der Maus bei einmaliger oraler Dosierung von 20 mg/kg KG eine sehr schnelle Metabolisierung, die einen Nachweis von 1,4-Dioxan im Blut kaum ermöglicht. Eine Sättigung des Metabolismus wird ab etwa 200 mg/kg KG erreicht (Sweeney et al. 2008).

Nachdem die ersten PBPK-Modelle von 1,4-Dioxan und seinem Hauptmetaboliten 2-Hydroxyethoxyessigsäure aus den 1990er Jahren mit Unsicherheiten behaftet waren, wurde das Modell für eine Risikobewertung der Kanzerogenität nach heutigem Standard verbessert. Mit Studien zu den Datenlücken und Unsicherheiten in der Pharmakokinetik von 1,4-Dioxan und 2-Hydroxyethoxyessigsäure, wie Bestimmungen der Verteilungskoeffizienten, des Zeitverlaufs im Blut von Mäusen und In-vitro-Untersuchungen an Ratten-, Maus- und humanen Hepatozyten, wurde ein Update des PBPK-Modells durchgeführt. Bei der Maus war die optimierte Stoffwechselrate signifikant höher als bisher angenommen, bei der Ratte ähnlich wie in den Modellen aus den 1990er Jahren. Die Modellvorhersagen beim Menschen sind konsistent mit der Studie an Arbeitern, passen aber nicht zur Studie an Probanden. Die gemesse-

nen Daten zeigen, dass bei äußerer Belastung gegen 50 ml/m³ der Blutspiegel an 1,4-Dioxan bei Menschen (10 bis 20 mg/l) doppelt so hoch ist wie der bei Ratten (ca. 7 mg/l) (Sweeney et al. 2008).

Metabolismus

Bei niedrigen Konzentrationen (50 ml/m³) bzw. Dosierungen (10 mg/kg KG) wird 1,4-Dioxan von Mensch und Ratte zu über 90 % zu 2-Hydroxyethoxyessigsäure metabolisiert und mit dem Urin ausgeschieden. Abhängig von der Isolierungsmethode wurde bei Ratten als Hauptmetabolit auch Dioxan-2-on bestimmt, das mit 2-Hydroxyethoxyessigsäure in einem pH-abhängigen Gleichgewicht steht (Begründung 2003).

Für die Bildung des Hauptmetaboliten 2-Hydroxyethoxyessigsäure wurden drei Metabolismuswege postuliert (Abbildung 1):

a) Oxidation mithilfe von CYP; aus dem zyklischen Keton entsteht durch weitere Hydroxylierung 2-Hydroxyethoxyessigsäure. Dioxan-2-on wurde mit einer sauren Isolierungsmethode sowie bei niedrigen Konzentrationen von etwa 50 ml/m³ nachgewiesen.

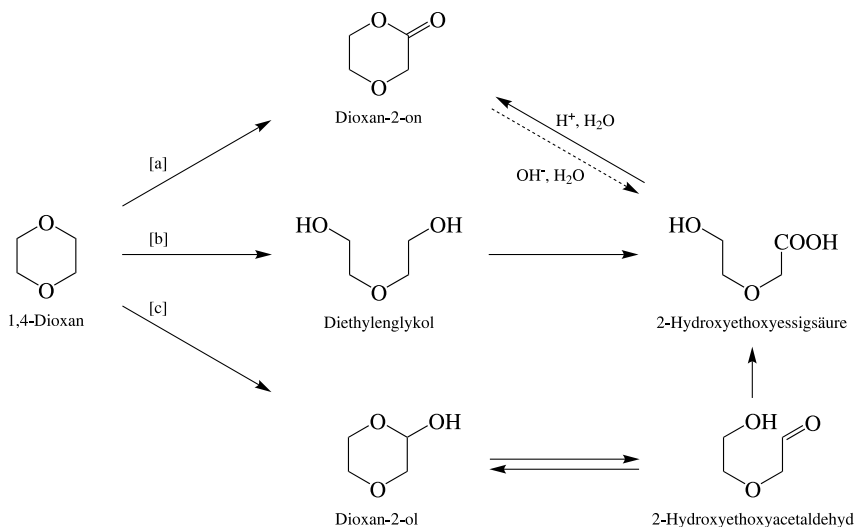


Abb. 1: Mögliche Metabolismuswege von 1,4-Dioxan zu 2-Hydroxyethoxyessigsäure (von Helden 2013)

b) Oxidation mithilfe von CYP, Ringöffnung zu Diethylenglykol und Oxidation zu 2-Hydroxyethoxyessigsäure (Dieser Schritt ist aus dem Diethylenglykol-Metabolismus bekannt, aber für 1,4-Dioxan nicht nachgewiesen).

c) Möglicher Metabolismus bei Sättigung von a): α -Hydroxylierung zu Dioxan-2-ol, Ringöffnung zum 2-Hydroxyethoxyacetaldehyd und Oxidation zu 2-Hydroxyethoxyessigsäure (Auch hier fehlt ein experimenteller Nachweis der Aldehyd-Zwischenstufe). Dioxan-2-ol steht mit dem Aldehyd im Gleichgewicht (von Helden 2013).

Es wurde jedoch gezeigt, dass Dioxan-2-on bei physiologischem pH-Wert nicht stabil ist und bei pH-Wert 7 mit einer Halbwertszeit von 2 Stunden zu 2-Hydroxyethoxyessigsäure hydrolysiert. Auch im Sauren liegt das Gleichgewicht weit auf der Seite der 2-Hydroxyethoxyessigsäure (Koissi et al. 2012). Das heißt, Dioxan-2-on wird, falls es als Metabolit von 1,4-Dioxan überhaupt entsteht, schnell zu 2-Hydroxyethoxyessigsäure hydrolysiert. Möglicherweise ist es nur ein Artefakt bei der verwendeten sauren Isolierungsmethode.

Als weiterer Metabolit wurde CO_2 identifiziert (Begründung 2003).

Der Metabolismus von 1,4-Dioxan ist durch Phenobarbital oder 1,4-Dioxan selbst induzierbar (Begründung 2003).

Erfahrungen beim Menschen

Zur allergenen Wirkung und zur Reproduktionstoxizität liegen keine neuen Daten vor.

Einmalige Exposition

In einer Probandenstudie wurden sechs Männer und sechs Frauen jeweils zehn Minuten lang und schrittweise erhöht gegen 1, 2, 5, 10 und 20 ml 1,4-Dioxan/ m^3 (3,6; 7,2; 18; 36, 72 mg/ m^3) exponiert. Irritative und allgemeine Symptome wurden mit Hilfe eines Fragenbogens mit zehn Punkten erfasst. Die einzelnen Punkte lauteten: 1) Missempfindung am Auge, brennende Augen, Augenreizungen, tränende Augen, 2) Missempfindung an der Nase, brennende Nase, Nasenreizung, laufende Nase, 3) Missempfindung im Hals, 4) Atemschwierigkeiten, 5) Lösungsmittelgeruch, 6) Kopfschmerz, 7) Ermüdung, 8) Übelkeit, 9) Schwindel und 10) „Gefühl der Intoxikation“. Die standardisierte Bewertung der Symptomstärke erfolgte an Hand einer visuellen analogen Skala (VAS) von 0 bis 100 mm mit sieben Bewertungsstufen („not at all“, „hardly at all“, „somewhat“, „rather“, „quite“, „very“, „almost unbearable“). Die Auswertung der Ergebnisse dieser Untersuchungen zeigte, dass keiner der Parameter signifikant durch die Höhe der 1,4-Dioxan-Expositionen beeinflusst wurde (Ernstgård et al. 2006).

Aufgrund der zuvor berichteten Ergebnisse wurde eine Konzentration von 20 ml 1,4-Dioxan/ m^3 für die Hauptstudie ausgewählt und sechs männliche sowie sechs weibliche Probanden zwei Stunden lang gegen 0 oder 20 ml 1,4-Dioxan/ m^3 exponiert. Neben der Analyse mit dem oben genannten Fragebogen wurden folgende

weitere Untersuchungen durchgeführt: Die Lungenfunktion wurde mittels Vitalkapazität (VC), forcierter VC (FVC), forciertem expiratorischem Volumen (FEV), forciertem expiratorischem Volumen in einer Sekunde (FEV1) und expiratorischem Spitzenfluss (PEF) bestimmt. Mögliche nasale Schwellungen während oder nach der Exposition wurden mit Hilfe der akustischen Rhinometrie gemessen. Die Lidschlussfrequenz wurde elektromyographisch während der zweistündigen Exposition untersucht. C-reaktives Protein und Interleukin-6 wurden als Entzündungsindikatoren im Blut der Probanden bestimmt. Die Auswertung der Ergebnisse dieser Untersuchungen zeigte, dass außer „Lösungsmittelgeruch“ keines der Symptome des Fragebogens signifikant durch die Höhe der 1,4-Dioxan-Expositionen beeinflusst wurde. Der Lösungsmittelgeruch wurde nach 3, 60 und 118 Minuten als signifikant erhöht angemerkt. Die Parameter der Lungenfunktionsprüfung, nasalen Schwellung, Lidschlussfrequenz und des C-reaktiven Proteins zeigten keine signifikanten Veränderungen. Die Interleukin-6-Konzentrationen im Blut der Probanden waren verglichen mit den Werten vor der Exposition um 33 % nach der Kontrollexposition und um 37 % nach der Exposition gegen 20 ml/m³ vermindert. Die Änderungen waren signifikant über die Zeit, aber nicht signifikant bezogen auf die Expositionskonzentration. Daher liegt die Ursache im Expositionsablauf, nicht aber in der Exposition gegen 1,4-Dioxan. Zusammengefasst war bei 20 ml/m³ keiner der physiologischen Parameter signifikant verändert, so dass dies der NOAEC für eine zweistündige Exposition gegen 1,4-Dioxan entspricht (Ernstgård et al. 2006).

Bei der achtstündigen Exposition von Probanden gegen 20 ml/m³ in Ruhe und zum Teil mit erhöhter körperlicher Belastung im Rahmen einer Toxikokinetikstudie wurde nicht über adverse Effekte an den Atemwegen und den Augen berichtet (Göen et al. 2016), anders als in der Toxikokinetikstudie mit sechsstündiger Exposition gegen 50 ml/m³, in der häufig über Augenreizung berichtet wurde (Begründung 2003).

Genotoxizität

In den Lymphozyten sechs Beschäftigter einer 1,4-Dioxan-Produktion, die nicht näher bestimmten Konzentrationen der Substanz in der Luft für sechs bis 15 Jahre ausgesetzt waren, wurden im Vergleich zu den Kontrollen keine erhöhten Inzidenzen chromosomaler Aberrationen beobachtet (Begründung 2003).

Kanzerogenität

In einer kleinen prospektiven Mortalitätsstudie an 165 Arbeitern, die seit 1954 niedrigen 1,4-Dioxan-Konzentrationen ausgesetzt waren, wurden bis 1975 sieben Todesfälle in der Herstellungsabteilung verzeichnet, zwei davon in Folge von Krebs. Auf der Mortalitätsrate von Texas basierend lag die statistische Erwartung bei 4,9 bzw. 0,9 für die Krebsmortalitätsrate. In der Verarbeitungsabteilung wurden gegenüber 4,9 statistisch erwarteten Todesfällen fünf verzeichnet, einer davon in Folge von Krebs (0,8 statistisch erwartet) (Begründung 2003). Da keine Angaben zur Ex-

positionskonzentration vorliegen und von einer Mischexposition auszugehen ist, kann die Studie zur Bewertung der Kanzerogenität nicht herangezogen werden.

Tierexperimentelle Befunde und In-vitro-Untersuchungen

Subakute, subchronische und chronische Toxizität

Inhalative Aufnahme

In der Begründung 2003 wurde aus der Langzeit-Inhalationsstudie an Wistar-Ratten eine NOAEC von 111 ml/m³ (sieben Stunden pro Tag, fünf Tage pro Woche) abgeleitet (Torkelson et al. 1974). Es wurde weder Organtoxizität noch Tumorbildung beobachtet. Die Nase wurde in dieser Studie nicht untersucht.

Die im Jahr 2009 publizierte Zwei-Jahre-Inhalationsstudie an F344-Ratten hat dagegen eine LOAEC von 50 ml/m³ (180 mg/m³) ergeben. Bereits ab dieser niedrigsten getesteten Konzentration treten am Zielorgan Nase eine erhöhte Inzidenz an Kernvergrößerungen im respiratorischen und olfaktorischen Epithel sowie Atrophie und respiratorische Metaplasie des olfaktorischen Epithels auf (siehe Tabelle 1; Kasai et al. 2009; siehe auch Abschnitt „Kanzerogenität“). Die Daten sind für eine Benchmarkmodellierung nicht geeignet, da der Endpunkt „nukleäre Vergrößerung“ bereits in der niedrigsten Konzentrationsgruppe bei allen Tieren auftritt und auch der Endpunkt „olfaktorische Atrophie“ in der niedrigsten Konzentrationsgruppe 80 % beträgt und damit weit von der üblichen Benchmark-Response von 5 % entfernt ist und die BMD somit nur vom Modell abhängt. Eine Benchmarkmodellierung ist wegen dieser Unsicherheiten auch von der US EPA (2013) nicht zur Ableitung der RfC (0,0322 mg/m³) für 1,4-Dioxan benutzt worden.

Als empfindlichster systemischer Effekt traten bei 250 ml/m³ Kernvergrößerungen in den Nieren auf. Kernvergrößerungen wurden von der US EPA (2013) nicht als advers angesehen. Bei dieser Konzentration kam es aber auch zu erhöhten Inzidenzen von hydropischen Veränderungen in den Nieren und zentrilobulären Nekrosen in der Leber, die zwar nicht signifikant erhöht waren, aber dosisabhängig. Somit sind bei 250 ml/m³ beginnende Effekte zu beobachten.

Als NAEC der chronischen Rattenstudie wird 16,67 ml/m³ (LOAEC / 3) angenommen.

Dieselbe Arbeitsgruppe hat zur Langzeitstudie eine 13-wöchige Vorstudie an F344/DuCrj-Ratten durchgeführt. Jeweils zehn männliche bzw. weibliche Tiere wurden gegen 1,4-Dioxan in Konzentrationen von 0, 100, 200, 400, 800, 1600, 3200, oder 6400 ml/m³ an sechs Stunden täglich, fünf Tage wöchentlich Ganzkörper-exponiert. Keines der Tiere der Hochdosis-Exposition überlebte die erste Woche. Befunde waren vorwiegend Nierenversagen und Stauungen in der Lunge. Die Körpergewichte am Ende der Studie waren signifikant erniedrigt bei den männlichen Tieren der 200- und 3200 ml/m³-Gruppe und bei den weiblichen Tieren bei 200 ml/m³ und ab 800 ml/m³. Das relative Lebergewicht war bei beiden Geschlechtern ab 800 ml/m³ signifikant erhöht, das relative Nierengewicht bei den männlichen Tieren in der 3200 ml/m³-Gruppe und bei den weiblichen Tieren ab

Tab. 1 Effekte an der Nase in der 2-Jahre-Studie mit inhalativer Exposition von Ratten gegen 1,4-Dioxan (Kasai et al. 2009)

	Expositions-konzentration (ml/m ³)			
nur ♂ Tiere untersucht	0	50	250	1250
Nase:				
<u>respiratorisches Epithel</u>				
nukleäre Vergrößerungen	0/50 (0 %)	50/50 (100 %)**	48/50 (96 %)**	38/50 (76 %)**
<u>olfaktorisches Epithel</u>				
nukleäre Vergrößerungen	0/50 (0 %)	48/50 (96 %)**	48/50 (96 %)**	45/50 (90 %)**
Atrophie	0/50 (0 %)	40/50 (80 %)**	47/50 (94 %)**	48/50 (96 %)**
respiratorische Metaplasie	11/50 (22 %)	34/50 (68 %)**	49/50 (98 %)**	48/50 (96 %)**
Entzündung	0/50 (0 %)	2/50 (4 %)	32/50 (64 %)**	34/50 (68 %)**
<u>Nasenhöhle</u>				
hydropische Veränderungen der Lamina propria	0/50 (0 %)	2/50 (4 %)	36/50 (72 %)**	49/50 (98 %)**

* p ≤ 0,05; ** p ≤ 0,01

800 ml/m³. Eine signifikante Erhöhung des relativen Lungengewichtes wurde bei den männlichen Tieren in der 200 ml/m³-Gruppe und ab 1600 ml/m³ beobachtet, bei den weiblichen Tieren ab 200 ml/m³. Bei 200 ml/m³ und 3200 ml/m³ war die AST der weiblichen Tiere leicht angestiegen, die ALT war bei 3200 ml/m³ bei beiden Geschlechtern erhöht. Eine Reduktion der Triglyceride, der Glucose im Blut und des Proteins im Urin wurde nur bei den männlichen Tieren der 3200 ml/m³-Gruppe festgestellt. Zellkernvergrößerungen im respiratorischen Epithel der Nase traten ab der niedrigsten Konzentration von 100 ml/m³ bei den männlichen und den weiblichen Tieren auf, gefolgt von vergrößerten Kernen im olfaktorischen Epithel ab 200 ml/m³. Die Inzidenzen degenerativer Veränderungen im olfaktorischen Epithel waren bei den männlichen Tieren ab 400 ml/m³, bei den weiblichen ab 800 ml/m³ statistisch signifikant erhöht, im bronchialen Epithel ab 1600 ml/m³. 1,4-Dioxan induzierte Effekte an der Leber erst bei höheren Konzentrationen ab 1600 ml/m³. Befunde waren Einzelzellnekrosen und zentrilobuläre Schwellungen der Hepatozyten bei den männlichen und den weiblichen Tieren. GST-P (plazentale Glutathion-S-Transferase; präneoplastischer Marker) positive Foci in der Leber wurden bei den weiblichen Tieren ab 1600 ml/m³, bei den männlichen bei 3200 ml/m³ beobachtet. Die Plasma-Konzentration von 1,4-Dioxan stieg linear ab 400 ml/m³ mit der Expositions-konzentration an, das heißt, es kam in diesem Versuch nicht zu einer metabolischen Sättigung, vermutlich aufgrund einer Induktion von metabolisierenden Enzymen. Die LOAEC dieser Untersuchung beträgt wegen der Zellkernvergrößerungen im respiratorischen Epithel der Nase 100 ml/m³. Eine NOAEC kann nicht abgeleitet werden (Kasai et al. 2008).

Die Untersuchungen mit inhalativer Exposition sind in Tabelle 2 zusammengefasst.

Orale Aufnahme

In der Begründung 2003 wurde aus den Langzeitstudien an Ratten ein NOAEL von 0,01 % 1,4-Dioxan im Trinkwasser (tgl. Aufnahme etwa 9,6 und 19 mg/kg KG bei männlichen bzw. weiblichen Tieren) abgeleitet. 1,4-Dioxan führte bei einer Dosis von etwa 100 mg/kg KG und Tag zu Leber- und Nierentoxizität sowie zu einem leichten Anstieg von hepatozellulären Tumoren. Bei etwa 500 mg/kg KG und Tag kam es zu Entzündungen der Nasenhöhlen mit Plattenepithelkarzinomen (Begründung von 2003).

Nahezu identisch mit der beschriebenen Wirkung bei Ratten waren die Zielorgane bei Mäusen ebenfalls Leber, Nieren und Nasenhöhlen. Selbst bei der geringsten getesteten Konzentration von etwa 50 mg/kg KG und Tag traten deutlich vermehrt hepatozelluläre Adenome und Karzinome auf (Begründung von 2003). Aus diesem Grund konnte kein NOAEL für Mäuse abgeleitet werden.

Die neu hinzugekommenen Langzeitstudien bestätigen die bisherigen Daten. Bei Ratten induziert 1,4-Dioxan ab 83 mg/kg KG und Tag nukleäre Vergrößerungen des olfaktorischen Epithels bei den weiblichen Tieren. Der NOAEL liegt bei 11 bzw. 18 mg/kg KG und Tag für männliche bzw. weibliche Ratten. Der systemische NOAEL ist 83 mg/kg KG und Tag (Kano et al. 2009; siehe auch Abschnitt „Kanzergenität“).

Bei Mäusen treten bei Trinkwasser-Applikation statistisch signifikant erhöhte Inzidenzen hepatozellulärer Adenome und Karzinome bei beiden Geschlechtern auf, beginnend bei weiblichen Tieren ab der niedrigsten Dosis von 49 mg/kg KG und Tag (Kano et al. 2009; siehe auch Abschnitt „Kanzergenität“). Aus diesem Grund kann auch zu diesem Zeitpunkt kein NOAEL für Mäuse abgeleitet werden.

Dieselbe Arbeitsgruppe führte jeweils zur Langzeitstudie eine 13-wöchige Vorstudie an männlichen und weiblichen F344-Ratten bzw. BDF1-Mäusen durch. Die Tiere erhielten 1,4-Dioxan im Trinkwasser in Konzentrationen von 0; 0,064; 0,16; 0,4; 1 oder 2,5 %. Der NOAEL beträgt 0,064 % für Ratten und Mäuse, aufgrund der nukleären Zellvergrößerung im nasalen respiratorischen Epithel bei beiden Spezies, der zentrilobulären Vergrößerung der Hepatozyten bei Ratten und der nukleären Zellvergrößerung des bronchialen Epithels von Mäusen bei 0,16 %. Der NOAEL entspricht etwa 52 und 83 mg/kg KG und Tag bei männlichen bzw. weiblichen Ratten und 170 und 231 mg/kg KG und Tag bei weiblichen bzw. männlichen Mäusen (Kano et al. 2008; Befunde siehe Tabelle 3).

Tab. 2 Untersuchungen mit inhalativer Exposition von Ratten gegen 1,4-Dioxan

Spezies, Stamm, Tierzahl/Dosis	Dauer, Konzentration	Befunde	Literatur
Ratte, F344/DuCrj, je 10 ♂, ♀	13 Wochen 0, 100, 200, 400, 800, 1600, 3200, oder 6400 ml/m ³ 5 Tage/Woche, 6 Stunden/Tag Ganzkörper-Exposition Reinheit > 99 %	100 ml/m³; LOAEC ab 100 ml/m³ ; ♂, ♀: <u>Nase</u> : Inzidenz der Kernvergrößerungen im respiratorischen Epithel ↑; bei 200 ml/m³ ; ♂, ♀: KG ↓, ♂: rel. Lungengewicht ↑, AST ↑; ab 200 ml/m³ ; ♂, ♀: <u>Nase</u> : Inzidenz der Kernvergrößerungen im olfaktorischen Epithel ↑, ♀: rel. Lungengewicht ↑; ab 400 ml/m³ ; ♂: <u>Nase</u> : degenerative Veränderungen des olfaktorischen Epithels; ab 800 ml/m³ ; ♂, ♀: rel. Lebergewicht ↑, ♀: KG ↓, rel. Lebergewicht ↑, <u>Nase</u> : degenerative Veränderungen des olfaktorischen Epithels; ab 1600 ml/m³ ; ♂, ♀: <u>Lunge</u> : degenerative Veränderungen des bronchialen Epithels ♂: rel. Lungengewicht ↑, ♀: Leber: GST-P positive Foci; bei 3200 ml/m³ ; ♂, ♀: <u>Leber</u> : Einzelzellnekrosen und zentrilobuläre Schwellungen der Hepatozyten, ALT ↑, ♂: KG ↓, rel. Lebergewicht ↑, Leber: GST-P positive Foci, Triglyceride u. Glucose im Blut ↓, Protein im Urin ↓, ♀: AST ↑; 6400 ml/m³ ; ♂, ♀: Mortalität 10/10 innerhalb der 1. Woche (Nieren- versagen und Stauungen in der Lunge)	Kasai et al. 2008
Ratte, Wistar, je 288 ♂, ♀ Kontrolltiere: je 192 ♂, ♀	2 Jahre 0, 111 ml/m ³ 7 Stunden/Tag, 5 Tage/Woche Ganzkörper-Exposition	111 ml/m³; NOAEC ohne auffällige Befunde: Wachstum, Mortalität, hämatologische u. klinisch-chemische Parameter, makroskopische u. histologische Nase nicht untersucht	Torkelson et al. 1974; Begründung 2003

Tab. 2 (Fortsetzung)

Spezies, Stamm, Tierzahl/Dosis	Dauer, Konzentration	Befunde	Literatur
Ratte, F344/DuCrj, je 50 ♂	2 Jahre 0, 180, 900, 1800 mg/m ³ (0, 50, 250, 1250 ml/m ³) 5 Tage/Woche, 6 Stunden/Tag Ganzkörper-Exposition Reinheit >99 %	50 ml/m³: LOAEC ab 50 ml/m³: Nase: Inzidenz der Kernvergrößerungen u. Entzündungen ↑, Atrophie u. respiratorische Metaplasie des olfaktorischen Epithels, hydropische Veränderungen u. Sklerose der Lamina propria, Proliferation der Drüsen ab 250 ml/m³: Mortalität ↑, Nase: Plattenepithelzell-Metaplasie, Nieren: Inzidenz der Kernvergrößerungen ↑, 1250 ml/m³: KG ↓, Nase: Plattenepithelzell-Hyperplasie, Nieren: hydropische Veränderungen der renalen proximalen Tubuli, Leber: rel. Gewicht ↑, Inzidenz der Kernvergrößerungen ↑, Nekrosen der Hepatozyten, veränderte Zellfoci, Plasma: ALT-, AST- und γ-GTP-Aktivitäten ↑	Kasai et al. 2009

ALT: Alanin-Aminotransferase; AST: Aspartat-Aminotransferase; GST-P: plazentale Glutathion-S-Transferase (präneoplastischer Marker), GTP: Glutamyltranspeptidase

Tab. 3 13-Wochenstudien an Ratten und Mäusen mit 1,4-Dioxin im Trinkwasser (Kano et al. 2008)

Spezies, Stamm, Dauer, Dosis Tierzahl/Dosis	Befunde
Ratte, F344/DuCrj, je 10 ♂, ♀	13 Wochen 0; 0,064; 0,16; 0,4; 1 oder 2,5 % im Trinkwasser (0, 52, 126, 274, 657, 1554 mg/kg KG und Tag bei männlichen Tieren und 0, 83, 185, 427, 756, 1614 mg/kg KG und Tag bei weiblichen Tieren) Reinheit: 99 % 52/83 mg/kg KG: NOAEL ♂, ♀; ab 126/185 mg/kg KG: ♂, ♀: Nase: Kernvergrößerungen im respiratorischen Epithel ↑, ♂: Leber: zentrilobuläre Vergrößerung der Hepatozyten ↑, ♀: rel. Lebergew. ↑, rel. Nierengew. ↑; ab 274/427 mg/kg KG: ♂, ♀: Wasseraufnahme ↓, <u>Nase:</u> Kernvergrößerungen im olfaktorischen Epithel ↑, Trachea: Kernvergrößerungen im Epithel ↑, ♂: rel. Nierengew. ↑, Urin pH ↓, <u>Leber:</u> Einzelzellnekrosen ↑, ♀: KG ↓, <u>Leber:</u> Einzelzellnekrosen ↑; ab 657/756 mg/kg KG: ♂, ♀: <u>Niere:</u> Kernvergrößerungen in den proximalen Tubulus-Epithelzellen, ♂: KG ↓, rel. Lebergew. ↑, <u>Leber:</u> zentrilobuläre Vakuolen ↑, ♀: Futteraufnahme ↓, rel. Lungengew. ↑, Urin pH ↓, <u>Leber:</u> zentrilobuläre Vergrößerung der Hepatozyten ↑; bei 1554/1614 mg/kg KG: ♂, ♀: gesträubtes und verfärbtes Fell, Blut-Glucosespiegel ↓, <u>Niere:</u> hydropische Veränderungen in den proximalen Tubulus-Epithelzellen, Gehirn: vakuolische Veränderungen im Cerebrum, ♂: Futteraufnahme ↓, rel. Lungengew. ↑, Erythrozyten, Hämoglobin und Hämatokrit ↑, Plasma AST u. ALT ↑, ♀: letal für 1 von 10 (Nierenversagen), Plasma AST ↑, <u>Leber:</u> Einzelzellnekrosen und zentrilobuläre Vakuolen ↑, <u>Lunge:</u> Kernvergrößerungen des bronchialen Epithel ↑

Tab. 3 (Fortsetzung)

Spezies, Stamm, Tierzahl/Dosis	Dauer, Dosis	Befunde
Maus, Crj:BDF ₁ , je 10 ♂, ♀	13 Wochen 0; 0,064; 0,16; 0,4; 1 oder 2,5 % im Trinkwasser (0, 86, 231, 585, 882, 1570 mg/kg KG und Tag für männliche Tiere und 0, 170, 387, 898, 1620, 2669 mg/kg KG und Tag für weibliche Tiere) Reinheit: 99 %	170 mg/kg KG: NOAEL ♀; 231 mg/kg KG: NOAEL ♂; ab 387 mg/kg KG: ♀: Lunge: Kernvergrößerungen im bronchialen Epithel ↑; ab 585/898 mg/kg KG: ♂, ♀: Nase: Kernvergrößerungen im olfaktorischen Epithel ↑, Trachea: Kernvergrößerungen im Epithel ↑, Leber: Einzelzellnekrosen und Vergrößerung der zentrilobulä- ren Hepatozyten ↑, ♂: Lunge: Kernvergrößerungen im bronchialen Epithel ↑; ab 882/1620 mg/kg KG: ♂, ♀: Wasseraufnahme ↓, Urin pH ↓, ♀: rel. Lungengew. ↑, ALT ↑, Glucose ↓, Lunge: Degeneration im bronchialen Epithel ↑; bei 1570/2669 mg/kg KG: ♂, ♀: Nase: Kernvergrößerungen im respiratorischen Epithel ↑, vakuolische Veränderungen im olfaktorischen Epithel ↑, rel. Nierengew. ↑, Plasma AST u. ALT ↑, ♂: letal für 1 von 10, gesträubtes Fell, KG ↓, Futteraufnahme ↓, rel. Lungengew. ↑, Erythrozyten, Hämoglobin und Hämatokrit ↑, Glucose ↓, Lunge: Degeneration im bronchialen Epithel ↑

*p < 0,05

ALT: Alanin-Aminotransferase; AST: Aspartat-Aminotransferase

Allergene Wirkung

In einem Maximierungstest mit weiblichen Dunkin-Hartley-Meerschweinchen wurde eine 5%ige wässrige Zubereitung von 1,4-Dioxan für die intradermale Induktion und unverdünntes 1,4-Dioxan für die topische Induktion und die Auslösung verwendet. Die Auslösebehandlung führte nach 24 Stunden bei keinem der zehn Tiere zu einer Reaktion; spätere Ablesungen wurden nicht vorgenommen (ECHA 2018).

Reproduktionstoxizität

Fertilität

Studien zur Fertilität oder Generationenstudien wurden mit 1,4-Dioxan nicht durchgeführt.

In den Inhalationsstudien mit 13-wöchiger oder 2-jähriger Exposition von F344/DuCrj-Ratten nach OECD-Prüfrichtlinie 413 bzw. 453 traten bis zur höchsten Konzentration von 6400 ml/m³ (13 Wochen) bzw. 1250 ml/m³ (2 Jahre) keine Effekte auf die Reproduktionsorgane auf (Kasai et al. 2008, 2009).

Auch in den 13-Wochen- und 2-Jahre-Trinkwasser-Studien nach OECD-Prüfrichtlinie 408 bzw. 451 an männlichen bzw. weiblichen F344/DuCrj-Ratten und Crj:BDF1-Mäusen wurden bis zu den jeweils höchsten Dosierungen von ca. 1550 bis 2700 mg/kg KG und Tag (13 Wochen) und ca. 270 bis 960 mg/kg KG und Tag (2 Jahre) keine Effekte auf die Reproduktionsorgane festgestellt (Kano et al. 2008, 2009).

In einer Zwei-Generationenstudie an ICR-Swiss-Mäusen, bei der 1,4-Dioxan als Stabilisator für 1,1,1-Trichlorethan eingesetzt wurde, traten bis zur höchsten Dosis von 30 mg 1,4-Dioxan/kg KG und Tag keine reproduktionstoxischen Effekte auf (Begründung aus dem Jahr 2003; Nachtrag von 2007; Lane et al. 1982).

Entwicklungstoxizität

In einer pränatalen Entwicklungstoxizitätsstudie ähnlich der OECD-Prüfrichtlinie 414 erhielten jeweils 17 bis 20 Sprague-Dawley-Ratten pro Gruppe vom 6. bis zum 15. Gestationstag mit der Schlundsonde 1,4-Dioxan (Reinheit: 99 %) in Dosierungen von 0; 0,25; 0,5 oder 1,0 ml/kg KG und Tag, entsprechend 0, 260, 520 oder 1035 mg/kg KG und Tag. Bei 1035 mg/kg KG und Tag traten verminderte Körpergewichtszunahme der Muttertiere und ein geringeres Körpergewicht der Feten auf. Teratogene Effekte wurden nicht beobachtet (Begründung aus dem Jahr 2003; Nachtrag von 2007; Giavini et al. 1985). Der NOAEL für Entwicklungs- und Maternaltoxizität beträgt 520 mg/kg KG und Tag.

Auch in Entwicklungstoxizitätsstudien wurde 1,4-Dioxan als Stabilisator für 1,1,1-Trichlorethan eingesetzt. Dabei kam es bei Ratten und Mäusen nach Inhalation bis zur höchsten Konzentration von 32 ml 1,4-Dioxan/m³ zu keinen entwicklungstoxischen Effekten (Schwetz et al. 1975). Auch an Sprague-Dawley-Ratten trat in einer Trinkwasserstudie mit 3 % 1,4-Dioxan im Trinkwasser keine Entwicklungs-

toxizität auf. Die höchste Dosis entsprach dabei 3,5 mg 1,1,1-Trichlorethan/kg KG und Tag bzw. 0,1 mg 1,4-Dioxan/kg KG und Tag (George et al. 1989).

Genotoxizität

In der Begründung 2003 wurde aus den Untersuchungen zur Genotoxizität gefolgert, dass 1,4-Dioxan in zytotoxischen Konzentrationen sowohl in vitro als auch in vivo in der Rattenleber DNA-Strangbrüche verursacht.

In vivo führt 1,4-Dioxan in einigen Untersuchungen zu Mikronukleusbildung, aber nicht zu mutagenen Effekten (Begründung 2003).

In vitro

Es liegen keine neuen bewertungsrelevanten Untersuchungen zur Genotoxizität in vitro vor.

In vivo

In den in der Begründung von 2003 bereits beschriebenen drei Mikronukleus-Tests am Knochenmark von Mäusen wurde ein positives Resultat bei oraler Gabe von 900 bis 3600 mg/kg KG erhalten, jedoch nicht bei 450 mg/kg KG mit männlichen C57BL6-Mäusen. Weibliche C57BL6-Mäuse zeigten ein positives Resultat bei 5000 mg/kg KG. Die LD₅₀ lag in einer Voruntersuchung zwischen 4000 und 5000 mg/kg KG und Tag (0/6 Tiere bei 3000, 2/6 Tiere bei 4000, 4/6 Tiere bei 5000 mg/kg KG) (Mirkova 1994). Zytotoxizität wurde in dieser Untersuchung nicht bestimmt.

In einem weiteren Mikronukleus-Test an partiell hepatektomierten CD1-Mäusen, der in der Begründung von 2003 ebenfalls berichtet wurde, wurde eine Mikronukleusbildung in der Leber nach oraler Gabe von 2000 mg/kg KG beobachtet, aber nicht im peripheren Blut bei 3000 mg/kg KG. Der prozentuale Anteil an Retikulozyten im peripheren Blut war nicht verändert. Durch die partielle Hepatektomie wird die Zellproliferation in der Leber und möglicherweise auch im Knochenmark induziert (Morita und Hayashi 1998).

Die Autoren zitieren eine weitere Untersuchung, die nur als Zusammenfassung in japanischer Sprache vorliegt, in der eine Mikronukleusbildung in der Rattenleber nach intraperitonealer Verabreichung von 1000 mg 1,4-Dioxan/kg KG an F344-Ratten induziert wurde (Morita und Hayashi 1998). Die Autoren vermuten für 1,4-Dioxan einen nicht-genotoxischen Mechanismus über fehlerhafte DNA-Reparatur und anschließender Induktion der Zellproliferation (Morita und Hayashi 1998).

In Tabelle 4 sind die In-vivo-Untersuchungen dargestellt, die seit der Begründung von 2003 publiziert wurden.

Neu hinzugekommen ist ein Test auf meiotische Non-Disjunction in *Drosophila melanogaster*, der nicht dosisabhängig und bei zytotoxischen Dosierungen ein positives Ergebnis zeigte. Die Autoren sehen die Zytotoxizität hervorgerufen durch un-

Tab. 4 Genotoxizität von 1,4-Dioxin in vivo (seit der Begründung 2003 publiziert)

Test	Dosis	Ergebnis	Literatur
MN, Knochenmark Follow-up von Morita und Hayashi (1998)	CD-1-Maus männlich 5/Gruppe	0, 1500, 2500, 3500 mg/kg KG 5 × p. o. (5 Tage, Gavage)	+ in zytotoxischen Dosierun- gen; Zytotox. stat. sign. ab 1500 mg/kg KG Roy et al. 2005
MN, Leber Follow-up von Morita und Hayashi (1998)	CD-1-Maus männlich 5/Gruppe	0, 1500, 2500, 3500 mg/kg KG 5 × p. o. (5 Tage, Gavage)	+ Zytotox. ab 1500, aber: stat. sign. nur bei 3500 mg/kg KG Roy et al. 2005
Genmutation in transgenen Ratten Leber	Gpt-delta transgene Ratten männlich 30 Tiere insgesamt (Anzahl pro Gruppe nicht angegeben)	0, 0,02; 0,1; 0,5 % im Trink- wasser 16 Wochen lang	- (0–0,1 %) + (0,5 %) Zellen auch GST-P positiv (präneoplastischer Marker) und PCNA-positiv (Marker für Zellproliferation) Fukushima et al. 2009
meiotische Non-Disjunction	Drosophila melanogaster	0, 1; 1,5; 2; 3; 3,5 % im Futter, Oocyten 24 und 48 h nach Verpaarung untersucht	+ (ab 2 %), keine Dosisabhän- gigkeit; in zytotoxischen Dosierungen (Mortalität 0; 0; 2,4; 8,1; 51,7; 82,8 %) Muñoz und Mazar 2002

spezifische Störungen der Zellteilung als mögliche Ursache an (Muñoz und Mazar 2002).

In einer Follow-up-Studie des Mikronukleus-Tests von Morita und Hayashi (1998) (siehe Begründung 2003) mit oraler Gabe an Mäuse war ab 1500 mg/kg KG die Zahl an Zellen mit Mikronuklei signifikant angestiegen, während parallel das PCE/NCE-Verhältnis statistisch signifikant um 16 % bei 1500 und 2500 mg/kg KG und Tag bzw. um 37 % bei 3500 mg/kg KG und Tag vermindert war, was Zytotoxizität und Bioverfügbarkeit im Knochenmark zeigt. Auch in proliferierenden Hepatozyten verlief der Test mit den gleichen Dosierungen positiv, in nicht-proliferierenden Hepatozyten negativ. Eine verminderte Zellteilung, nachgewiesen durch BrdU-Färbung, trat hier ebenfalls auf, signifikant aber nur bei 3500 mg/kg KG. Die Mikronuklei entstanden durch Chromosomenbrüche, da in 80 % bis 90 % der Mikronuklei keine Zentromere mittels CREST- oder FISH-Färbung nachgewiesen wurden (Roy et al. 2005).

Die positiven Mikronuklei-Tests von Mirkova (1994); Morita und Hayashi (1998) und Roy et al. (2005) zeigen eine Induktion von Mikronuklei nahe an oder in zytotoxischen Konzentrationen bei gleichzeitiger Zellproliferation in der Leber und im Knochenmark. Diesen Tests stehen negative Mikronukleustests entgegen, in denen auch die Bioverfügbarkeit im Knochenmark durch verminderte PCE/NCE-Verhältnisse nachgewiesen wurden (Mirkova 1994; McFee et al. 1994; Tinnwell und Ashby 1994; siehe Begründung 2003).

Ein Test auf Mutationen in transgenen Ratten war bei bis zu 0,1 % im Trinkwasser in der Leber negativ. Bei 0,5 % wurde eine erhöhte Inzidenz an Mutationen des *gpt*-Trans-Gens nachgewiesen, die Leberzellen waren gleichzeitig GST-P-positiv (Marker für Präneoplasien) sowie PCNA-positiv (Marker für Zellproliferation). Die Untersuchung liegt nur als Zusammenfassung vor (Fukushima et al. 2009).

Fazit:

Wie bereits in der Begründung von 2003 dargestellt, zeigt die Mehrzahl der In-vivo-Untersuchungen, dass 1,4-Dioxan in zytotoxischen Konzentrationen zumeist nahe oder oberhalb der empfohlenen Limit Dose von 2000 mg/kg KG und Tag zu DNA-Strangbrüchen und zu Mikronukleusbildung führt. Gleichzeitig ist eine Induktion der Zellproliferation zu beobachten. Als möglicher Mechanismus in der Leber und auch im Knochenmark ist Zytotoxizität mit anschließender Zellproliferation nachgewiesen worden. Unterhalb von bzw. bei 1000 mg/kg KG und Tag werden keine genotoxischen Effekte induziert.

Ein Dominant-Letal-Test an Mäusen verlief nach einmaliger intraperitonealer Gabe von 2500 µl/kg KG (etwa 2580 mg/kg KG) negativ (siehe Begründung 2003).

Kanzerogenität

Kurzzeitstudien

Zelltransformationstests

Im Zelltransformationstest an BALB/3T3-Zellen war 1,4-Dioxan in einer Untersuchung ohne Zytotoxizität negativ, in einer weiteren wurde Zelltransformation bei gleichzeitiger Zytotoxizität registriert. Der Metabolit 1,4-Dioxan-2-on induzierte in

BALB/3T3-Zellen Zelltransformationen auch ohne Zytotoxizität (Begründung von 2003).

Hemmung der metabolischen Kooperation

In V79-Zellen führte 1,4-Dioxan zu einer Hemmung der metabolischen Kooperation (Thioguaninnukleotid-Transfer) (Begründung von 2003).

Initiations- und Promotionsstudien

1,4-Dioxan erwies sich nicht als Initiator an der Haut von Mäusen bei nachfolgender Tetradekanoylphorbol-acetat (TPA)-Behandlung, zeigte aber eine tumorpromovierende Aktivität (γ -GT-Foci) in der Leber männlicher Sprague-Dawley-Ratten (Begründung von 2003).

Kurzzeit-Studien

In Kurzzeitstudien an Mäusen führte intraperitoneal appliziertes 1,4-Dioxan in einem Test zu einem signifikanten Anstieg der Lungentumorinzidenz, in einer zweiten Untersuchung aufgrund fehlender Dosisabhängigkeit zu einem fraglichen Ergebnis (Begründung von 2003).

Langzeitstudien

Inhalative Aufnahme

In einer bereits in der Begründung von 2003 zitierten Inhalationsstudie an Ratten aus den 1970er Jahren wurden bei der einzigen getesteten Konzentration von 111 ml/m³ (400 mg/m³, etwa 100 mg/kg KG und Tag) keine kanzerogenen Effekte beobachtet. In dieser Studie wurden 288 männliche und 288 weibliche Wistar-Ratten in Inhalationskammern zwei Jahre lang, an sieben Stunden pro Tag, fünf Tage pro Woche exponiert. Wachstum, Mortalität, hämatologische und klinisch-chemische Parameter sowie die makroskopischen und histologischen Befunde unterschieden sich nicht von denen der Kontrollgruppe mit jeweils 192 männlichen und weiblichen Tieren. Es traten weder Tumoren noch Leber- oder Nierenschädigungen auf. Die Nase wurde in dieser Studie nicht untersucht und die MTD nicht erreicht (Torkelson et al. 1974).

In einer neuen, validen Untersuchung wurden jeweils 50 männliche F344/DuCrj-Ratten sechs Stunden pro Tag, an fünf Tagen pro Woche, 104 Wochen lang gegen 0, 50, 250 oder 1250 ml 1,4-Dioxan/m³ (0, 180, 900 oder 1800 mg/m³) Ganzkörper-exponiert. Es wurden nur männliche Tiere eingesetzt, da in der 2-Jahre-Studie mit oraler Gabe von Kano et al. (2009) (siehe nächster Abschnitt „Orale Aufnahme“) bei den weiblichen Tieren keine Mesotheliome beobachtet wurden. Statistisch signifikant erhöhte Tumorinzidenzen waren hepatozelluläre Adenome und Plattenepithelzellkarzinome in der Nase in der hohen und peritoneale Mesotheliome in der mittleren und hohen Konzentrationsgruppe. Nur in der mittleren Konzentrationsgruppe wurden subkutane Fibrome festgestellt. Die peritonealen Mesotheliome entstanden aus dem Hodensack (Kasai et al. 2009). Diese haben für die Risikobewertung für den Menschen keine Bedeutung, da sie geschlechts-, stamm- und speziesspezifisch nur bei männlichen F344-Ratten entstehen (Maronpot et al. 2015). Erhöht, aber statistisch nicht signifikant waren Fibroadenome der Brustdrüse, die nicht als eine prä-maligne Läsion angesehen werden (Russo 2015; siehe auch Abschnitt „Wirkungs-

mechanismus“). Nierenzellkarzinome, wobei die Niere auch Zielorgan der toxischen Wirkung ist, sowie Adenome der Zymbaldrüse traten in der höchsten Konzentrationsgruppe auf, erreichten jedoch keine statistische Signifikanz (Kasai et al. 2009). Tumoren in Organen, die nur beim Tier, aber nicht beim Menschen vorkommen, sind, wenn sie isoliert auftreten, i. d. R. nicht humanrelevant, können aber ein kanzerogenes Potenzial einer Substanz anzeigen. Beispiele für solche Organe ist die Zymbaldrüse (ECHA 2015). Die subkutanen Fibrome waren nicht dosisabhängig, traten aber auch in der oralen Kanzerogenitätsstudie auf. Diese Tumoren wurden in Studien mit dem F344-/DuCrj-Rattenstamm des JBRC (Japan Bioassay Research Center) mit relativ hoher Spontaninzidenz beobachtet (Takanobu et al. 2015; siehe auch Abschnitt „Wirkungsmechanismus“) und sind daher von fraglicher Humanrelevanz.

Die Details zur Studie sowie die Tumorinzidenzen sind in Tabelle 5 dargestellt.

Orale Aufnahme

Seit der letzten Bewertung (Begründung von 2003) wurden zwei neue Kanzerogenitätsstudien publiziert, in denen Ratten bzw. Mäuse zwei Jahre lang gegen 1,4-Dioxan im Trinkwasser exponiert wurden (Kano et al. 2009).

Bei Ratten induzierte 1,4-Dioxan in der höchsten Dosisgruppe statistisch signifikant erhöhte Plattenepithelzellkarzinome in der Nase der weiblichen Tiere, Adenome und Karzinome der Leber bei beiden Geschlechtern, peritoneale Mesotheliome bei männlichen Tieren und Adenome der Brustdrüse bei den weiblichen Tieren sowie nicht signifikant erhöhte subkutane Fibrome (Kano et al. 2009). Die peritonealen Mesotheliome haben für die Risikobewertung für den Menschen keine Bedeutung, da sie geschlechts-, stamm- und speziesspezifisch nur bei den männlichen F344-Ratten entstehen (Maronpot et al. 2015). Fibroadenome der Brustdrüse werden bei Ratten und beim Menschen nicht als eine prämaligne Läsion angesehen (siehe oben und Abschnitt „Wirkungsmechanismus“). Die subkutanen Fibrome waren bei männlichen Ratten nicht signifikant erhöht, bei den weiblichen auch ohne Dosisabhängigkeit, traten aber auch in der chronischen Inhalationsstudie mit Ratten auf und sind (siehe oben und Abschnitt „Wirkungsmechanismus“) von fraglicher Humanrelevanz.

Bei Mäusen wurden statistisch signifikant erhöhte Tumorinzidenzen nur in der Leber beobachtet und zwar hepatozelluläre Adenome und Karzinome bei den weiblichen Tieren ab der niedrigsten Dosis, bei den männlichen Tieren hepatozelluläre Adenome ab der mittleren Dosis sowie hepatozelluläre Karzinome in der hohen Dosis. Zudem wurden in der hohen Dosisgruppe zwei Tumoren in der Nase beobachtet, ein Adenokarzinom bei einem weiblichen Tier und ein Ästhesioneuroepitheliom bei einem männlichen Tier. Beide Tumoren sind nach Angaben der Autoren sehr selten, so ist in den historischen Kontrollen des Japan Bioassay Research Center (JBRC) kein Fall unter 1846 männlichen bzw. 1847 weiblichen Tieren bekannt. Die Tumoren wurden in Schnittebene 3 nachgewiesen (Kano et al. 2009).

Die Untersuchungen sind in der Tabelle 6 dargestellt.

Tab. 5 Kanzerogenitätsstudie mit inhalativer Exposition von Ratten gegen 1,4-Dioxan (Kasai et al. 2009)

Autor:	Kasai et al. 2009			
Stoff:	1,4-Dioxan (>99 % rein)			
Spezies:	Ratte, F344/DuCrj, je 50 ♂			
Applikation:	Inhalation			
Konzentration:	0, 50, 250, 1250 ml/m³ (0, 180, 900, 1800 mg/m³)			
Dauer:	2 Jahre, 5 Tage/Woche, 6 Stunden/Tag			
Toxizität:	ab 50 ml/m³: <u>Nase</u> : Inzidenz der Kernvergrößerungen und Entzündungen ↑, Atrophie und respiratorische Metaplasie des olfaktorischen Epithels, hydropische Veränderungen und Sklerose der Lamina propria, Proliferation der Drüsen ab 250 ml/m³: Mortalität ↑, <u>Nase</u> : Plattenepithelzell-Metaplasie, <u>Nieren</u> : Inzidenz der Kernvergrößerungen ↑, 1250 ml/m³: KG ↓, <u>Nase</u> : Plattenepithelzell-Hyperplasie, <u>Nieren</u> : hydropische Veränderungen der renalen proximalen Tubuli, <u>Leber</u> : rel. Gewicht ↑, Inzidenz der Kernvergrößerungen ↑, Nekrosen der Hepatozyten, veränderte Zellfoci, <u>Plasma</u> : ALT-, AST- und γ-GTP-Aktivitäten ↑			
	Expositionskonzentration (ml/m³)			
	0	50	250	1250
Überlebende	37/50 (74 %)	37/50 (74 %)	29/50 (58 %)	25/50 (50 %)
Tumoren und Präneoplasien				
Nase:				
<u>respiratorisches Epithel</u>				
nukleäre Vergrößerungen	0/50 (0 %)	50/50 (100 %) **	48/50 (96 %) **	38/50 (76 %) **
Entzündung	13/50 (26 %)	9/50 (18 %)	7/50 (14 %)	39/50 (78 %) **
Plattenepithelzell-Metaplasie	0/50 (0 %)	0/50 (0 %)	7/50 (14 %) *	44/50 (88 %) **
Plattenepithelzell-Hyperplasie	0/50 (0 %)	0/50 (0 %)	1/50 (2 %)	10/50 (20 %) **
<u>olfaktorisches Epithel</u>				
nukleäre Vergrößerungen	0/50 (0 %)	48/50 (96 %) **	48/50 (96 %) **	45/50 (90 %) **
Atrophie	0/50 (0 %)	40/50 (80 %) **	47/50 (94 %) **	48/50 (96 %) **
respiratorische Metaplasie	11/50 (22 %)	34/50 (68 %) **	49/50 (98 %) **	48/50 (96 %) **
Entzündung	0/50 (0 %)	2/50 (4 %)	32/50 (64 %) **	34/50 (68 %) **
<u>Nasenhöhle</u>				
hydropische Veränderungen der Lamina propria	0/50 (0 %)	2/50 (4 %)	36/50 (72 %) **	49/50 (98 %) **

Tab. 5 (Fortsetzung)

Sklerose der Lamina propria	0/50 (0 %)	0/50 (0 %)	22/50 (44 %)**	40/50 (80 %)**
Proliferation der Drüsen	0/50 (0 %)	1/50 (2 %)	0/50 (0 %)	6/50 (12 %)*
Plattenepithelzell-Karzinome	0/50 (0 %)	0/50 (0 %)	1/50 (2 %)	6/50 (12 %)*
Leber:				
nukleäre Vergrößerungen, zentrilobulär	0/50 (0 %)	0/50 (0 %)	1/50 (2 %)	30/50 (60 %)**
acidophile Zellfoci	5/50 (10 %)	10/50 (20 %)	12/50 (24 %)	25/50 (50 %)**
basophile Zellfoci	17/50 (34 %)	20/50 (40 %)	15/50 (30 %)	44/50 (88 %)**
klare Zellfoci	15/50 (30 %)	17/50 (34 %)	20/50 (40 %)	23/50 (46 %)
gemischte Zellfoci	5/50 (10 %)	3/50 (6 %)	4/50 (8 %)	14/50 (28 %)
Spongiosis hepatis	7/50 (14 %)	6/50 (12 %)	13/50 (26 %)	19/50 (38 %)**
Nekrose, zentrilobulär	1/50 (2 %)	3/50 (6 %)	6/50 (12 %)	12/50 (24 %)**
hepatozelluläre Adenome	1/50 (2 %)	2/50 (4 %)	3/50 (6 %)	21/50 (42 %)**
hepatozelluläre Karzinome	0/50 (0 %)	0/50 (0 %)	1/50 (2 %)	2/50 (4 %)
Nieren:				
nukleäre Vergrößerungen, proximaler Tubulus	0/50 (0 %)	1/50 (2 %)	20/50 (40 %)**	47/50 (94 %)**
hydropische Veränderungen, proximaler Tubulus	0/50 (0 %)	0/50 (0 %)	5/50 (10 %)	6/50 (12 %)*
Nierenzellkarzinome	0/50 (0 %)	0/50 (0 %)	0/50 (0 %)	4/50 (8 %)
Peritoneum:				
Mesotheliome	2/50 (4 %)	4/50 (8 %)	14/50 (28 %)**	41/50 (82 %)**
Brustdrüse:				
Fibroadenome	1/50 (2 %)	2/50 (4 %)	3/50 (6 %)	5/50 (10 %)
Adenome	0/50 (0 %)	0/50 (0 %)	0/50 (0 %)	1/50 (2 %)
Zymbaldrüse:				
Adenome	0/50 (0 %)	0/50 (0 %)	0/50 (0 %)	4/50 (8 %)
Subkutis:				
Fibrome	1/50 (2 %)	4/50 (8 %)	9/50 (18 %)**	5/50 (10 %)

* $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$

712 MAK Value Documentation in German language

Tab. 6 Trinkwasser-Studien zur Untersuchung der Kanzerogenität von 1,4-Dioxan an Ratten und Mäusen (Kano et al. 2009)

Autor:	Kano et al. 2009				
Stoff:	1,4-Dioxan (99 % rein)				
Spezies:	Ratte, F344/DuCrj, je 50 ♂, ♀				
Applikation:	Trinkwasser				
Konzentration:	0, 200, 1000, 5000 mg/l (entspricht 0, 11, 55, 274 und 0, 18, 83, 429 mg/kg KG und Tag bei männlichen bzw. weiblichen Tieren)				
Dauer:	2 Jahre, kontinuierlich				
Toxizität:	bei 274/429 mg/kg KG: Mortalität ↑, KG und KG-Zunahme ↓, rel. Lebergewicht ↑ (♀)				
		Expositionsdosis (mg/kg KG und Tag)			
		0	11/18	55/83	274/429
Überlebende	♂	40/50 (80 %)	45/50 (90 %)	35/50 (70 %)	22/50 (44 %)
	♀	38/50 (76 %)	37/50 (74 %)	38/50 (76 %)	24/50 (48 %)
Tumoren und Präneoplasien					
Nase:					
Plattenepithelzell-Karzinome	♂	0/50 (0 %)	0/50 (0 %)	0/50 (0 %)	3/50 (6 %)
	♀	0/50 (0 %)	0/50 (0 %)	0/50 (0 %)	7/50 (14 %)**
Ästhesioneuroepitheliome	♂	0/50 (0 %)	0/50 (0 %)	0/50 (0 %)	1/50 (2 %)
	♀	0/50 (0 %)	0/50 (0 %)	0/50 (0 %)	1/50 (2 %)
Rhabdomyosarkome	♂	0/50 (0 %)	0/50 (0 %)	0/50 (0 %)	1/50 (2 %)
	♀	0/50 (0 %)	0/50 (0 %)	0/50 (0 %)	0/50 (0 %)
undifferenzierte Sarkome	♂	0/50 (0 %)	0/50 (0 %)	0/50 (0 %)	2/50 (4 %)
	♀	0/50 (0 %)	0/50 (0 %)	0/50 (0 %)	0/50 (0 %)
<u>respiratorisches Epithel</u>					
nukleäre Vergrößerungen	♂	0/50 (0 %)	0/50 (0 %)	0/50 (0 %)	26/50 (52 %)**
	♀	0/50 (0 %)	0/50 (0 %)	0/50 (0 %)	13/50 (26 %)**
Plattenepithelzell-Metaplasie	♂	0/50 (0 %)	0/50 (0 %)	0/50 (0 %)	31/50 (62 %)**
	♀	0/50 (0 %)	0/50 (0 %)	0/50 (0 %)	35/50 (70 %)**
Plattenepithelzell-Hyperplasie	♂	0/50 (0 %)	0/50 (0 %)	0/50 (0 %)	2/50 (4 %)
	♀	0/50 (0 %)	0/50 (0 %)	0/50 (0 %)	5/50 (10 %)
<u>olfaktorisches Epithel</u>					
nukleäre Vergrößerungen	♂	0/50 (0 %)	0/50 (0 %)	0/50 (0 %)	38/50 (76 %)**
	♀	0/50 (0 %)	0/50 (0 %)	28/50 (56 %)**	39/50 (78 %)**

Tab. 6 (Fortsetzung)

Leber:

acidophile Zellfoci	♂	12/50 (24 %)	8/50 (16 %)	7/50 (14 %)	5/50 (10 %)
	♀	1/50 (2 %)	1/50 (2 %)	1/50 (2 %)	1/50 (2 %)
basophile Zellfoci	♂	7/50 (14 %)	11/50 (22 %)	8/50 (16 %)	16/50 (32 %)
	♀	23/50 (46 %)	27/50 (54 %)	31/50 (62 %)	8/50 (16 %)
klare Zellfoci	♂	3/50 (6 %)	3/50 (6 %)	9/50 (18 %)	8/50 (16 %)
	♀	1/50 (2 %)	1/50 (2 %)	5/50 (10 %)	4/50 (8 %)
gemischte Zellfoci	♂	2/50 (4 %)	8/50 (16 %)	14/50 (28 %)	13/50 (26 %)
	♀	1/50 (2 %)	1/50 (2 %)	3/50 (6 %)	11/50 (22 %)
hepatozelluläre Adenome	♂	3/50 (6 %)	4/50 (8 %)	7/50 (14 %)	32/50 (64 %)**
	♀	3/50 (6 %)	1/50 (2 %)	6/50 (12 %)	48/50 (98 %)**
hepatozelluläre Karzinome	♂	0/50 (0 %)	0/50 (0 %)	0/50 (0 %)	14/50 (28 %)**
	♀	0/50 (0 %)	0/50 (0 %)	0/50 (0 %)	10/50 (20 %)**
hepatozelluläre Adenome und Karzinome	♂	3/50 (6 %)	4/50 (8 %)	7/50 (14 %)	39/50 (78 %)**
	♀	3/50 (6 %)	1/50 (2 %)	6/50 (12 %)	48/50 (98 %)**

Peritoneum:

Mesotheliome	♂	2/50 (4 %)	2/50 (4 %)	5/50 (10 %)	28/50 (54 %)**
	♀	1/50 (2 %)	0/50 (0 %)	0/50 (0 %)	0/50 (0 %)

Brustdrüse:

Fibroadenome	♂	1/50 (2 %)	1/50 (2 %)	0/50 (0 %)	4/50 (8 %)
	♀	3/50 (6 %)	2/50 (4 %)	1/50 (2 %)	3/50 (6 %)
Adenome	♂	0/50 (0 %)	1/50 (2 %)	2/50 (4 %)	2/50 (4 %)
	♀	6/50 (12 %)	7/50 (14 %)	10/50 (20 %)	16/50 (32 %)*
Adenome und Fibroadenome	♂	1/50 (2 %)	2/50 (4 %)	2/50 (4 %)	6/50 (12 %)
	♀	8/50 (16 %)	8/50 (16 %)	11/50 (22 %)	18/50 (34 %)*

Subkutis:

Fibrome	♂	5/50 (10 %)	3/50 (6 %)	5/50 (10 %)	12/50 (24 %)
	♀	0/50 (0 %)	2/50 (4 %)	1/50 (2 %)	0/50 (0 %)

* $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$ Fischer exact test (DECOS 2015)

Tab. 6 (Fortsetzung)

Autor:	Kano et al. 2009				
Stoff:	1,4-Dioxan (99 % rein)				
Spezies:	Maus , Crj:BDF ₁ , je 50 ♂, ♀				
Applikation:	Trinkwasser				
Konzentration:	0; 0,5; 0,2; 0,8 % (entspricht 0, 49, 191, 677 und 0, 66, 278, 964 mg/kg KG und Tag bei männlichen bzw. weiblichen Tieren)				
Dauer:	2 Jahre, kontinuierlich				
Toxizität:	ab 191/278 mg/kg KG: Mortalität ↑ (nur ♀), KG und KG-Zunahme ↓, rel. Lebergewicht ↑ (nur ♂) bei 677/964 mg/kg KG: Futter- und Wasseraufnahme ↓, rel. Lebergewicht ↑ (♀)				
		Expositions-dosis (mg/kg KG und Tag)			
		0	49/66	191/278	677/964
Überlebende	♂	31/50 (62 %)	33/50 (66 %)	25/50 (50 %)	26/50 (52 %)
	♀	29/50 (58 %)	29/50 (58 %)	17/50 (34 %)	5/50 (10 %)
Tumoren und Präneoplasien					
Nase:					
Adenokarzinome	♂	0/50 (0 %)	0/50 (0 %)	0/50 (0 %)	0/50 (0 %)
	♀	0/50 (0 %)	0/50 (0 %)	0/50 (0 %)	1/50 (2 %)
Ästhesioneuro-epitheliome	♂	0/50 (0 %)	0/50 (0 %)	0/50 (0 %)	1/50 (2 %)
	♀	0/50 (0 %)	0/50 (0 %)	0/50 (0 %)	0/50 (0 %)
<u>respiratorisches Epithel</u>					
nukleäre Vergrößerungen	♂	0/50 (0 %)	0/50 (0 %)	0/50 (0 %)	31/50 (62 %)**
	♀	0/50 (0 %)	0/50 (0 %)	0/50 (0 %)	41/50 (82 %)**
<u>olfaktorischen Epithel</u>					
nukleäre Vergrößerungen	♂	0/50 (0 %)	0/50 (0 %)	9/50 (0 %)	49/50 (98 %)**
	♀	0/50 (0 %)	0/50 (0 %)	41/50 (82 %)**	33/50 (66 %)**
Leber:					
hepatozelluläre Adenome	♂	9/50 (18 %)	17/50 (34 %)	23/50 (46 %)**	11/50 (22 %)
	♀	5/50 (10 %)	31/50 (62 %)**	20/50 (40 %)**	3/50 (6 %)
hepatozelluläre Karzinome	♂	15/50 (30 %)	20/50 (40 %)	23/50 (46 %)	36/50 (72 %)**
	♀	0/50 (0 %)	6/50 (12 %)*	30/50 (60 %)**	45/50 (90 %)**
hepatozelluläre Adenome und Karzinome	♂	23/50 (46 %)	31/50 (62 %)	37/50 (74 %)**	40/50 (80 %)**
	♀	5/50 (10 %)	35/50 (70 %)**	41/50 (82 %)**	46/50 (92 %)**

*p ≤ 0,05; **p ≤ 0,01 Fischer exact test (DECOS 2015)

Zusammenfassung der human- bzw. bewertungsrelevanten Tumoren

Inhalative Aufnahme, Ratte:

1,4-Dioxan induziert nach inhalativer Exposition an Ratten bei der höchsten Konzentration von 1250 ml/m³ Plattenepithelzellkarzinome in der Nase, hepatozelluläre Adenome, eine leichte, statistisch nicht signifikant erhöhte Inzidenz an Nierenzellkarzinomen und nur in der mittleren Konzentration subkutane Fibrome. Trotz der nicht erreichten statistischen Signifikanz werden die Nierenzellkarzinome als bewertungsrelevant angesehen, da die Niere das Zielorgan der toxischen Wirkung darstellt. Am Zielorgan Nase treten die ersten Befunde (erhöhte Inzidenz der Kernvergrößerungen im respiratorischen und olfaktorischen Epithel, Atrophie und respiratorische Metaplasie des olfaktorischen Epithels) bereits ab der niedrigsten Konzentration von 50 ml/m³ (180 mg/m³) auf (Kasai et al. 2009).

Orale Aufnahme, Ratte und Maus:

In Trinkwasserstudien führt 1,4-Dioxan bei einer Dosis von etwa 100 mg/kg KG und Tag bei Ratten zu Leber- und Nierentoxizität sowie zu einem leichten Anstieg von hepatozellulären Adenomen bzw. Karzinomen, bei etwa 500 mg/kg KG und Tag kommt es zu Entzündungen der Nasenhöhlen mit Plattenepithelkarzinomen (Begründung von 2003).

In einer Langzeitstudie an Mäusen entwickeln sich bei der niedrigsten getesteten Konzentration im Trinkwasser, die etwa 50 mg 1,4-Dioxan/kg KG und Tag entspricht, hepatozelluläre Adenome und Karzinome, bei etwa 500 mg/kg KG und Tag werden Entzündungen der Nasenhöhlen mit Plattenepithelkarzinomen berichtet (Begründung von 2003).

In diesen Versuchen zeigt sich eine klare Dosisabhängigkeit der kanzerogenen Wirkung. Ein NOAEL für toxische und kanzerogene Wirkung liegt bei Ratten bei 10 mg/kg KG und Tag (Begründung von 2003).

Die neu hinzugekommenen Kanzerogenitätsstudien von Kano et al. (2009) bestätigen die bisherigen Daten.

Bei weiblichen Ratten induziert 1,4-Dioxan bei der höchsten Dosis von 429 mg/kg KG und Tag statistisch signifikant erhöhte Inzidenzen an Plattenepithelzellkarzinomen in der Nase. Dass die männlichen Tiere diesen Befund nicht aufweisen, liegt vermutlich daran, dass die höchste Dosis für männliche Tiere von 274 mg/kg KG und Tag nicht hoch genug dosiert war. Nukleäre Vergrößerungen des olfaktorischen Epithels treten ab 83 mg/kg KG und Tag bei den weiblichen, bei 274 mg/kg KG und Tag bei den männlichen Tieren auf. Hepatozelluläre Adenome und Karzinome werden bei 274 und 429 mg/kg KG und Tag bei männlichen bzw. weiblichen Tieren beobachtet. Bei 55 bzw. 83 mg/kg KG und Tag sind die Tumorinzidenzen nicht erhöht, diese Dosis ist auch der systemische NOAEL (Kano et al. 2009).

Bei Mäusen treten bei Trinkwasser-Applikation statistisch signifikant erhöhte Tumorinzidenzen nur in der Leber auf. Dies sind hepatozelluläre Adenome und Karzinome bei beiden Geschlechtern, beginnend bei weiblichen Tieren ab der niedrigsten Dosis von 66 mg/kg KG und Tag. Zudem werden bei 677 bzw. 964 mg/kg KG und Tag bei einem männlichen und einem weiblichen Tier ein seltener Tumor in der Nase berichtet. Ab der mittleren Dosis von 278 mg/kg KG und Tag werden nukleäre

Vergrößerungen im Nasenepithel beobachtet (Kano et al. 2009). Die Mäuse sind deutlich empfindlicher als die Ratten, was in der höheren Spontaninzidenz für Lebertumoren bei den Mäusen begründet sein könnte.

Da das Nasengewebe in Trinkwasserstudien durch direkten Kontakt mit 1,4-Dioxan exponiert ist (Sweeney et al. 2008), ist die Entstehung der Nasentumoren in den Trinkwasserstudien auf eine lokale Exposition, zusätzlich zu einer etwaigen systemischen zurückzuführen.

Bewertung

Kritische Effekte sind nasale Toxizität und Reizwirkung sowie die kanzerogene Wirkung an den Zielorganen Nase, Leber und Niere.

Krebserzeugende Wirkung. Wie bereits in der Begründung von 2003 beschrieben, zeigt die Mehrzahl der In-vivo-Untersuchungen zur Genotoxizität, dass 1,4-Dioxan in zytotoxischen Konzentrationen zumeist nahe oder oberhalb der empfohlenen Limit Dosis von 2000 mg/kg KG und Tag zu DNA-Strangbrüchen und zu Mikronukleusbildung führt. Gleichzeitig ist eine Induktion der Zellproliferation zu beobachten. Als möglicher Mechanismus in der Leber und auch im Knochenmark ist Zytotoxizität mit anschließender Zellproliferation nachgewiesen worden. Unterhalb von bzw. bei 1000 mg/kg KG und Tag werden keine genotoxischen Effekte induziert.

Die seit der Begründung von 2003 publizierten Trinkwasser-Kanzerogenitätsstudien bestätigen die bisherigen Daten. Bei F344-Ratten induziert 1,4-Dioxan in der Nase Plattenepithelzellkarzinome, hepatozelluläre Adenome und Karzinome. Bei Mäusen treten hepatozelluläre Adenome und Karzinome auf (Kano et al. 2009). Da das Nasengewebe in Trinkwasserstudien durch direkten Kontakt mit 1,4-Dioxan exponiert ist (Sweeney et al. 2008), ist die Entstehung der Nasentumoren in den Trinkwasserstudien auf eine lokale, zusätzlich zu einer etwaigen systemischen Exposition zurückzuführen.

In einer Kanzerogenitätsstudie mit inhalativer Exposition von männlichen Ratten induziert 1,4-Dioxan bei der höchsten Konzentration von 1250 ml/m³ Plattenepithelzellkarzinome in der Nase. Bei 50 ml/m³ werden keine Tumoren beobachtet, wobei am Zielorgan Nase die ersten Befunde (erhöhte Inzidenz an Kernvergrößerungen, an Atrophie und an respiratorischer Metaplasie des olfaktorischen Epithels) bereits ab der niedrigsten Konzentration von 50 ml/m³ (180 mg/m³) auftreten (Kasai et al. 2009).

Wie schon in der Begründung von 2003 erläutert, ist für 1,4-Dioxan eine nicht-lineare Toxikokinetik sowie eine Akkumulation der Substanz bei hohen Dosen experimentell nachgewiesen worden (siehe Begründung von 2003 und Abschnitt „Wirkungsmechanismus“), was mit einer Sättigung des Stoffwechsels erklärt wird. Es wird davon ausgegangen, dass die toxische Wirkung, die auch zur kanzerogenen Wirkung an Leber und Nieren führt, erst bei Sättigung des Stoffwechsels eintritt. Jedoch verursacht auch die Reizwirkung an der Nase, die schon unterhalb der Sättigung auftritt, Karzinome. Der Mechanismus der Entstehung der Nasentumoren bei

Inhalation dürfte durch eine Irritation des Nasenepithels über Zytotoxizität, Entzündung, regenerativer Zellproliferation und Hyperplasie verlaufen.

Da genotoxische Eigenschaften eine untergeordnete Rolle bei der kanzerogenen Wirkung spielen und allenfalls bei zytotoxischen Dosierungen zu beobachten sind, bleibt 1,4-Dioxan weiterhin in Kategorie 4 für krebserzeugende Arbeitsstoffe eingestuft.

MAK-Wert. 1,4-Dioxan war eine der ersten Substanzen, für die eine nicht-lineare Toxikokinetik sowie eine Akkumulation der Substanz bei hohen Dosen experimentell nachgewiesen und mit der Sättigung des Stoffwechsels erklärt wurde (Begründung von 2003).

Inzwischen wurde in der chronischen Inhalationsstudie an Ratten als empfindlichster systemischer Effekt die bei 250 ml/m^3 erhöhte Inzidenz an Kernvergrößerungen in der Niere gefunden (Kasai et al. 2009). Die systemische NOAEC liegt somit bei 50 ml/m^3 . Ein daraus abgeleiteter MAK-Wert wäre unter Berücksichtigung des erhöhten Atemvolumens (1:2), der Übertragung der Daten des Tierversuchs auf den Menschen (1:2) und des Preferred Value Approach 10 ml/m^3 . Ausgehend von dieser Untersuchung ist bei Ratten der empfindlichste lokale Effekt die Reizwirkung in der Nase, denn bei der niedrigsten getesteten Konzentration von 50 ml/m^3 (180 mg/m^3) treten am Zielorgan Nase erste Effekte auf: erhöhte Inzidenz an Kernvergrößerungen im respiratorischen und olfaktorischen Epithel, Atrophie und respiratorische Metaplasie des olfaktorischen Epithels (siehe Tabelle 1 in Abschnitt „Subakute, subchronisch und chronische Toxizität: Inhalative Aufnahme“). Als NAEC der chronischen Rattenstudie wird $16,67 \text{ ml/m}^3$ (LOAEC / 3) angenommen. Sie liegt somit im gleichen Bereich wie die NOAEC für sensorische Reizwirkung bei Probanden mit 20 ml/m^3 nach zwei bis acht Stunden, bei einer LOAEC bei 50 ml/m^3 nach sechs Stunden. Da 1,4-Dioxan nur bei sehr hohen Dosen zu genotoxischen Effekten führt, dürfte die Entstehung der Nasentumoren bei Inhalation ausgehend von einer Irritation des Nasenepithels über Zytotoxizität, Entzündung, regenerativer Zellproliferation und Hyperplasie verlaufen.

Es wird davon ausgegangen, dass die Vermeidung einer sensorischen Reizwirkung auch vor histologisch nachweisbarer Reizwirkung und Zytotoxizität im nasalen Epithel schützt (Brüning et al. 2014). Da 1,4-Dioxan an der Nase kanzerogen wirkt, muss eine Reizwirkung mit größerer Sicherheit verhindert werden als bei einem nicht kanzerogenen Stoff, und der MAK-Wert wird auf 10 ml/m^3 gesenkt. Wie oben dargestellt, ist bei 10 ml/m^3 auch nicht mit systemischen Effekten zu rechnen.

Spitzenbegrenzung. Aufgrund der kritischen lokalen Wirkung bleibt 1,4-Dioxan in Kurzzeitwert-Kategorie I. Da in der Probandenstudie bei zweistündiger Exposition gegen 20 ml/m^3 keine Reizwirkung beobachtet wurde, wird der Überschreitungsfaktor 2 festgesetzt.

Fruchtschädigende Wirkung. In einer pränatalen Entwicklungstoxizitätsstudie an Sprague-Dawley-Ratten wird bei 1035 mg/kg KG und Tag ein geringeres Körpergewicht der Feten bei leichter Maternaltoxizität (verminderte Körpergewichtszunahme) berichtet. Der NOAEL für Entwicklungstoxizität liegt bei 520 mg/kg KG und Tag.

Zur toxikokinetischen Übertragung des NOAEL für Entwicklungstoxizität in eine Konzentration in der Luft müssen der spezies-spezifische Korrekturwert bezüglich der toxikokinetischen Unterschiede zwischen der Ratte und dem Menschen von 1:4, die nachgewiesene orale Resorption von 100 % bei Ratten, das Körpergewicht von 70 kg, das Atemvolumen von 10 m³ in 8 Arbeitsstunden und die 60%ige inhalative Resorption für den Menschen berücksichtigt werden. Damit errechnet sich eine 1,4-Dioxan-Konzentration in der Luft von 1520 mg/m³, die einen 41-fachen Abstand zum MAK-Wert von 37 mg/m³ aufweist. Der ausreichende Abstand zusammen mit dem Fehlen teratogener Effekte bestätigt die Zuordnung zur Schwangerschaftsgruppe C.

Keimzellmutagene Wirkung. Wie schon in der Begründung von 2003 dargestellt, zeigt die Mehrzahl der In-vivo-Untersuchungen, dass 1,4-Dioxan in zytotoxischen Konzentrationen zumeist nahe oder oberhalb der empfohlenen Limit Dose von 2000 mg/kg KG und Tag zu DNA-Strangbrüchen und zu Mikronukleusbildung führt. Gleichzeitig ist eine Induktion der Zellproliferation zu beobachten. Als möglicher Mechanismus in der Leber und auch im Knochenmark ist Zytotoxizität mit anschließender Zellproliferation nachgewiesen worden. Bei Dosierungen von bis zu 1000 mg/kg KG und Tag werden keine genotoxischen Effekte induziert. Ein Dominant-Letal-Test an Mäusen mit 2580 mg/kg KG verlief nach intraperitonealer Gabe negativ. Es liegen daher keine Daten vor, die eine Einstufung in eine Kategorie für Keimzellmutagene begründen würden.

Hautresorption. Für den Menschen lässt sich aus einer In-vitro-Studie eine maximale dermale Aufnahme von 984 mg bei Exposition gegen unverdünntes 1,4-Dioxan unter Standardbedingungen (2000 cm² Hautoberfläche, eine Stunde Exposition) abschätzen.

Die inhalative systemische chronische NOAEC beträgt bei Ratten 50 ml/m³ (180 mg/m³). Zur toxikokinetischen Übertragung dieser Konzentration auf den Menschen werden berücksichtigt: das Atemvolumen in acht Stunden (10 m³), die Übertragung der Daten des Tierversuchs auf den Menschen (1:2) und das erhöhte Atemvolumen am Arbeitsplatz (1:2). Daraus errechnet sich eine systemisch tolerable Menge von 450 mg.

Damit beträgt die Aufnahme über die Haut (984 mg) mehr als 25 % der systemisch tolerablen Menge, und 1,4-Dioxan wird weiterhin mit „H“ markiert.

Sensibilisierende Wirkung. Zur hautsensibilisierenden Wirkung von 1,4-Dioxan gibt es nach wie vor nur wenige ältere und kaum belastbare klinische Befunde beim Menschen und keine positiven Befunde aus Untersuchungen am Tier. Befunde zur sensibilisierenden Wirkung an den Atemwegen liegen ebenfalls nicht vor. 1,4-Dioxan wird daher weiterhin weder mit „Sh“ noch mit „Sa“ markiert.

Literatur

- Brüning T, Bartsch R, Bolt HM, Desel H, Drexler H, Gundert-Remy U, Hartwig A, Jäckh R, Leibold E, Pallapies D, Rettenmeier AW, Schlüter G, Stropp G, Sucker K, Triebig G, Westphal G, van Thriel C (2014) Sensory irritation as a basis for setting occupational exposure limits. *Arch Toxicol* 88: 1855–1879
- DECOS (Dutch Expert Committee on Occupational Standards) (2015) 1,4-Dioxane. Re-evaluation of the carcinogenicity and genotoxicity, publication no 2015/26, Health Council of the Netherlands, Den Haag, https://www.gezondheidsraad.nl/sites/default/files/201526_14-dioxane_0.pdf
- Dennerlein K, Schneider D, Göen T, Schaller KH, Drexler H, Korinth G (2013) Studies on percutaneous penetration of chemicals – Impact of storage conditions for excised human skin. *Toxicol In Vitro* 27: 708–713
- Dennerlein K, Jäger T, Göen T, Kilo S, Schaller KH, Drexler H, Korinth G (2015) Evaluation of the effect of skin cleaning procedures on the dermal absorption of chemicals. *Toxicol In Vitro* 29: 828–833
- Dietz FK, Stott WT, Ramsey JC (1982) Nonlinear pharmacokinetics and their impact on toxicology: illustrated with dioxane. *Drug Metab Rev* 13: 963–981
- Dourson ML, Higginbotham J, Crum J, Burleigh-Flayer H, Nance P, Forsberg ND, Lafronconi M, Reichard J (2017) Update: Mode of action (MOA) for liver tumors induced by oral exposure to 1,4-dioxane. *Regul Toxicol Pharmacol* 88: 45–55
- ECHA (European Chemicals Agency) (2015) Guidance on the application of the CLP criteria – Guidance to regulation (EC) No 1272/2008 on classification, labelling and packaging (CLP) of substances and mixtures. Version 4.1, June 2015, https://echa.europa.eu/documents/10162/13562/clp_en.pdf
- ECHA (2018) Information on registered substances. Dataset on 1,4-dioxane (CAS Number 123-91-1), joint submission, first publication 02.03.2011, last modification 02.10.2017, <http://echa.europa.eu/web/guest/information-on-chemicals>
- EFSA (European Food Safety Authority) (2012) Scientific opinion: Guidance on selected default values to be used by the EFSA scientific Committee, scientific panels and units in the absence of actual measured data. *EFSA J* 10: 2579, <http://www.efsa.europa.eu/de/efsajournal/doc/2579.pdf>
- Elcombe CR, Pepper RC, Wolf DC, Bailey J, Bars R, Bell D, Cattley RC, Ferguson SS, Geter D, Goetz A, Goodman JJ, Hester A, Jacobs A, Omiecinski CJ, Schoeny R, Xie W, Lake BG (2014) Mode of action and human relevance analysis for nuclear receptor-mediated liver toxicity: A case study with phenobarbital as a model constitutive androstane receptor (CAR) activator. *Crit Rev Toxicol* 44: 64–82
- Ernstgård L, Iregren A, Sjögren B, Johanson G (2006) Acute effects of exposure to vapours of dioxane in humans. *Hum Exp Toxicol* 25: 723–729
- Fukushima S, Wei M, Omori M, Morimura K, Kinoshita A, Musumura K (2009) Carcinogenicity and in vivo mutagenicity of 1,4-dioxane in gpt delta rats (Poster Abstract). *Exp Toxicol Pathol* 61: 282
- Giavini E, Vismara C, Broccia ML (1985) Teratogenesis study of dioxane in rats. *Toxicol Lett* 26: 85–88
- George JD, Price CJ, Marr MC, Sadler BM, Schwetz BA, Birnbaum LS, Morrissey RE (1989) Developmental toxicity of 1,1,1-trichloroethane in CD rats. *Fundam Appl Toxicol* 13: 641–651

- Göen T, von Helden F, Eckert E, Knecht U, Drexler H, Walter D (2016) Metabolism and toxicokinetics of 1,4-dioxane in humans after inhalational exposure at rest and under physical stress. *Arch Toxicol* 90: 1315–1324
- Haseman JK, Hailey JR, Morris RW (1998) Spontaneous neoplasm incidences in Fischer 344 rats and B6C3F1 mice in two-year carcinogenicity studies: a National Toxicology Program update. *Toxicol Pathol* 26: 428–441
- von Helden F (2013) Standardisierte Expositionen gegenüber 1,4-Dioxan zur Etablierung eines Biomonitorings; Dissertation, Medizinisches Zentrum für Ökologie, Institut und Poliklinik für Arbeits- und Sozialmedizin, Fachbereich Medizin der Justus-Liebig-Universität Gießen, http://geb.uni-giessen.de/geb/volltexte/2014/11161/pdf/HeldenFranziska_2014_10_23.pdf
- Kano H, Umeda Y, Saito M, Senoh H, Ohbayashi H, Aiso S, Yamazaki K, Nagano K, Fukushima S (2008) Thirteen-week oral toxicity of 1,4-dioxane in rats and mice. *J Toxicol Sci* 33: 141–153
- Kano H, Umeda Y, Kasai T, Sasaki T, Matsumoto M, Yamazaki K, Nagano K, Arito H, Fukushima S (2009) Carcinogenicity studies of 1,4-dioxane administered in drinking-water to rats and mice for 2 years. *Food Chem Toxicol* 47: 2776–2784
- Kasai T, Saito M, Senoh H, Umeda Y, Aiso S, Ohbayashi H, Nishizawa T, Nagano K, Fukushima S (2008) Thirteen-Week inhalation toxicity of 1,4-dioxane in rats. *Inhal Toxicol* 20: 961–971
- Kasai T, Kano H, Umeda Y, Sasaki T, Ikawa N, Nishizawa T, Nagano K, Arito H, Nagashima H, Fukushima S (2009) Two-year inhalation study of carcinogenicity and chronic toxicity of 1,4-dioxane in male rats. *Inhal Toxicol* 21: 889–897
- Koissi N, Shah NH, Ginevan B, Eck WS, Roebuck BD, Fishbein JC (2012) Lactone metabolite common to the carcinogens dioxane, diethylene glycol, and N-nitrosomorpholine: aqueous chemistry and failure to mediate liver carcinogenesis in the F344 rat. *Chem Res Toxicol* 25: 1022–1028
- Kurl RN, Poellinger L, Lund J, Gustafsson JA (1981) Effects of dioxane on RNA synthesis in the rat liver. *Arch Toxicol* 49: 29–33
- Lane RW, Riddle BL, Borzelleca JF (1982) Effects of 1,2-dichloroethane and 1,1,1-trichloroethane in drinking water on reproduction and development in mice. *Toxicol Appl Pharmacol* 63: 409–421
- Maronpot RR (2009) Biological basis of differential susceptibility to hepatocarcinogenesis among mouse strains. *J Toxicol Pathol* 22: 11–33
- Maronpot RR, Thoolen RJMM, Hansen B (2015) Two-year carcinogenicity study of acrylamide in Wistar Han rats with in utero exposure. *Exp Toxicol Pathol* 67: 189–195
- McFee AF, Abbott MG, Gulati DK, Shelby MD (1994) Results of mouse bone marrow micronucleus studies on 1,4-dioxane. *Mutat Res* 322: 145–148
- Mirkova ET (1994) Activity of the rodent carcinogen 1,4-dioxane in the mouse bone marrow micronucleus assay. *Mutat Res* 322: 142–144
- Morita T, Hayashi M (1998) 1,4-Dioxane is not mutagenic in five in vitro assays and mouse peripheral blood micronucleus assay, but is in mouse liver micronucleus assay. *Environ Mol Mutagen* 32: 269–280
- Muñoz E, Mazar B (2002) The rodent carcinogens 1,4-dioxane and thiourea induce meiotic non-disjunction in *Drosophila melanogaster* females. *Mutat Res* 517: 231–238
- Nannelli A, De Rubertis A, Longo V, Gervasi PG (2005) Effects of dioxane on cytochrome P450 enzymes in liver, kidney, lung and nasal mucosa of rat. *Arch Toxicol* 79: 74–82
- Roy S, Thilagar A, Eastmond D (2005) Chromosome breakage is primarily responsible for the micronuclei induced by 1,4-dioxane in the bone marrow and liver of young CD-1 mice. *Mutat Res* 586: 28–37

- Russo J (2015) Significance of rat mammary tumors for human risk assessment. *Toxicol Pathol* 43: 145–170
- Schwetz BA, Leong KJ, Gehring PJ (1975) The effect of maternally inhaled trichloroethylene, perchloroethylene, methyl chloroform, and methylene chloride on embryonal and fetal development in mice and rats. *Toxicol Appl Pharmacol* 32: 84–96
- Sweeney LM, Thrall KD, Poet TS, Corley RA, Weber TJ, Locey BJ, Clarkson J, Sager S, Gargas ML (2008) Physiologically based pharmacokinetic modeling of 1,4-dioxane in rats, mice, and humans. *Toxicol Sci* 101: 32–50
- Takano R, Murayama N, Horiuchi K, Kitajima M, Shono F, Yamazaki H (2010) Blood concentrations of 1,4-dioxane in humans after oral administration extrapolated from in vivo rat pharmacokinetics, in vitro human metabolism, and physiologically based pharmacokinetic modeling. *J Health Sci* 56: 557–565
- Tinwell H, Ashby J (1994) Activity of 1,4-dioxane in mouse bone marrow micronucleus assay. *Mutat Res* 322: 148–150
- Takanobu K, Aiso S, Umeda Y, Senoh H, Saito M, Katagiri T, Ikawa N, Ishikawa H, Mine T, Take M, Haresaku M, Matsumoto M, Fukushima S (2015) Background data of spontaneous tumors in F344/DuCr1Crlj rats (jpn). *Sangyo Eiseigaku Zasshi* 57: 85–96
- Torkelson TR, Leong BKJ, Kociba RJ, Richter WA, Gehring PJ (1974) 1,4-Dioxane. II. Results of a 2-year inhalation study in rats. *Toxicol Appl Pharmacol* 30: 287–298
- Uno Y, Takasawa H, Miyagawa M, Inoue Y, Yoshikawa K (1994) An in vivo-in vitro replicative DNA synthesis (RDS) test using rat hepatocytes as an early prediction assay for nongenotoxic hepatocarcinogens screening of 22 known positives and 25 noncarcinogens. *Mutat Res* 320: 189–205
- US EPA (US Environmental Protection Agency) (2013) Toxicological review of 1,4-dioxane (with inhalation update) (CAS No. 123-91-1). US EPA, Washington, DC, USA

abgeschlossen am 21.03.2018