

Dichloroacetic acid¹⁾ and its salts / 2,2-Dichloroacetic acid

[Dichloressigsäure und ihre Salze]

MAK Value Documentation in German language

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

DOI: 10.1002/3527600418.mb7943verd0067

Abstract

The German Commission for the Investigation of Health Hazards of Chemical Compounds in the Work Area has re-evaluated dichloroacetic acid [79-43-6] to derive a maximum concentration at the workplace (MAK value) and to review its carcinogenicity classification.

The critical effects are irritation, carcinogenicity in the liver of rats and mice as well as neurotoxicity. After oral application, dichloroacetic acid or its sodium salt have tumour-promoting effects and are carcinogenic in the liver of rats and mice. The NOAEL for carcinogenic effects in rats is 3.6 mg/kg body weight. In mice, a NOAEL cannot be derived. Dichloroacetic acid is not mutagenic in most tests in vitro and in vivo. The mechanisms involved in the tumour development in the liver are most likely interference with energy metabolism, oxidative stress and inhibition of apoptosis. As the primary mode of action is non-genotoxic, dichloroacetic acid and its salts are classified in Carcinogen Category 4.

Dichloroacetic acid is corrosive to the eye and the skin of rabbits. As no inhalation studies are available to evaluate possible irritating effects on the respiratory tract, the structurally similar trichloroacetic acid is used as a read-across. Therefore, a MAK value of 0.2 ml/m³ corresponding to 1.1 mg/m³, is derived for dichloroacetic acid. Accordingly, a MAK value of 1.1 mg/m³ for the inhalable fraction, measured as the acid, is set for the salts. As the local effect is critical, the acid and its salts are assigned to Peak Limitation Category I with an excursion factor of 1.

As skin contact to dichloroacetate may contribute significantly to systemic toxicity, the salts are designated with "H". Skin contact is not expected to contribute significantly to the systemic toxicity of dichloroacetic acid. Sensitization is not expected from the available data.

Keywords

Dichloressigsäure; 2,2-Dichloressigsäure; Dichlorethansäure; Dichloressigsäures Natrium; Natriumdichloracetat; Wirkungsmechanismus; Toxikokinetik; (sub)akute Toxizität; (sub)chronische Toxizität; Reizwirkung; Genotoxizität; Kanzerogenität; Spitzenbegrenzung; 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) The substance can occur simultaneously as vapour and aerosol.

Dichloressigsäure¹⁾ und ihre Salze

[79-43-6]

Nachtrag 2019

MAK-Wert (2018)	0,2 ml/m³ $\triangleq$ 1,1 mg/m³
Spitzenbegrenzung (2018)	Dichloracetate: 1,1 mg/m³ E als Säure
	Kategorie I, Überschreitungsfaktor 1
Hautresorption (2018)	Dichloressigsäure: –
	Dichloracetate: H
Sensibilisierende Wirkung	–
Krebserzeugende Wirkung (2018)	Kategorie 4
Fruchtschädigende Wirkung	–
Keimzellmutagene Wirkung	–
BAT-Wert	–
pKa-Wert Säure	1,48 (US EPA 2003)
Dampfdruck Säure	0,19 hPa (Begründung 2010)
1 ml/m³ (ppm) $\triangleq$ 5,26 mg/m³	1 mg/m³ $\triangleq$ 0,19 ml/m³ (ppm)

Dichloressigsäure und ihre Salze wurden im Jahr 2010 in die Kategorie 3A für Kanzerogene eingestuft (Begründung 2010). Aufgrund neuer Daten erfolgt mit diesem Nachtrag eine Reevaluierung der Einstufung.

Für die systemischen Wirkungen ist das Dichloracetat-Anion verantwortlich. Deshalb werden auch Studien mit Natriumdichloracetat bzw. neutralisierter Dichloressigsäure in dem vorliegenden Nachtrag betrachtet. Die Bewertung gilt für die Säure und ihre Salze.

1) Der Stoff kann gleichzeitig als Dampf und Aerosol vorliegen.

Wirkungsmechanismus

Dichloressigsäure induziert in der Leber fremdstoffmetabolisierende Enzyme und wirkt tumormpromovierend. Als Wirkmechanismus für die Entstehung der Lebertumoren wird eine Hemmung der Apoptose und ein damit verbundener Selektionsvorteil von spontan initiierten Zellen diskutiert (Begründung 2010). Als weitere Mechanismen werden für die Kanzerogenität in der Leber eine Störung des Fett- und Kohlenhydratstoffwechsels, mitochondriale Dysfunktion, erhöhte oxidative Phosphorylierung und oxidativer Stress verantwortlich gemacht (Wehmas et al. 2017; Wood et al. 2015). Durch diese Effekte erfolgt ein erheblicher Eingriff in den Energiestoffwechsel, insbesondere in den der Leberzellen und wahrscheinlich auch, aufgrund ihres hohen Energiebedarfs, in den der Nervenzellen. Mutagene und mitogene Effekte sowie persistente Zytotoxizität spielen für die Tumorentstehung keine Rolle (Begründung 2010).

Neuere Untersuchungen nach Schlundsondenapplikation von Dichloressigsäure an der Maus bestätigen das Auftreten von oxidativem Stress. Abhängig von Expositionsdauer und Dosis werden erhöhte Konzentrationen von Superoxid-Anionen, veränderte Aktivitäten von Superoxid-Dismutase, Katalase und Glutathion-Peroxidase sowie verstärkte Lipidperoxidation beobachtet (Tabelle 1).

Hemmung des Pyruvatdehydrogenase-Kinase-Komplexes

Durch die Inhibierung der Pyruvat-Dehydrogenase-Kinase (PDK) greift Dichloressigsäure in einen zentralen Stoffwechselschritt – die oxidative Decarboxylierung von Pyruvat zu Acetyl-Coenzym A – ein. Die Kinetik-Parameter für verschiedene Isoenzyme der PDK der Ratte sind in Tabelle 2 dargestellt (Bowker-Kinley et al. 1998). Beim Menschen wurden bisher drei Isoenzyme der PDK gefunden, PDK1, PDK2 und PDK3, wobei PDK1 und PDK2 nahezu identisch zu PDK1 und PDK2 der Ratte sind. PDK1 und PDK2 wurden am meisten im Herzen und im Skelettmuskel exprimiert und geringer in Plazenta, Lunge, Gehirn, Niere, Leber und Pankreas. PDK3 wird ausschließlich im Herz und im Skelettmuskel exprimiert (Gudi et al. 1995). Als Ursache für die ZNS-Schäden wird der Thiamin-Mangel vermutet, der seinerseits eine Folge der Aktivierung des Pyruvat-Dehydrogenase-Komplexes durch die Hemmung der Pyruvat-Dehydrogenase-Kinase ist.

Epigenetische Mechanismen

Gegen einen genotoxischen Mechanismus sprechen auch die Befunde, die in einer Studie erhoben wurden, in der die Menge der methylierten Base 5-Methylcytosin gemessen wurde. Nach Darstellung der Autoren spielt 5-Methylcytosin eine Rolle bei der Genexpression; eine Hypomethylierung der DNA durch Abnahme der 5-Methylcytosin-Mengen wird über die Erleichterung der Expression aberranter Gene als nicht genotoxischer epigenetischer Wirkmechanismus einer Tumorpromotion vermutet. Weibliche B6C3F1-Mäuse wurden im Alter von 15 Tagen mit 25 mg N-Methyl-N-nitrosoharnstoff/kg KG einmalig intraperitoneal behandelt und erhielten ab einem Alter von 6 Wochen über einen Zeitraum von 43 bzw. 44 Wochen Trinkwasser mit 25 mmol Dichloressigsäure/l (neutralisiert mit NaOH, pH-Wert 6,5 bis 7,5). Einige Tiere erhielten dieses Trinkwasser 11 Tage bzw. 44 Wochen

Tab. 1 Seit dem Jahr 2008 publizierte Untersuchungen zum Wirkungsmechanismus von Dichloressigsäure in der Leber in vivo

Spezies, Stamm, Anzahl pro Gruppe	Exposition	Befunde	Literatur
Maus, B6C3F1, 8 ♂	einmal, 300 mg/kg KG, Schlundsonde	300 mg/kg KG; 6 u. 12 h: Superoxid-Anionen ↑, Lipidperoxidati- on ↑, DNA-Einzelstrangbrüche ↑	Hassoun und Dey 2008
Maus, B6C3F1, 7 ♂	4 und 13 Wo, 7 d/Wo, 0; 7,7; 77; 154; 410 mg/kg KG u. Tag, Schlundsonde, neutralisiert	4 Wo: ab 7,7 mg/kg KG: Superoxid-Dismutase ↓, Superoxid-Anionen ↑, Lipidperoxidation ↑, DNA-Einzelstrangbrüche ↑ Katalase, Glutathion-Peroxidase: ohne Effekt 13 Wo: ab 7,7 mg/kg KG: Superoxid-Anionen ↑, Lipidperoxidation ↑, DNA-Einzelstrangbrüche ↑ 7,7 u. 77 mg/kg KG: Superoxid-Dismutase ↓, Katalase: ohne Effekt, Glutathion-Peroxidase ↓, 154 u. 410 mg/kg KG: Superoxid-Dismutase ↑, Katalase ↑, Glutathion-Peroxidase ↑ 77 u. 154 mg/kg KG: gesamtes Glutathion ↓ 410 mg/kg KG: abs. u. rel. Lebergewicht ↑	Hassoun et al. 2010; Hassoun und Cearfoss 2011
Maus, B6C3F1, 6 ♂	13 Wo, 7 d/Wo, 0; 7,5; 15; 30 mg/kg KG u. Tag, Schlundsonde, neutralisiert	ab 7,5 mg/kg KG: Superoxid-Anionen ↑, Lipidperoxidation ↑, DNA-Einzelstrang- brüche ↑	Hassoun et al. 2014

Tab. 2 Kinetik-Parameter für unterschiedliche Isoenzyme der Pyruvat-Dehydrogenase-Kinase bei der Ratte (Bowker-Kinley et al. 1998)

Parameter	Spezifische Aktivität [nmol/min pro mg Protein]	Ki für ADP [μ M]	Ki für DCA [mM]	stark exprimiert
PDK1	650 $\pm$ 80	370 $\pm$ 20	1,0 $\pm$ 0,2	Herz
PDK2	50 $\pm$ 5	120 $\pm$ 20	0,2 $\pm$ 0,05	Skelettmuskel, Herz, Hoden, Leber, Gehirn, Niere
PDK3	1250 $\pm$ 200	80 $\pm$ 10	8,0 $\pm$ 1	Hoden
PDK4	400 $\pm$ 60	100 $\pm$ 15	0,5 $\pm$ 0,2	Skelettmuskel, Herz

ADP: Adenosindiphosphat; DCA: Dichloressigsäure; Ki: Gleichgewichtskonstante für einen Inhibitor

lang ohne eine Vorbehandlung mit N-Methyl-N-nitrosoharnstoff. In diesen Gruppen waren die 5-Methylcytosin-Mengen in der hepatischen DNA nach 11-tägiger Behandlung signifikant reduziert. Nach 44 Wochen Gabe entsprachen sie den Werten der Kontrollen. Bei den mit N-Methyl-N-nitrosoharnstoff behandelten Tieren wichen die 5-Methylcytosin-Mengen im nicht veränderten Lebergewebe nicht von denen der Kontrollen ab und waren in den Adenomen dieser Tiere signifikant reduziert. In den Adenomen der Tiere, die nach der N-Methyl-N-nitrosoharnstoff-Gabe 43 Wochen lang mit Dichloressigsäure behandelt worden waren und nach 44 Wochen befundet wurden, waren die 5-Methylcytosin-Mengen nicht mehr reduziert (Tao et al. 1998). Bereits früher hatte diese Arbeitsgruppe gezeigt (Pereira und Phelps 1996), dass sich durch Dichloressigsäure induzierte Adenome und hyperplastische Knoten nach Beendigung der Stoffapplikation zurückbilden.

In einem Folgeversuch wurde nachgewiesen, dass bei weiblichen B6C3F1-Mäusen, die 5 Tage lang mit 500 mg Dichloressigsäure (mit NaOH neutralisiert)/kg KG und Tag per Schlundsonde behandelt worden waren, die Promotorregionen der Protoonkogene c-jun und c-myc hypomethyliert sowie die Expression deren mRNA und die Mengen an c-jun- und c-myc-Proteinen erhöht waren. Methionin, 30 Minuten nach jeder Dichloressigsäure-Gabe intraperitoneal appliziert, verhinderte ab 100 mg/kg KG dosisabhängig die Hypomethylierung und konsekutiv die Expression der entsprechenden mRNA und Proteine. Die Autoren diskutierten, dass Dichloressigsäure eventuell über eine Depletion von S-Adenosylmethionin zu einer Hypomethylierung der Protoonkogene c-jun und c-myc führt, dadurch die Kontrolle der Zellproliferation und der Apoptose verändert und letztlich als epigenetisches Kanzerogen wirkt (BG Chemie 2006; Tao et al. 2000).

Toxikokinetik

Toxikokinetische Parameter und der Metabolismus von Ratte und Mensch sind ausführlich in der Begründung 2010 dargestellt. Im Folgenden werden hauptsächlich Studien beschrieben, die seit dem Jahr 2009 publiziert worden sind.

Das einzige bekannte Enzym, das DCA metabolisiert, ist die zeta-1-Familie der Glutathiontransferase (GSTz1). Daher bestimmt die Aktivität der GSTz1 die Toxikokinetik von Dichloressigsäure. GSTz1 ist auch als Maleylacetoacetatisomerase (MAAI) aktiv, die den vorletzten Schritt des Tyrosinmetabolismus katalysiert. Während der Biotransformation von Dichloressigsäure wird ein Teil der GSTz1 durch Adduktbildung dosisabhängig gehemmt. Gegenüber dem Wildtyp (EGT-Haplotyp) sind weitere vier Polymorphismen im Gen der GSTz1 bekannt, diese werden als KGT-, EGM-, KGM- und KRT-Haplotypen bezeichnet und sind in den Ethnien unterschiedlich häufig ausgeprägt. EGM-, KRT- und KGM-Haplotypen resultieren in zum Teil stark verminderten Aktivitäten des Enzyms. Personen mit den Haplotypen EGM, KRT und KGM eliminieren Dichloressigsäure nur sehr schlecht aus dem Blut, was im Vergleich zu Personen mit dem Wildtyp-Haplotyp eine erhöhte Toxizität von Dichloressigsäure zur Folge hat (Shroads et al. 2012).

Aufnahme, Verteilung, Ausscheidung

Nach oraler Einnahme wird Dichloressigsäure rasch und vollständig resorbiert, es besitzt eine Plasmahalbwertszeit von ungefähr einer Stunde und hemmt seine eigene Verstoffwechslung, was bei wiederholter Gabe mit der Zeit zu einer Erhöhung des Plasmaspiegels und der Eliminationshalbwertszeit führt. Es liegt Evidenz dafür vor, dass die Clearance von Dichloressigsäure und möglicher neurotoxischer Abbauprodukte mit dem Alter abnimmt und vom Genotyp der GSTz1 des Einzelnen abhängt (Michelakis et al. 2010).

Anhand von Kinetikstudien wurde abgeschätzt, dass beim Menschen bei Dosen von mehr als 2 mg/kg KG die Elimination von Dichloressigsäure nicht mehr linear verläuft. Höhere Dichloressigsäure-Dosen führen somit zu einer überproportionalen Belastung mit Dichloressigsäure (Schultz und Shangraw 2006).

Nach oraler Gabe von 1, 5, 20 oder 100 mg/kg KG mit der Schlundsonde war bei Ratten die Bioverfügbarkeit bei der niedrigsten Dosis von 1 mg/kg KG nicht bestimmbar, da Dichloressigsäure im Plasma nicht detektierbar war. Die Bioverfügbarkeit nach Dosierungen von 5 oder 20 mg/kg KG betrug 10 % bzw. 13 %. Bei der höchsten Dosierung von 100 mg/kg KG stieg die Bioverfügbarkeit auf 81 % an. Bei Ratten war nach intravenöser Gabe die AUC (area under the curve) bei 20 mg/kg KG $13,8 \mu\text{g/ml} \times \text{h}$ und damit nicht 20-mal, sondern 100-mal so hoch wie bei 1 mg/kg KG mit $0,15 \mu\text{g/ml} \times \text{h}$. Bei GSTz1-depletierten Ratten ist die AUC bei 20 mg/kg KG 10-mal so hoch wie bei naiven Ratten (Saghir und Schultz 2002).

Die in klinischen Studien jeweils zweimal täglich angewendeten oralen Dosen lagen zwischen 4 und 25 mg/kg KG. Bei einer Dosierung von 6,25 mg/kg KG zweimal täglich werden die zur Hemmung der Pyruvat-Dehydrogenase-Kinase notwendigen Plasmaspiegel erreicht (Michelakis et al. 2010).

In einem Phase-I-Test an Hirntumor-Patienten wurde an einer Person mit dem GSTz1-Haplotyp-EGM/EGM bestätigt, dass eine Dosis von 16 mg/kg KG und Tag zu einem wesentlich höheren Blutspiegel an Dichloressigsäure (280 mg/l, 2,2 mM) führt, als bei Personen, die einen Wildtyp-Haplotyp (2–55 mg/l) aufwiesen (Dunbar et al. 2014).

In einem Phase-I-Test an 24 Patienten betrug bei zweimal täglicher Gabe von 6,25 mg Dichloressigsäure/kg KG der Dichloracetat-Spiegel im Plasma nach 15 Tagen im Median 121,7 μM (59,8–733,1 μM) und bei zweimal täglicher Applikation von 12,5 mg/kg KG lag er bei 436 μM (210,6–1583,5 μM). Bei 28-tägiger Gabe von 6,25 mg Dichloressigsäure/kg KG zweimal pro Tag wurde fast 1 mM erreicht (Chu et al. 2015).

In einer Kammerdiffusionsstudie mit Humanhaut ($n = 3$) wurde neutralisierte Dichloressigsäure bei 40 °C bezüglich ihrer Penetration untersucht. Die Expositionsdauer betrug 24 bis 48 Stunden, die Lag-Time fünf Stunden. Die Rezeptorphase war phosphatgepufferte physiologische Kochsalzlösung. Bei einer Konzentration von 1000 mg neutralisierter Dichloressigsäure/l zeigte sich ein Permeabilitätskoeffizient von $1,9 \times 10^{-3}$ cm/Stunde. In der Studie konnte ferner gezeigt werden, dass die ebenfalls untersuchten Halogenketone bei 40 °C eine dreimal so hohe Permeabilität aufwiesen als bei 20 °C (Xu et al. 2002). Aus dem Permeabilitätskoeffizienten für Dichloressigsäure lässt sich ein Flux von 1,9 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ und Stunde bei 40 °C berechnen. Eine Verdreifachung der Permeabilität bei 40 °C im Vergleich zu 20 °C ist auch für Dichloressigsäure zu unterstellen, so dass ein Flux von 0,63 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ und Stunde für eine 0,1%ige Lösung bei üblichen Temperaturen angenommen wird. Bei einem pH-Wert der Haut von 5,5 liegt Dichloressigsäure mit einem pKa-Wert von 1,48 praktisch vollständig ionisiert vor, so dass die Einstellung auf pH-Wert 7 das Dissoziationsgleichgewicht nicht mehr relevant verändert hat. Der Flux gilt daher für Dichloressigsäure und Dichloracetat. Laut ECHA (2018) ist Dichloressigsäure an der Haut ätzend. Für solche Stoffe ist eine Hautreizung bei Konzentrationen nach CLP-VO ab 1 % anzunehmen. Bei linearer Extrapolation des Fluxes von 0,63 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ auf eine nicht mehr reizende 0,5%ige Lösung wäre bei einstündiger Exposition von 2000 cm^2 Hautoberfläche die Aufnahme 6,3 mg.

Für Natriumdichloracetat und andere Dichloracetate liegen keine Einstufungen bezüglich der Hautreizung vor. In Analogie zu Natriummonochloracetat wird eine Einstufung als hautreizend angenommen. Für solche Stoffe ist eine Hautreizung bei Konzentrationen nach CLP-VO ab 10 % anzunehmen. Bei linearer Extrapolation des Fluxes von 0,63 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ auf eine nicht mehr reizende 5%ige Lösung wäre bei einstündiger Exposition von 2000 cm^2 Hautoberfläche die Aufnahme 63 mg.

Erfahrungen beim Menschen

Natriumdichloracetat wird als Therapeutikum bei diversen Stoffwechselerkrankungen, wie Laktatazidose, Hyperglykämie oder Hypercholesterinämie eingesetzt. Nach kurzzeitiger Applikation von Natriumdichloracetat in Probandenstudien sind bisher keine relevanten Nebenwirkungen festgestellt worden. Bei einer Langzeittherapie mit Natriumdichloracetat bei chronischen Erkrankungen ist aufgrund der schwerwiegenden neurologischen Nebenwirkungen darauf zu achten, dass die Dosis entsprechend

niedrig gewählt wird. Da Dichloressigsäure bzw. Natriumdichloracetat schon lange in der Therapie eingesetzt werden, liegen umfangreiche toxikokinetische und toxikodynamische Daten vor (Stacpoole et al. 1998; siehe auch Begründung 2010).

Bei etwa 50 % aller Patienten, die 25 bis 50 mg Natriumdichloracetat/kg KG und Tag erhielten, traten anxiolytische und sedative Effekte auf. Bei drei Personen wurde über periphere Neuropathien berichtet. Sechs Monate nach dem Absetzen der Medikation waren die Symptome bei allen Personen nicht mehr vorhanden. Eine weitere Gabe von 10 bis 25 mg/kg KG und Tag an eine dieser Personen über einen Zeitraum von zwei Jahren führte nicht mehr zum Auftreten neurologischer Effekte (Stacpoole et al. 1998).

Einsatz in der Tumorthherapie

Seit dem Jahr 2007 wird über eine mögliche Antitumorwirkung von Dichloressigsäure diskutiert. Tumorzellen haben einen erhöhten Energiebedarf, der auch durch den Abbau von Glucose zu Laktat erfolgt (Warburg-Effekt). Da Dichloressigsäure über die Hemmung der Pyruvat-Dehydrogenase-Kinase die oxidative Decarboxylierung von Pyruvat zu Acetyl-Coenzym A verhindert, kommt es zu einer Verminderung der zur Verfügung stehenden Energie (Anti-Warburg-Effekt). Es wurde versucht diesen Effekt in der Tumorthherapie zu nutzen, mit bisher unklarem Erfolg.

Es stehen keine kontrollierten klinischen Studien zur Anwendung von Dichloressigsäure bei Tumorpatienten zur Verfügung.

In einer Phase-I-Studie mit fünf Patienten wurde der Einfluss von Dichloressigsäure auf Glioblastome untersucht. Drei Patienten erhielten Dichloressigsäure zweimal täglich oral in ansteigender Dosierung zwischen 6,25 mg/kg KG und 25 mg/kg KG als Monotherapie und zwei erhielten Dichloressigsäure zusätzlich zur Strahlentherapie und dem Zytostatikum Temozolomid. Die Autoren berichteten von einer Teilremission bei einem der drei Patienten, die ausschließlich Dichloressigsäure erhalten hatten. Auf Grundlage der Ergebnisse dieser Studie besteht eine sehr schwache Evidenz für die Wirksamkeit von Dichloressigsäure gegen Glioblastome. Bei einer Dosierung unterhalb von 6,25 mg/kg KG zweimal täglich (12,5 mg/kg KG und Tag) hatte keiner der Patienten periphere Neuropathien. In den ersten zwei bis drei Monaten war im Plasma keine Dichloressigsäure detektierbar. Nach drei Monaten betrugen die Plasmaspiegel bei vier Patienten $0,44 \pm 0,16$ mM, was im Bereich der Hemmkonzentration von 0,2 mM für PDK2 liegt (Michelakis et al. 2010).

In einer anderen Phase-I-Studie wurde die Sicherheit und das Ansprechen einer Dichloressigsäure-Therapie bei 13 Patienten mit hochgradigen Gliomen und zwei Patienten mit Hirnmetastasen von Adenokarzinomen des Uterus bzw. der Lunge untersucht. Die Patienten erhielten vier Wochen lang zweimal täglich 8 mg Dichloressigsäure/kg KG oral. Die Dichloressigsäure-Dosis wurde je nach Genotyp der GSTz1 adaptiert. Das beste objektive Ergebnis nach vierwöchiger Behandlung war eine stabile Erkrankung bei acht Patienten. Auf Grundlage dieser Ergebnisse ließ sich die Hypothese eines eingeschränkten Effekts von Dichloressigsäure bei Glioblastomen oder Hirnmetastasen aufstellen. Bei zwei der acht Patienten traten Gangstörungen mit Neuropathien (Grad 1) in den Fingerspitzen und Zehen mit Muskelschwäche und Ataxie auf. Bei einem „langsam metabolisierenden“ Patienten traten die Symptome im zweiten Zyklus nach vier Wochen und bei einem „schnell metabo-

lisierenden“ Patienten im sechsten Zyklus, nach 24 Behandlungswochen auf. Bei drei weiteren Patienten traten Gangstörungen auf. Ein Patient mit dem GSTz1-Haplotyp EGM/EGM, der eine Dosis von 16 mg/kg KG und Tag erhielt, reagierte nach 26 Tagen mit Neuropathie und einer erhöhten Transaminase-Aktivität im Blut. Die Autoren empfehlen für Personen, die kein Wildtyp-Allel für die Enzyme aufweisen, eine Dosis von 10 mg/kg KG und Tag, um Nebenwirkungen wie Neuropathien möglichst zu vermeiden (Dunbar et al. 2014).

Eine weitere Phase-I-Studie wurde zur Beurteilung der Sicherheit der Dichloressigsäure-Behandlung und zur Dokumentation eines möglichen Effekts auf den Tumor bei 24 Patienten mit therapierefraktären, fortgeschrittenen soliden Tumoren durchgeführt. Für die Dauer von 28 Tagen erhielten 16 Patienten zweimal täglich oral 6,25 mg Dichloressigsäure/kg KG. Bei sieben Patienten wurde die zweimal täglich verabreichte Dichloressigsäure-Dosis auf 12,5 mg/kg KG gesteigert. Die Behandlung wurde maximal 28 Tage, bis zur Progression der Erkrankung oder bis zum Auftreten einer nicht hinnehmbaren Toxizität fortgesetzt. Das objektiv beste Ergebnis war auch in dieser Studie eine stabile Erkrankung bei acht Patienten. Auf Basis dieser Phase-I-Studie lässt sich eine Wirkung von Dichloressigsäure bei der Behandlung fortgeschrittener und therapierefraktärer solider Tumoren weder belegen noch widerlegen (Chu et al. 2015).

Tierexperimentelle Befunde und In-vitro-Untersuchungen

Subakute, subchronische und chronische Toxizität

Inhalative Aufnahme

Hierzu liegen auch weiterhin keine Informationen vor.

Orale Aufnahme

In Tabelle 3 sind die aus den verschiedenen Studien nach oraler Applikation abgeleiteten NOAEL und LOAEL dargestellt. Die einzelnen Studien sind in der Begründung aus dem Jahr 2010 (Begründung 2010) ausführlich beschrieben. Für die Endpunkte Leberadenome, -karzinome und Hepatozytenproliferation lässt sich aus der 100-Wochen-Trinkwasserstudie für die männliche Ratte ein systemischer NOAEL von 3,6 mg/kg KG und Tag ableiten. Die weibliche Maus reagierte auf Dichloressigsäure unempfindlicher als die männliche. Bei 52 mg/kg KG und Tag wurden erhöhte relative Lebergewichte und eine Vakuolisierung der Hepatozyten beobachtet. Bei dieser Dosis traten aber keine Leberkarzinome auf. Für die männliche Maus lässt sich kein NOAEL ableiten. Bereits bei der niedrigsten Dosis von 8 mg/kg KG und Tag wurden erhöhte Inzidenzen an Leberkarzinomen beobachtet. Andere Effekte wurden nicht beschrieben.

Auch für männliche und weibliche Hunde ist es nicht möglich einen NOAEL anzugeben, da bereits bei der niedrigsten Dosis von 12,5 mg/kg KG und Tag Effekte auf das ZNS und histopathologische Veränderungen am Hoden auftraten.

Tab. 3 NOAEL und LOAEL nach wiederholter oraler Applikation von Dichloressigsäure oder Natriumdichloracetat

Spezies	Dosis [mg DCA/NDCA ¹⁾ /kg KG und Tag] Dauer (Applikation)	Effekt	Literatur
Ratte			
F344 ♂	3,6 DCA 100 Wochen (Trinkwasser)	NOAEL bzgl. Peroxisomenproliferation, Hepatozytenproliferation, Leberkarzinome	DeAngelo et al. 1996
Sprague Dawley ♂	3,9 DCA 13 Wochen (Trinkwasser)	NOAEL (keine histopathologischen Veränderungen im Gehirn)	Mather et al. 1990
F344/Long Evans ♂	16 DCA 13 Wochen (Trinkwasser)	LOAEL Gangstörungen (siehe Tabelle 4)	Moser et al. 1999
Maus			
B6C3F1 ♂	8 DCA 100 Wochen (Trinkwasser)	LOAEL Leberkarzinominzidenzen signifikant erhöht	DeAngelo et al. 1999; DeAngelo und Daniel 1990
B6C3F1 ♀	40 DCA 576 Tage (Trinkwasser)	NOAEL bzgl. Leberadenome und Karzinome, LOAEL Lebereffekte	Pereira 1996
B6C3F1 ♀	94 DCA 104 Wochen (Trinkwasser)	NOAEL bzgl. Leberkarzinome	Schroeder et al. 1997
Hund			
Beagle ♂ u. ♀	12,5 NDCA 13 Wochen (Gelatinekapseln)	LOAEL histopathologische Veränderungen: ZNS, Hoden, Gallenblase, Leber	Cicmanec et al. 1991

¹⁾ DCA: Dichloressigsäure; NDCA: Natriumdichloracetat

Für den Endpunkt Neurotoxizität (Tabelle 4) lässt sich aus der 13-Wochen-Trinkwasserstudie von Moser et al. (1999) für adulte Long-Evans-Ratten ein NOAEL von 23 mg/kg KG und Tag ableiten. Bei adulten und jungen F344-Ratten traten bei der niedrigsten Dosis (16–18 mg/kg KG und Tag) Gangstörungen auf, die als erste Anzeichen für eine neurotoxische Wirkung zu werten sind. Eine BMDL kann nicht berechnet werden, da keine Inzidenzen angegeben sind. Eine Dosis von 16 mg/kg KG würde 10 mg/m^3 ($16 \text{ mg/kg KG} / 4 \times 70 \text{ kg/10 m}^3 \times 7/5 / 2 / 2$) für eine Arbeitsplatzexposition entsprechen.

Tab. 4 Neurotoxische Wirkung von Dichloressigsäure nach Trinkwasserapplikation an jungen und adulten Long-Evans- und F344-Ratten (Moser et al. 1999)

Stamm	Alter (Tage)	Dauer (Wochen)	Dosis [mg/kg KG]: Effekte
je 10 LE	29–30	13	17: Gangstörungen 88: Abnahme der Griffstärke der Vorder- und Hinterbeine (keine Dosis-Wirkungs-Beziehung) 192: Tremor, Hypotonie, Inhibierung des Pupillenreflexes
je 10 F344	29–30	13	ab 16: Gangstörungen 173: Abnahme der Griffstärke der Vorder- und Hinterbeine, Tremor, Hypotonie, Inhibierung des Pupillenreflexes
je 10 LE	68–69	8	23: NOAEL ab 122: Abnahme der Griffstärke der Vorder- und Hinterbeine, kein Effekt auf die Fußspreizung, Defizite beim Aufrichten (righting reaction deficits) bei 33 %
je 10 F344	68–69	8	18: Gangstörungen ab 91: Abnahme der Griffstärke der Vorder- und Hinter- beine, zunehmende Fußspreizung, Defizite beim Aufrichten (righting reaction deficits) bei 40 %, ungewöhnliches Brustkorb-Umklammern beim Hochheben am Schwanz

LE: Long-Evans

Eine weitere Studie zur Neurotoxizität an jungen und adulten weiblichen Sprague-Dawley-Ratten wurde mit Dichloracetat (k. w. A.), 16 Wochen lang per Schlundsonde verabreicht, durchgeführt. Junge Ratten, im Alter von 4 bis 6 Wochen, erhielten im ersten Versuch 0 oder 50 mg/kg KG und Tag und im zweiten Versuch 0, 100, 200 oder 500 mg/kg KG und Tag, adulte Ratten (Alter 12 bis 14 Wochen) 0 oder 500 mg/kg KG und Tag. Im ersten Versuch waren bei 50 mg/kg KG die motorische und sensorische Nervenleitgeschwindigkeit (SNCV) signifikant verlangsamt und die taktile Wahrnehmungsschwelle signifikant erhöht. Im zweiten Versuch war der empfindlichste Endpunkt die sensorische Nervenleitgeschwindigkeit, die nach 16 Wochen dosisabhängig verlangsamt war. Die motorischen Fasern waren von dieser Veränderung nicht im gleichen Umfang betroffen. Die Reaktion auf thermischen Schmerz war nicht verändert (Calcutt et al. 2009). Nicht erklärbar ist, dass die Veränderungen in der 100-mg/kg-Gruppe schwächer ausfallen als im ersten Versuch nach Gabe von 50 mg/kg KG und Tag. Keiner der post-hoc-Tests war signifikant. Das Startgewicht der Tiere war etwas unterschiedlich, aber in den anderen abhängigen Variablen sind keine Unterschiede zwischen den beiden Kontrollgruppen zu finden. Das Ausbleiben signifikanter Effekte beim post-hoc-Test bei der SNCV kann mit der höheren Varianz in der Kontrollgruppe zusammenhängen. Die absoluten Werte für diesen Parameter sind in den 50- und 100-mg/kg-Dosisgruppen der beiden Experimente sehr ähnlich. Die Ursache dieser Veränderung liegt in der Reduktion des Durchmessers der nicht-myelinisierten Nervenfasern der behandelten Tiere. Auch hier sind nominelle Unterschiede zwischen der Kontrollgruppe und der

100-mg/kg-Gruppe erkennbar, signifikant sind diese Unterschiede jedoch nicht. Dieser Effekt findet sich dagegen im ersten Experiment nicht, und es ist unklar, was die Ursache der verlangsamten SNCV in diesem Experiment ist. Im zweiten Experiment ist die taktile Wahrnehmungsschwelle nicht bestimmt worden, und die Schmerzschwellen sind nicht so sensitiv wie dieser Endpunkt. Dass diese Information fehlt, erschwert den Vergleich der beiden Experimente. Die weiteren biochemischen und neuropathologischen Befunde, die an den älteren Tieren erhoben wurden, geben deutliche Hinweise, dass der Wirkmechanismus für die Effekte von Dichloressigsäure am peripheren Nervensystem eine über oxidativen Stress vermittelte Verringerung des Faserdurchmessers unmyelinisierter Nerven ist. Da die Ergebnisse der beiden Versuche mit jungen Ratten nicht konsistent sind, wird aus dieser Studie kein NOAEL abgeleitet.

Wirkung auf Haut und Schleimhäute

Dichloressigsäure wirkt an der Haut und am Auge von Kaninchen ätzend (Begründung 2010). Für Natriumdichloracetat liegen weiterhin keine Informationen vor.

Genotoxizität

Ausführlich sind die Studien zur Genotoxizität in der Begründung aus dem Jahr 2010 (Begründung 2010) beschrieben. Zusammenfassend wird festgestellt, dass sich eine schwach mutagene Wirkung nur für die Stämme TA100 und TA1535 aus den In-vitro-Studien ableiten lässt. Die beobachtete klastogene Wirkung in vitro lässt sich durch die extreme Säurewirkung erklären, da das Medium nach Zugabe der Dichloressigsäure nicht neutralisiert wurde.

Positive und negative Ergebnisse in Tests auf DNA-Crosslinks und -Strangbrüche in vivo wurden berichtet. Die Diskrepanzen lassen sich anhand der methodischen Details nicht erklären. Die positiven Daten zur Induktion von Mikronuklei werden durch die stark schwankenden Kontrollwerte als nicht aussagekräftig betrachtet. Ihnen stehen mehrere methodisch gut durchgeführte Studien mit negativen Ergebnissen gegenüber, so dass der Verdacht auf eine klastogene Wirkung von Dichloressigsäure in vivo nicht erhärtet werden konnte. Eine schwache Genmutagenität bei der Big-Blue-Maus wurde erst bei Dosen hervorgerufen, die weit über denen lagen, die an der Maus kanzerogen wirkten, so dass Mutationen nicht im Vordergrund der kanzerogenen Wirkung stehen (Begründung 2010).

Nach dem Jahr 2009 publizierte In-vitro-Studien werden im Folgenden beschrieben.

Ein Test auf Induktion der SOS-Antwort in *S. typhimurium* TA1535/pSK1002 (SOS/umu-Test) war ab einer Konzentration von 15 511 µmol Dichloressigsäure/l positiv. Die Zytotoxizität, parallel in einem Mikroplatten-Zytotoxizitätstest bestimmt, wurde in einem Konzentrationsbereich von 200 bis 77 600 µmol/l gemessen. Die niedrigste zytotoxische Konzentration betrug 7760 µmol/l. Nach Aussage der Autoren korreliert die Zytotoxizität stark mit der genotoxischen Wirkung (Zhang et al. 2016). Eine Angabe zur Neutralisierung bzw. zum pH-Wert erfolgte nicht.

In einem Comet-Assay an CHO-Zellen (Zelllinie AS52), die vier Stunden lang gegen Dichloressigsäure in Konzentrationen zwischen 1 und 25 mM exponiert wurden, wurde keine Zunahme an DNA-Strangbrüchen beobachtet (Plewa et al. 2002). Die Konzentration, die zu einer Reduktion des Zellwachstums um 50 % der Kontrolle führte, betrug 7,3 (Plewa et al. 2010) bzw. 11,46 mM (Plewa et al. 2002). Selbst unter zytotoxischen Bedingungen konnte keine DNA-schädigende Wirkung nachgewiesen werden. Eine Angabe zur Neutralisierung bzw. zum pH-Wert erfolgte nicht.

In einem weiteren Comet-Assay an HepG2-Zellen, die vier Stunden lang gegen 0 bis 10 000 μM Dichloressigsäure exponiert waren, wurden DNA-Schäden ab 10 μM gemessen. Bei diesen Konzentrationen lag die Zytotoxizität unter 25 % (Zhang et al. 2012). Eine Angabe zur Neutralisierung bzw. zum pH-Wert erfolgte nicht.

In einem Mikronukleustest mit menschlichen Lymphozyten wurde Dichloressigsäure in Konzentrationen von 0, 25, 50 oder 100 $\mu\text{g/ml}$ (0, 194, 388, 776 $\mu\text{mol/l}$) getestet. Die Behandlung der Zellen dauerte 48 Stunden. Bei der mittleren und höchsten Konzentration war die Zunahme an Mikronuklei signifikant erhöht, aber nicht konzentrationsabhängig. Die Überlebensrate der Lymphozyten betrug in Abhängigkeit von der Konzentration im Vergleich zur Kontrolle 62 %, 41 % bzw. 24 %. Im Vergleich zur Kontrollgruppe waren signifikant mehr Zellen in der S-Phase, und die Apoptoserate nahm zu, aber nicht konzentrationsabhängig. Ein Anstieg der Mikronuklei erfolgte damit nur bei zytotoxischen Konzentrationen und einer erhöhten Apoptoserate (Varshney et al. 2013). Auch in dieser Publikation wird nicht angegeben, ob eine Neutralisierung nach Zugabe der Testsubstanz stattfand bzw. ob eine pH-Wert-Bestimmung erfolgte.

In einem HPRT-Genmutationstest mit CHO-Zellen (0–10 000 μM) ohne Zusatz metabolischer Aktivierung (mit metabolischer Aktivierung wurde nicht getestet) wurde in zwei nacheinander durchgeführten Testreihen eine Zunahme der Mutationshäufigkeit ab 1000 μM nachgewiesen (überlebende Zellen der zweiten Testreihe, 1000, 5000 bzw. 10 000 μM : 75,5 %; 53,1 % bzw. 42,5 % im Vergleich zur Kontrolle). Eine Angabe zur Neutralisierung bzw. zum pH-Wert erfolgte nicht (Zhang et al. 2010).

Fazit: Die seit der Begründung 2010 veröffentlichten In-vitro-Tests zeigen positive Ergebnisse im SOS/umu-Test mit *Salmonella typhimurium*, im Comet-Assay mit HepG2-Zellen, im Mikronukleustest mit humanen Lymphozyten und im HPRT-Genmutationstest. Angaben über die Neutralisierung nach Zugabe der Testsubstanz bzw. über eine pH-Wert-Kontrolle liegen in keiner der Publikationen vor, so dass die positiven Ergebnisse vermutlich auf die Säurewirkung zurückzuführen sind.

Kanzerogenität

Es liegen keine Studien zur inhalativen Exposition vor. In allen Trinkwasserstudien wurde Dichloressigsäure auf einen pH-Wert von ca. 7 eingestellt, das heißt, die kanzerogenen Effekte sind von der Säurewirkung unabhängig und beruhen auf der Applikation von Dichloracetat. Die Kanzerogenitätsstudien an Ratten und Mäusen nach Trinkwasserapplikation mit den niedrigsten Dosierungen sind in Tabelle 5 nochmals dargestellt.

Tab. 5 Studien zur Kanzerogenität von Dichloressigsäure an Ratte und Maus

Autor:	DeAngelo et al. 1996; DeAngelo und Daniel 1992; Richmond et al. 1995				
Stoff:	Dichloressigsäure (Reinheit > 99 %), neutralisiert				
Spezies:	Ratte, F344/N, je 50–78 ♂				
Applikation:	Trinkwasser				
Konzentration:	1. Versuch: 0 (2,0 g NaCl/l); 0,05; 0,5; 5,0 g/l (nach 9 Wochen von 5,0 g/l auf 2,5 g/l; nach 23 Wochen auf 2,0 g/l; nach 52 Wochen auf 1,0 g/l reduziert und schließlich aus dem Versuch genommen) (0; 3,6; 40,2 mg/kg KG und Tag) 2. Versuch: 0 (Wasser); 2,5 g/l (nach 8 Wochen auf 1,5 g/l; nach 26 Wochen auf 1,0 g/l reduziert; 1,6 g/l im Mittel, entspricht 139,1 mg/kg KG und Tag)				
Dauer:	1. Versuch: 100 Wochen 2. Versuch: 103 Wochen				
Toxizität:	1. Versuch: höchste Dosisgruppe: periphere Neuropathie der hinteren Extremitäten nicht reversibel, deshalb Tötung nach 60 Wochen 2. Versuch: KG signifikant ↓				
	Dosis [mg/kg KG und Tag]				
	0	3,6	40,2	0	139
Überlebende nach 100 bzw. 103 Wochen	23/50	21/60	23/60	33/78	28/78
Tumoren und Präneoplasien ^{a)}					
Leber:					
hyperplastische Knoten	1/23 (4,4 %)	0/26	3/29 (10 %)	1/33 (3,0 %)	1/28 (3,6 %)
Adenome ¹⁾	1/23 (4,4 %)	0/26	6/29 (21 %)*	0/33	3/28 (10,7 %)
Karzinome ²⁾	0/23	0/26	3/29 (10 %)	1/33 (3,0 %)	6/28 (21,4 %)*
Adenome und Karzinome ³⁾	1/23 (4,4 %)	0/26	9/29 (31 %)**	1/33 (3,0 %)	8/28 (28,6 %)**
hyperplastische Knoten, Adenome und Karzinome	2/23 (8,7 %)	0/26	12/29 (41 %)**	2/33 (6,1 %)	9/28 (32,1 %)**

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

^{a)} Es wurden nur Tiere untersucht, die mehr als 78 Wochen überlebten.

¹⁾ historische Kontrolle: Inzidenz 2,3 %; Bereich 0–10 % (Haseman et al. 1998)

²⁾ historische Kontrolle: Inzidenz 0,7 %; Bereich 0–6 % (Haseman et al. 1998)

³⁾ historische Kontrolle: Inzidenz 2,8 %; Bereich 0–10 % (Haseman et al. 1998)

Tab. 5 (Fortsetzung)

Autor:	DeAngelo et al. 1999					
Stoff:	Dichloressigsäure (Reinheit > 99 %), neutralisiert					
Spezies:	Maus , B6C3F1, je 35–88 ♂					
Applikation:	Trinkwasser					
Konzentration:	0; 0,05; 0,5; 1; 2; 3,5 g/l (0; 8; 84; 168; 315; 429 mg/kg KG und Tag)					
Dauer:	100 Wochen, Zwischensektionen 10 Tiere/Gruppe nach 26, 52, 78 Wochen					
Toxizität:	ab 315 mg/kg KG: abs. u. rel. Lebergewicht ↑, KG ↓					
	Dosis [mg/kg KG und Tag]					
	0 (Wasser)	8	84	168	315	429
Tiere zu Beginn der Studie	88	35	55	71	55	46
Zwischen-tötungen	35	–	30	30	30	30
gestorbene Tiere	3	2	1	9	11	8
Überlebende nach 100 Wochen	50	33	24	32	14	8
histopathologisch untersucht	85	33	55	65	51	41
Tumoren						
Leber:						
Adenome ¹⁾	5/50 (10 %)	1/33 (3 %) ³⁾	5/25 (20 %)	18/35 (51 %)*	9/21 (43 %)*	5/11 (45 %)*
Karzinome ²⁾	13/50 (26 %)	11/33 (33 %)*	12/25 (48 %)*	25/35 (71 %)*	20/21 (95 %)*	11/11 (100 %)*

*p ≤ 0,05; **p ≤ 0,01

¹⁾ historische Kontrolle: Inzidenz 29,4 %; Bereich 4–60 % (Haseman et al. 1998)²⁾ historische Kontrolle: Inzidenz 17,9 %; Bereich 6–29 % (Haseman et al. 1998)³⁾ nach US EPA (2003)

Tab. 5 (Fortsetzung)

Autor:	Pereira 1996				
Stoff:	Dichloressigsäure, neutralisiert				
Spezies:	Maus , B6C3F1, je 38–134 ♀				
Applikation:	Trinkwasser				
Konzentration:	1. Versuch: 0 (NaCl); 2; 6,67; 20 mmol/l (258, 860, 2580 mg/l, ca. 40; 133; 400 mg/kg KG und Tag, aus den Daten von DeAngelo et al. (1999) abgeschätzt; pH-Wert 6,5–7,5) 2. Versuch: 20 mmol/l intermittierend (24 Tage Applikation, 48 Tage Pause, entspricht durchschnittlich 6,67 mmol/l (133 mg/kg KG und Tag))				
Dauer:	360, 576 Tage				
Toxizität:	KG bei 400 mg/kg KG ↓, dosisabhängige Erhöhung der rel. Lebergewichte, Vakuolisierung der Hepatozyten, k. A. zu Überlebenden				
	Dosis [mg/kg KG und Tag]				
	0	40	133	400	133 (intermittierend)
Tumoren und Präneoplasien (nur Leber untersucht):					
360 Tage					
Foci veränderter Zellen	0/40	0/40	1/20 (5 %)	8/20 (40 %)*	0/15
Adenome	1/40 (2,5 %)	0/40	3/20 (15 %)	7/20 (35 %)	0/15
Karzinome	0/40	0/40	0/20	1/20 (5 %)	0/15
576 Tage					
Foci veränderter Zellen	10/90 (11 %)	7/50 (14 %)	11/28 (39 %)*	17/19 (89 %)*	14/34 (41 %)*
Adenome ¹⁾	2/90 (2,2 %)	3/50 (6,0 %)	7/28 (25 %)*	16/19 (84 %)*	3/34 (8,8 %)
Karzinome ²⁾	2/90 (2,2 %)	0/50	1/28 (3,6 %)	5/19 (26 %)*	1/34 (2,9 %)

* $p \leq 0,05$,¹⁾ historische Kontrolle: Inzidenz 17,3 %, Bereich 2–50 % (Haseman et al. 1998)²⁾ historische Kontrolle: Inzidenz 8,4 %, Bereich 0–20 % (Haseman et al. 1998)

Nach Gabe von 40 mg Dichloressigsäure/kg KG und Tag mit dem Trinkwasser war bei männlichen Ratten die Inzidenz an Lebertumoren signifikant erhöht. Bei der niedrigsten getesteten Dosis von 3,6 mg/kg KG und Tag traten keine Lebertumoren auf. Bei der männlichen B6C3F1-Maus war ab der niedrigsten Dosierung von 8 mg/kg KG und Tag die Anzahl der Tiere mit Leberkarzinomen signifikant erhöht. Für die weibliche Maus lässt sich ein NOAEL von 52 mg/kg KG für die kanzerogene Wirkung ableiten. Lebertumoren treten bei der B6C3F1-Maus sehr häufig auf. Die Zahl der Lebertumoren war jedoch sowohl bei den männlichen als auch bei den weiblichen Mäusen dosisabhängig erhöht, und die Inzidenzen lagen deutlich oberhalb der zum damaligen Zeitpunkt vom NTP angegebenen historischen Kontroll-daten. Dichloressigsäure erwies sich damit an der Leber von Ratte und Maus als kanzerogen. Weiterhin wurde in allen Initiations-Promotions-Versuchen eine tumormpromovierende Wirkung von Dichloressigsäure beobachtet. Eine signifikant erhöhte Proliferationsrate wurde nach 5-tägiger Exposition bei der Maus in der Leber gemessen, nach einer Expositions-dauer von 12 Tagen bis 100 Wochen jedoch nicht mehr (Begründung 2010).

Es liegt eine neue Trinkwasserstudie an der Maus vor, in der die kanzerogene Wirkung an der männlichen und weiblichen Maus bestätigt wird. Die Tiere wurden 10 Wochen lang gegen neutralisierte Dichloressigsäure exponiert und weitere 84 Wochen nachbeobachtet oder gegen Phenobarbital exponiert. Bis 232 mg/kg KG traten bei der männlichen Maus keine erhöhten Inzidenzen an Leberkarzinomen auf. Bei den weiblichen Tieren war die Inzidenz an Leberkarzinomen erhöht, jedoch nicht statistisch signifikant (Tabelle 6). Die relative mRNA-Expression von *CAT* (Katalase), *Nqo1* (NAD(P)H-Dehydrogenase (quinone 1)), *Hmox1* (Hämoxigenase 1), *Gclm* (Glutamat-Cystein-Ligase), *Cyp2b10* (Cytochrom-P450 2b10), *Cyp4a10* (Cytochrom-P450 4a10), *Bcl2* (B-Zelllymphoma 2), *Mki67* (Protein-Phosphatase 1 regulatorische Untereinheit) war nach alleiniger Gabe von Phenobarbital erhöht. Die Gene sind Marker für oxidativen Stress, Mitogenese, Apoptose und Zellproliferation. Nach alleiniger Exposition gegen Dichloressigsäure wurden keine signifikanten Veränderungen dieser mRNA-Profile, keine Veränderung der DNA-Methylierung oder der Verteilung der Single-Nukleotid-Varianten beobachtet (Wood et al. 2015).

In einer weiteren Studie wurden bei männlichen Mäusen, die entweder 93 Wochen lang oder nur für 4 bis 52 Wochen Dichloressigsäure mit dem Trinkwasser und dann bis zur 93. Woche nur noch Wasser erhielten, der Verlauf der Zellproliferation und der Metabolismus während der Entstehung der Leberzellkarzinome untersucht. Weiterhin wurde eine Kurzzeitstudie (6, 15 und 30 Tage) mit jeweils 8 Tieren pro Dosisgruppe (0; 0,5; 1; 2 oder 3,5 g/l) durchgeführt. Nur in der 10. Woche war die Zellproliferation leicht erhöht. Die Zahl der Tiere mit Karzinomen war nach vierwöchiger Gabe von Dichloressigsäure in der 86. Woche der Nachbeobachtungszeit signifikant erhöht. Nach 52-wöchiger Expositions-dauer traten die ersten Adenome und Karzinome auf und waren signifikant erhöht (Tabelle 7). Eine veränderte Genexpression wurde für Gene, die für mitochondriale Dysfunktion, oxidative Phosphorylierung, NRF2-vermittelte Antwort auf oxidativen Stress und Aktivierung von Farnesoid X Rezeptor/Retinoid X Rezeptor-alpha (FXR/RXR α), LXR (Leber X-Rezeptor)/RXR und Peroxisom-Proliferator-aktivierter Rezeptor alpha (PPAR α)/RXR α beobachtet. Eine Zunahme der DNA-Sequenz-Varianten, un-

Tab. 6 Trinkwasserstudie zum kanzerogenen Wirkmechanismus nach Gabe von Dichloressigsäure und Phenobarbital

Autor:	Wood et al. 2015							
Stoff:	Dichloressigsäure (Reinheit > 99 %), neutralisiert							
Spezies:	Maus , B6C3F1, je 48 ♂, je 48 ♀							
Applikation:	Trinkwasser							
Konzentration:	0 (deionisiertes Wasser); ♂: 1; 2; 3,5 g/l (136, 232, 297 mg/kg KG und Tag); ♀: 1, 2 g/l (142, 253 mg/kg KG und Tag)							
Studiendesign:	10 Wochen: ♂: 0, 1; 2; 3,5 g DCA/l, ♀: 0, 1, 2 g DCA/l Anschließend: 84 Wochen deionisiertes Wasser oder 0,06 % Phenobarbital							
Toxizität:	Körpergewicht und Futterverbrauch ohne Effekt, keine erhöhte Mortalität, reduzierter Wasserverbrauch, ab 2 g DCA/l: Lebergewicht ↑							
		Dosis [g/l]						
		0	PB	1 DCA	1 DCA + PB	2 DCA	2 DCA + PB	3,5 DCA
Leber								
Blastome	♂	0/27	5/20	1/27	7/19*	0/27	8/19**	0/26
	♀	0/27	0/20	0/26	0/19	0/28	0/20	–
Adenome	♂	5/27	16/20**	13/27 ¹⁾ *	14/19**	11/27	16/19**	15/26*
	♀	0/27	16/20**	9/26**	17/19**	6/28	19/20**	–
Karzinome	♂	8/27	13/20	8/27	11/19	6/27	13/19 ¹⁾ *	19/26*
	♀	0/27	4/20	2/26	4/19	3/28	8/20**	–
Summe	♂	12/27	20/20**	15/27	16/19	14/27	19/19**	24/26**
	♀	0/27	17/20**	10/26**	18/19**	9/28**	19/20**	–

PB: Phenobarbital,

*p ≤ 0,05; **p ≤ 0,01,

¹⁾nachträglich mit einseitigem Fisher-Exact-Test berechnet

abhängig vom Alter und von der Dichloressigsäure-Exposition, war nicht messbar. Ein Effekt auf die Apoptose trat weder in der Kurzzeitstudie noch in der chronischen Studie nach 57 Wochen (einziger Messzeitpunkt) auf. Die Autoren erwähnen, dass zu keinem Zeitpunkt Zytotoxizität beobachtet wurde, die Ergebnisse werden jedoch nicht beschrieben. Für die kanzerogene Wirkung machen die Autoren mitochondriale Dysfunktion, veränderte oxidative Phosphorylierung, Antwort auf oxidativen Stress und Einfluss auf den Fett- und Kohlenhydratstoffwechsel in der Zelle verantwortlich. Eine Mitwirkung von Mitogenese, Mutagenese oder persistente Zytotoxizität schließen sie als Mechanismus weitgehend aus (Wehmas et al. 2017).

Tab. 7 Chronische Gabe von Dichloressigsäure mit dem Trinkwasser zur Untersuchung der Zellproliferation und des Metabolismus

Autor:	Wehmas et al. 2017					
Stoff:	Dichloressigsäure (Reinheit > 99 %), neutralisiert					
Spezies:	Maus, B6C3F1, insgesamt 404 ♂, (Aufteilung in Gruppen siehe Tabelle)					
Applikation:	Trinkwasser					
Konzentration:	0 (deionisiertes Wasser) oder 3,5 g/l (ca. 429 mg/kg KG und Tag)					
Studiendesign:	0, 3,5 g/l, 93 Wo durchgehend, oder 3,5 g/l für 4, 10, 26, 52 Wo, dann bis zur 93. Woche unbehandelt					
Toxizität:	Körpergewicht 20 % ↓, keine erhöhte Mortalität, reduzierter Wasserverbrauch, rel. Lebergewicht bis zur 57. Wo ↓, dann wieder ↑, reversible Leberzellhypertrophie und Leberzellnekrose					
	DCA-Exposition / Wasser (in Wochen)					
	0/93	4/89	10/83	26/67	52/41	93/0
Leber						
Adenome	12/53 (23 %)	7/28 (25 %)	18/55 (33 %)	22/54* (41 %) ¹⁾	30/54* (56 %)	26/44* (59 %)
Karzinome	9/52 (17 %)	23/28* (82 %)	27/55* (49 %)	32/54* (59 %)	35/54* (65 %)	41/44* (93 %)
Adenome und Karzinome	19/52 (37 %)	24/28* (86 %)	34/55* (62 %)	39/54* (72 %)	49/54* (91 %)	44/44* (100 %)

*p < 0,05,

¹⁾ nachträglich mit einseitigem Fisher-Exact-Test berechnet

Bewertung

Die empfindlichsten Endpunkte sind die Reizwirkung, die kanzerogene Wirkung auf die Leber bei Ratte und Maus und die nachgewiesene neurotoxische Wirkung beim Menschen.

MAK-Wert. Es liegen keine Daten nach wiederholter inhalativer Exposition beim Menschen oder beim Tier vor. Ähnlich wie bei Mono- und Trichloressigsäure sind jedoch neben systemischen Wirkungen auch Wirkungen am Atemtrakt aufgrund der Säureeigenschaften zu erwarten. Der pka-Wert von Dichloressigsäure ist niedriger als der von Phosphorsäure, deshalb wird der MAK-Wert, analog zu dem der ebenfalls stärker sauren Trichloressigsäure auf die Molmassen bezogen, bei 0,2 ml/m³ (1,1 mg/m³) festgesetzt. Bei einem MAK-Wert von 1,1 mg/m³ für Dichloressigsäure würden bei einem Atemvolumen von 10 m³ 11 mg bzw. 0,16 mg/kg KG und Tag aufgenommen. Diese Dosis liegt deutlich unter der therapeutisch verwendeten Dosis von 12,5 mg/kg KG und Tag.

Tab. 8 Übersicht über die NOAEL und LOAEL und die sich daraus ergebenden Arbeitsplatzkonzentrationen

Spezies	Endpunkt	NOAEL [mg/kg KG und Tag]	LOAEL [mg/kg KG und Tag]	umgerechnete Arbeits- platzkonzentration [mg/m ³]
Ratte F344	Leber	3,6	40	4
Maus B6C3F1	Leber	40 ♀	8 ♂	3,7
Ratte F344 (jung)	Neurotoxizität	–	16	10
Ratte Long Evans	Neurotoxizität	23	122	28
Mensch	Neurotoxizität	< 10	> 10	70
Mensch	Reizwirkung Analogie zu TCA	Aufnahme 1,1 mg/m³ × 10 m³ = 11 mg/Tag 0,16 mg/kg KG bis 2 mg/kg KG lineare Elimination		0,2 ml/m³ ≙ 1,1 mg/m³

TCA: Trichloressigsäure

Ab 2 mg/kg KG wird Dichloressigsäure vom Menschen nicht mehr linear eliminiert (Schultz und Shangraw 2006). Verglichen mit der Dosis von 0,16 mg/kg KG ist bei 12,5 mg/kg KG mit einer überproportionalen Belastung durch Dichloressigsäure zu rechnen.

Aus einer chronischen Trinkwasserstudie an Ratten lässt sich für die Wirkung an der Leber ein NOAEL von 3,6 mg/kg KG und Tag ableiten. Aus diesem NOAEL für F344-Ratten von 3,6 mg/kg KG für Lebereffekte würde eine Konzentration von 4 mg/m³ (3,6 mg/kg KG / 4 × 70 kg/10 m³ × 7/5 / 2 = 4 mg/m³) resultieren. Neuropathien wurden nicht beobachtet, jedoch in der Hochdosisgruppe, die etwa 160 mg/kg und Tag erhielt. Veränderungen im Gehirn traten nicht auf (Tabelle 8).

Nach dem PBPK-Modell von Li et al. (2008) entsprechen 2,1 mg/kg KG und Tag bei der Maus einer Dosis von 0,1 mg/kg KG für den Menschen, bezogen auf die tägliche AUC von Dichloressigsäure in der Leber. Der LOAEL von 8 mg/kg KG und Tag der Kanzerogenitätsstudie an männlichen Mäusen entspricht damit bei 5 Tagen pro Woche einer Dosis von 0,53 mg/kg KG und Tag für den Menschen. Bei 70 kg KG und einem Atemvolumen von 10 m³ bei 100%iger Resorption ist dies eine Konzentration von 3,7 mg/m³. Da bei weiblichen Mäusen die NOAEC 40 mg/kg KG und Tag betrug, und die 10-fache Spontaninzidenz der Leberkarzinome von männlichen B6C3F1-Mäusen (26 %; DeAngelo et al. 1999) im Vergleich zu weiblichen (2,2 %; Pereira 1996) darauf hindeutet, dass ein erheblicher Geschlechtsunterschied vorliegt, ist die Umrechnung der Dosis für die männlichen Tiere auf den Menschen ein Worst-Case.

In der 13-Wochen-Trinkwasserstudie von Moser et al. (1999) kam es ab 16 mg/kg KG und Tag zu Neuropathien bei F344-Ratten. Im Vergleich dazu waren Long-Evans-Ratten etwas weniger empfindlich. Eine BMDL kann nicht berechnet werden, da keine Inzidenzen angegeben sind. Eine Dosis von 16 mg/kg KG würde 10 mg/m^3 ($16 \text{ mg/kg KG} / 4 \times 70 \text{ kg/10 m}^3 \times 7/5 / 2 / 2$) für eine Arbeitsplatzexposition entsprechen. Diese Konzentration ist neunmal höher als der MAK-Wert von $1,1 \text{ mg/m}^3$.

Insgesamt ist es schwierig, den NOAEL für die systemische Wirkung festzulegen, da die männliche B6C3F1-Maus aufgrund der hohen Lebertumorspontanzidenz für den quantitativen Vergleich mit dem Menschen wenig geeignet ist. Zudem ist unklar, ob die Ratte bezüglich der Neuropathie quantitativ mit dem Menschen vergleichbar ist. Da die Elimination ab etwa 2 mg/kg KG nicht mehr linear ist und Dosen von zweimal 6,25 mg/kg KG und Tag an Patienten gegeben bei langsamen Metabolisierern nach zwei Wochen Behandlung zu einem Dichloressigsäure-Spiegel von etwa 1 mM geführt haben (Chu et al. 2015), wobei die halbmaximale Hemmkonzentration für die Pyruvat-Dehydrogenase-Kinase etwa 0,2 mM beträgt, ist auch im ungünstigsten Fall bei einer Dosis von 1 mg/kg KG keine neurotoxische Wirkung zu erwarten. Außerdem wurden die Patienten an 7 Tagen pro Woche behandelt, am Arbeitsplatz findet die Exposition jedoch nur an 5 Tagen pro Woche statt.

Für die Salze wird ein MAK-Wert von $1,1 \text{ mg/m}^3$ E festgesetzt, als Säure.

Spitzenbegrenzung. Säure: Die Reizwirkung steht im Vordergrund, somit wird Dichloressigsäure in die Spitzenbegrenzungs-Kategorie I eingestuft. Analog zu Trichloressigsäure wird ein Überschreitungsfaktor von 1 festgesetzt.

Salze: Daten zur Reizwirkung liegen nicht vor. Analog zu Natriummono- und -trichloracetat wird für die Salze eine reizende Wirkung angenommen und ebenfalls Kategorie I mit Überschreitungsfaktor 1 festgesetzt.

Krebserzeugende Wirkung. Dichloressigsäure erwies sich an der Leber von Ratte und Maus als kanzerogen. Weiterhin wurde in allen Initiations-Promotions-Versuchen eine tumorpromovierende Wirkung von Dichloressigsäure beobachtet. Die quantitative Betrachtung der Ergebnisse aus den In-vivo-Genotoxizitätstests deutet auf keinen im Vordergrund stehenden genotoxischen Wirkmechanismus für die Entstehung der Lebertumoren hin. Auch neuere Untersuchungen an Mäusen weisen darauf hin, dass mutagene und mitogene Effekte sowie persistente Zytotoxizität für die Tumorentstehung nicht verantwortlich gemacht werden können, sondern ein massiver Eingriff in den Energiestoffwechsel, oxidativer Stress und eine Hemmung der Apoptose.

Da die genotoxischen Effekte nicht im Vordergrund der kanzerogenen Mechanismen stehen, sind die Voraussetzungen für die Einstufung von Dichloressigsäure und ihren Salzen in Kanzerogenitäts-Kategorie 4 erfüllt.

Keimzellmutagene Wirkung. Auch aus den seit der Begründung 2010 veröffentlichten Daten zur Genotoxizität ergibt sich kein Verdacht auf eine keimzellmutagene Wirkung. Daher erfolgt weiterhin keine Einstufung in eine Kategorie für Keimzellmutagene.

Hautresorption. Für den Menschen lässt sich aus einer In-vitro-Studie (Xu et al. 2002) eine dermale Aufnahme von 6,3 mg Dichloracetat bei Exposition gegen eine 0,5%ige, nicht mehr reizende Lösung von Dichloressigsäure unter der Annahme einer einstündigen Exposition von 2000 cm² Hautoberfläche abschätzen. Aus den obigen Ausführungen wird bei 70 kg KG aus der systemisch tolerablen Dosis von 1 mg/kg KG und Tag eine Menge von 70 mg abgeschätzt. Damit beträgt die Aufnahme über die Haut weniger als 25 % der systemisch tolerablen Menge. Daher wird Dichloressigsäure nicht mit „H“ markiert.

Legt man wie oben berechnet eine Aufnahmemenge von 6,3 mg für 0,5%ige Dichloressigsäure zu Grunde, wäre für eine nicht mehr reizende 5%ige Dichloracetat-Lösung bei linearer Extrapolation eine Aufnahme von 63 mg zu erwarten. Für Dichloracetat gilt dieselbe oben abgeleitete tolerable Menge von 70 mg. Damit liegt die Aufnahme über die Haut bei mehr als 25 % der systemisch tolerablen Menge, und Dichloracetate werden mit „H“ markiert.

Sensibilisierende Wirkung. Es liegen weiterhin keine Daten zur sensibilisierenden Wirkung vor, sodass Dichloressigsäure und ihre Salze weiterhin weder mit „Sh“ noch mit „Sa“ markiert werden.

Literatur

- BG Chemie (Berufsgenossenschaft der chemischen Industrie) (2006) TOXIKOLOGISCHE BEWERTUNG Nr. 188b, Dichloressigsäure, Natriumdichloracetat, BG Chemie, Heidelberg
- Bowker-Kinley MM, Davis WI, Wu P, Harris RA, Popov KM (1998) Evidence for existence of tissue-specific regulation of the mammalian pyruvate dehydrogenase complex. *Biochem J* 329: 191–196
- Calcutt NA, Lopez VL, Bautista AD, Mizisin LM, Torres BR, Shroads AL, Mizisin AP, Stacpoole PW (2009) Peripheral neuropathy in rats exposed to dichloroacetate. *J Neuropathol Exp Neurol* 68: 985–993
- Chu QS, Sangha R, Spratlin J, Vos LJ, Mackey JR, McEwan AJ, Venner P, Michelakis ED (2015) A phase I open-labeled, single-arm, dose-escalation, study of dichloroacetate (DCA) in patients with advanced solid tumors. *Invest New Drugs* 33: 603–610, <https://doi.org/10.1007/s00432-014-1583-9>
- Cicmanec JL, Condie LW, Olson GR, Wang SR (1991) 90-Day toxicity study of dichloroacetate in dogs. *Fundam Appl Toxicol* 17: 376–389
- DeAngelo AB, Daniel FB (1990) The comparative carcinogenicity of dichloroacetic (DCA) and trichloroacetic (TCA) acid in the male B6C3F1 mouse. *Toxicologist* 10: 148
- DeAngelo AB, Daniel FB (1992) An evaluation of the carcinogenicity of the chloroacetic acids in the male F344 rat. *Toxicologist* 12: 206
- DeAngelo AB, Daniel FB, Most BM, Olson GR (1996) The carcinogenicity of dichloroacetic acid in the male Fischer 344 rat. *Toxicology* 114: 207–221
- DeAngelo AB, George MH, House DE (1999) Hepatocarcinogenicity in the male B6C3F1 mouse following a lifetime exposure to dichloroacetic acid in the drinking water: dose-response determination and modes of action. *J Toxicol Environ Health A* 58: 485–507

- Dunbar EM, Coats BS, Shroads AL (2014) Phase 1 trial of dichloroacetate (DCA) in adults with recurrent malignant brain tumors. *Invest New Drugs* 32: 452–464, <https://doi.org/10.1007/s10637-013-0047-4>
- ECHA (European Chemicals Agency) (2018) Information on registered substances. Dataset on dichloroacetic acid (CAS Number 79-43-6), joint submission, first publication 07.05.2018, last modification 14.05.2018, <http://echa.europa.eu/web/guest/information-on-chemicals>
- Gudi R, Bowker-Kinley MM, Kedishvili NY, Zhao Y, Popov KM (1995) Diversity of the pyruvate dehydrogenase kinase gene family in humans. *J Biol Chem* 270: 28989–28994
- 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
- Hassoun EA, Cearfoss J (2011) Dichloroacetate- and trichloroacetate-induced modulation of superoxide dismutase, catalase, and glutathione peroxidase activities and glutathione level in the livers of mice after subacute and subchronic exposure. *Toxicol Environ Chem* 93: 332–344
- Hassoun EA, Dey S (2008) Dichloroacetate- and trichloroacetate-induced phagocytic activation and production of oxidative stress in the hepatic tissues of mice after acute exposure. *J Biochem Mol Toxicol* 22: 27–34
- Hassoun EA, Cearfoss J, Spildener J (2010) Dichloroacetate- and trichloroacetate-induced oxidative stress in the hepatic tissues of mice after long-term exposure. *J Appl Toxicol* 30: 450–456
- Hassoun E, Cearfoss J, Mamada S, Al-Hassan N, Brown M, Heimberger K, Liu MC (2014) The effects of mixtures of dichloroacetate and trichloroacetate on induction of oxidative stress in livers of mice after subchronic exposure. *J Toxicol Environ Health* 77: 313–323
- Li T, Schultz I, Keys DA, Campbell JL, Fisher JW (2008) Quantitative evaluation of dichloroacetic acid kinetics in human – a physiologically based pharmacokinetic modeling investigation. *Toxicology* 245: 35–48
- Mather GG, Exon JH, Koller LD (1990) Subchronic 90 day toxicity of dichloroacetic and trichloroacetic acid in rats. *Toxicology* 64: 71–80
- Michelakis ED, Sutendra G, Dromparis P, Webster L, Haromy A, Niven E, Maguire C, Gammer TL, Mackey JR, Fulton D, Abdulkarim B, McMurtry MS, Petruk KC (2010) Metabolic modulation of glioblastoma with dichloroacetate. *Sci Transl Med* 2: 1–7
- Moser VC, Phillips PM, McDaniel KL, MacPhail RC (1999) Behavioral evaluation of the neurotoxicity produced by dichloroacetic acid in rats. *Neurotoxicol Teratol* 21: 719–731
- Pereira MA (1996) Carcinogenic activity of dichloroacetic acid and trichloroacetic acid in the liver of female B6C3F1 mice. *Fundam Appl Toxicol* 31: 192–199
- Pereira MA, Phelps JB (1996) Promotion by dichloroacetic acid and trichloroacetic acid of N-methyl-N-nitrosourea-initiated cancer in the liver of female B6C3F1 mice. *Cancer Lett* 102: 133–141
- Plewa MJ, Kargalioglu Y, Vanker D, Minear RA, Wagner ED (2002) Mammalian cell cytotoxicity and genotoxicity analysis of drinking water disinfection by-products. *Environ Mol Mutagen* 40: 134–142
- Plewa MJ, Simmons JE, Richardson SD, Wagner ED (2010) Mammalian cell cytotoxicity and genotoxicity of the haloacetic acids, a major class of drinking water disinfection by-products. *Environ Mol Mutagen* 51: 871–878
- Richmond RE, Carter JH, Carter HW, Daniel FB, DeAngelo AB (1995) Immunohistochemical analysis of dichloroacetic acid (DCA)-induced hepatocarcinogenesis in male Fischer (F344) rats. *Cancer Lett* 92: 67–76

- Saghir SA, Schultz IR (2002) Low-dose pharmacokinetics and oral bioavailability of dichloroacetate in naive and GST-zeta-depleted rats. *Environ Health Perspect* 110: 757–763
- Schroeder M, DeAngelo AB, Mass MJ (1997) Dichloroacetic acid reduces Ha-ras codon 61 mutations in liver tumors from female B6C3F1 mice. *Carcinogenesis* 18: 1675–1678
- Schultz IR, Shangraw RE (2006) Effect of short-term drinking water exposure to dichloroacetate on its pharmacokinetics and oral bioavailability in human volunteers: a stable isotope study. *Toxicol Sci* 92: 42–50
- Shroads AL, Langaee T, Coats BS, Kurtz TL, Bullock JR, Weithorn D, Gong Y, Wagner DA, Ostrov DA, Johnson JA, Stacpoole PW (2012) Human polymorphisms in the glutathione transferase zeta 1/maleylacetoacetate isomerase gene influence the toxicokinetics of dichloroacetate. *J Clin Pharmacol* 52: 837–849
- Stacpoole PW, Henderson GN, Yan Z, Cornett R, James MO (1998) Pharmacokinetics, metabolism and toxicology of dichloroacetate. *Drug Metab Rev* 30: 499–539
- Tao L, Kramer PM, Ge R, Pereira MA (1998) Effect of dichloroacetic acid and trichloroacetic acid on DNA methylation in liver and tumors of female B6C3F1 mice. *Toxicol Sci* 43: 139–144
- Tao L, Yang S, Xie M, Kramer PM, Pereira MA (2000) Effect of trichloroethylene and its metabolites, dichloroacetic acid and trichloroacetic acid, on the methylation and expression of c-Jun and c-Myc protooncogenes in mouse liver: prevention by methionine. *Toxicol Sci* 54: 399–407
- US EPA (United States Environmental Protection Agency) (2003) IRIS (Integrated Risk Information System) toxicological review of dichloroacetic acid (CAS No. 79-43-6), http://cfpub.epa.gov/ncea/iris/iris_documents/documents/toxreviews/0654tr.pdf
- Varshney M, Chandra A, Chauhan LK, Goel SK (2013) Micronucleus induction by oxidative metabolites of trichloroethylene in cultured human peripheral blood lymphocytes: a comparative genotoxicity study. *Environ Sci Pollut Res Int* 20: 8709–8716
- Wehmas LC, DeAngelo AB, Hester SD, Chorley BN, Carswell G, Olson GR, George MH, Carter JH, Eldridge SR, Fisher A, Vallanat B, Wood CE (2017) Metabolic disruption early in life is associated with latent carcinogenic activity of dichloroacetic acid in mice. *Toxicol Sci* 159: 354–365
- Wood CE, Hester SD, Chorley BN, Carswell G, George MH, Ward W, Vallanat B, Ren H, Fisher A, Lake AD, Okerberg CV, Gaillard ET, Moore TM, DeAngelo AB (2015) Latent carcinogenicity of early-life exposure to dichloroacetic acid in mice. *Carcinogenesis* 36: 782–791
- Xu X, Mariano TM, Laskin JD, Weisel CP (2002) Percutaneous absorption of trihalomethanes, haloacetic acids, and halo ketones. *Toxicol Appl Pharmacol* 184: 19–26
- Zhang S, Miao D, Liu A, Zhang L, Wei W, Xie H, Lu W (2010) Assessment of the cytotoxicity and genotoxicity of haloacetic acids using microplate-based cytotoxicity test and CHO/HGPRT gene mutation assay. *Mutat Res Genet Toxicol Environ Mutagen* 703: 174–179
- Zhang L, Xu L, Zeng Q, Zhang SH, Xie H, Liu AL, Lu WQ (2012) Comparison of DNA damage in human-derived hepatoma line (HepG2) exposed to the fifteen drinking water disinfection byproducts using the single cell gel electrophoresis assay. *Mutat Res* 741: 89–94
- Zhang SH, Miao DY, Tan L, Liu AL, Lu WQ (2016) Comparative cytotoxic and genotoxic potential of 13 drinking water disinfection by-products using a microplate-based cytotoxicity assay and a developed SOS/umu assay. *Mutagenesis* 31: 35–41

abgeschlossen am 26.04.2018