

3-Chlor-1,2-propandiol

[96-24-2]

Nachtrag 2013

MAK-Wert (2012)	0,005 ml/m³ (ppm) \cong 0,023 mg/m³
Spitzenbegrenzung (2012)	Kategorie II, Überschreitungsfaktor 8
Hautresorption (2012)	H
Sensibilisierende Wirkung	–
Krebserzeugende Wirkung (2012)	Kategorie 3 B
Fruchtschädigende Wirkung (2012)	Gruppe D
Keimzellmutagene Wirkung	–
BAT-Wert	–
CAS-Nr.	(RS)-Racemat: [96-24-2] (R)-Enantiomer: [57090-45-6] (S)-Enantiomer: [60827-45-4]
Molmasse	110,54 g/mol
log K_{OW}	–0,53 (ber.; SRC 2012)
Löslichkeit	1 kg/l Wasser (SRC 2012)

Zu 3-Chlor-1,2-propandiol liegt eine Begründung von 1991 vor. Damals konnte kein NOAEL definiert und daher kein MAK-Wert aufgestellt werden. Inzwischen liegen neue Studien zur Genotoxizität, Kanzerogenität, zur Toxizität auf die Spermien und zur inhalativen Wirkung vor, die in diesem Nachtrag bewertet werden.

3-Chlor-1,2-propandiol wird zur Produktion von Farbstoffen und als Lösemittel für Celluloseacetat verwendet (California EPA 2010) sowie als Rodentizid zur Bekämpfung von Ratten eingesetzt. Zur Anwendung als Rodentizid kommen Fraßköder, die 1% 3-Chlor-1,2-propandiol enthalten (USEPA 2006).

3-Chlor-1,2-propandiol tritt als Kontamination in verschiedenen Lebensmitteln wie Würzsaucen oder hoch erhitzten Backwaren auf. Neuere Untersuchungen zeigen, dass erhebliche Mengen an Fettsäureestern des 3-Chlor-1,2-propandiols in raffinierten Speisefetten wie Margarine und Ölen sowie in fetthaltigen Lebensmitteln enthalten sind (BfR 2007). Während des Verdauungsprozesses kann aus diesen Fettsäureestern toxiologisch relevantes 3-Chlor-1,2-propandiol freigesetzt werden (BfR 2007; Schilter et al. 2011).

2 3-Chlor-1,2-propandiol

In den nachfolgend beschriebenen Untersuchungen wurde, sofern nicht andere Angaben gemacht wurden, das Racemat (RS)-3-Chlor-1,2-propandiol eingesetzt.

1 Allgemeiner Wirkungscharakter

Nach 14-tägiger inhalativer Exposition von Ratten ist ab 18,1 ml/m³ die Futteraufnahme signifikant vermindert. Weitere Effekte treten nicht auf.

In chronischen Trinkwasserstudien werden bei männlichen Sprague-Dawley-Ratten bereits ab der niedrigsten Dosis von 2 mg/kg KG und Tag tubuläre Hyperplasien der Nieren, erhöhte Inzidenzen chronischer Nephropathie, Atrophie und Arteriitis der Testes beobachtet. Bei männlichen und weiblichen F344-Ratten treten ab 5,2 bzw. 7,0 mg/kg KG und Tag bei verminderter Körpergewichtszunahme Effekte auf die Nieren auf. B6C3F1-Mäuse zeigen nach 13-wöchiger Gabe mit dem Trinkwasser ab 4,6 mg/kg KG und Tag eine leichte Degeneration des Keimepithels der Hodenkanälchen, nach chronischer Trinkwassergabe ab 12,2 mg/kg KG und Tag hämatologische und klinisch-chemische Effekte.

Ein modifizierter Bühler-Test mit lediglich zehn Meerschweinchen liefert ein negatives Ergebnis. Zur kontaktsensibilisierenden Wirkung des 3-Chlor-1,2-propandiol beim Menschen und zur atemwegssensibilisierenden Wirkung liegen keine Angaben vor.

3-Chlor-1,2-propandiol ist mutagen an Bakterien und Hefezellen, wofür der Metabolit Glycidol verantwortlich gemacht wird. An Säugerzellen in vitro tritt eine genotoxische Wirkung erst bei höheren, meist zytotoxischen Konzentrationen auf. In vivo hingegen zeigt 3-Chlor-1,2-propandiol weder an Soma- noch an Keimzellen eine genotoxische Wirkung, was auf eine ausreichende Entgiftung von Glycidol durch Konjugation mit Glutathion zurückgeführt wird.

Eine valide Kanzerogenitätsstudie mit 3-Chlor-1,2-propandiol im Trinkwasser gibt keinen Hinweis auf ein tumorinduzierendes Potenzial bei Mäusen. In zwei ebenfalls validen Trinkwasserstudien an Ratten treten bei männlichen und weiblichen Sprague-Dawley-Ratten tubuläre Hyperplasien, Adenome und Karzinome der Nieren auf, bei männlichen und weiblichen F344-Ratten tubuläre Hyperplasien und Adenome der Nieren, jedoch keine Karzinome. Obwohl diese Tumoren nur bei Ratten und nicht bei Mäusen beobachtet werden, ist auf Basis der Daten eine kanzerogene Wirkung beim Menschen nicht auszuschließen. Den bei der Ratte durch 3-Chlor-1,2-propandiol induzierten Leydigzell-Tumoren und Fibroadenomen des Brustdrüsenorgans liegen speziesspezifische Wirkungsmechanismen zugrunde.

Untersuchungen am Schwein mit einer Expositionsdauer von fünf Tagen ergeben eine fertilitätsschädigende Wirkung ab 1 mg 3-Chlor-1,2-propandiol/kg KG und Tag, eine Dosis ohne Effekt kann nicht abgeleitet werden. Bei männlichen Ratten verursacht die 14-tägige orale Verabreichung von 1 mg/kg KG und Tag keine Beeinträchtigung der Fertilität (Begründung 1991), was in mehreren neuen Untersuchungen bestätigt wird. Beeinträchtigungen treten ab 3 mg/kg KG und Tag auf. In der einzigen Studie mit Dosierungen unterhalb von 1 mg/kg KG und Tag zeigen sich ab 0,25 mg/kg KG und Tag Effekte auf die Zahl und die Motilität von Spermien.

Es liegen keine Studien zur Bewertung der entwicklungstoxischen Wirkung von 3-Chlor-1,2-propandiol vor.

2 Wirkungsmechanismus

2.1 Inhibierung des Energiehaushalts

3-Chlor-1,2-propandiol liegt als R- und S-Isomer vor. Der aktive Metabolit bezüglich der Störung des Energiehaushaltes ist S-Chlorlactaldehyd, einer Vorstufe des β -Chlorlactats, welches über eine NADP⁺-abhängige Dehydrogenase aus dem S-Isomer entsteht. S-Chlorlactaldehyd besitzt die gleiche chemische Konfiguration wie R- oder D-Glyceraldehyd-3-phosphat (GAP), das Substrat der Glyceraldehyd-3-phosphatdehydrogenase (GAPDH). S-Chlorlactaldehyd führt dadurch zu einer Hemmung der GAPDH. Andere Versuche zeigten, dass auch die Triosephosphat-Isomerase inhibiert wird (Jones 1998).

Die Inhibierung glykolytischer Enzyme wie der GAPDH wurde in Nieren, Leber und Spermien nachgewiesen. Bereits drei Stunden nach einmaliger oraler Verabreichung von 50 mg/kg KG war die GAPDH-Aktivität in den Nieren männlicher Sprague-Dawley-Ratten um 31% vermindert. Nach sechs und 24 Stunden verstärkte sich der Effekt (Jelks und Miller 2001).

β -Chlorlactat gilt als potenter Inhibitor der Lactatdehydrogenase im Nierenstoffwechsel und führt ebenfalls zu einer Beeinträchtigung des Energiehaushaltes (Lynch et al. 1998).

2.2 Nierentoxizität

3-Chlor-1,2-propandiol wirkt bei männlichen und weiblichen Ratten nephrotoxisch und führt zu einer Verstärkung der chronisch progressiven Nephropathie, die gewöhnlich bei älteren Ratten beobachtet wird (siehe Begründung 1991; California EPA 2010; WHO 2002). Die chronisch progressive Nephropathie ist charakterisiert durch basophile Nierentubuli, eine verdickte Basalmembran, Ausbildung von Nierenzylindern und Glomerulosklerose. Als Ursache der beschleunigten chronisch progressiven Nephropathie wird die Inhibierung der Glykolyse (siehe Abschnitt 2.1) oder der Metabolit Oxalsäure diskutiert (California EPA 2010). Eine Akkumulation von Kristallen der Oxalsäure wurde jedoch in beiden Langzeitstudien (Cho et al. 2008 b; Nestlé 1993) nicht berichtet, so dass dies als Ursache ausgeschlossen werden kann.

In einer Untersuchung an Sprague-Dawley-Ratten, die nur als Zusammenfassung vorliegt, wurden Biomarker für die durch 3-Chlor-1,2-propandiol induzierten tubulären Nekrosen des Nierencortex und Degenerationen des proximalen Tubulus bestimmt. Den Tieren wurde hierzu 3-Chlor-1,2-propandiol oral verabreicht (k. w. A.) und das Nierengewebe bezüglich seiner Proteinexpression untersucht. Eine erhöhte Expression wurde für ATP-Synthase-beta (mitochondriale ATP-Synthase, produziert ATP aus ADP), DnaK-Typ molekulares Chaperon (entspricht Hitzeschockprotein Hsc70), Hsc73 (Repressor der Transkriptionsaktivierung), groEL-Vorläufer (Chaperon, bakterielles Homolog zu Hitzeschockprotein Hsc60), Vimentin (mesenchymaler Marker) sowie Tropomyosin (Actin-bindendes Protein, an der Kontraktion der Muskelzellen beteiligt) nachgewiesen. Hingegen war die Expression von Pyruvat-Dehydrogenase-beta

4 3-Chlor-1,2-propandiol

(Lipoamid, Reduktion Citratzyklus und AcetylCoA), Calbindin (puffert zytosolisches Ca^{2+}) und Ornithin-Aminotransferase (Reduktion Harnstoffzyklus und Aminosäure-Stoffwechsel) vermindert (Yum et al. 2006). Das Expressionsmuster ist mit der in den Nieren von Ratten beobachteten Störung des Energiehaushalts kompatibel. So sind die verminderte Pyruvatdehydrogenase und Ornithin-Aminotransferase Zeichen für einen gestörten Citrat- und Harnstoffzyklus, die ATP-Synthase ist möglicherweise reflektorsch erhöht, die verstärkte Expression von DnaK, groEL und Hsc73 ist eine Reaktion auf Stress, die vermehrte Expression von Vimentin sowie Tropomyosin eine Reaktion des Zytoskeletts auf veränderte Bedingungen.

2.3 Spermientoxizität

Verschiedene Untersuchungen zeigen, dass die verminderte Motilität von Spermien der Ratte auf die Inhibierung glykolytischer Enzyme wie die Glyceraldehyd-3-phosphatdehydrogenase (GAPDH), das heißt auf die Störung des Energiehaushalts der Zelle, zurückzuführen ist (Begründung 1991; California EPA 2010; WHO 2002; siehe auch Abschnitt 2.1).

Untersuchungen an männlichen Sprague-Dawley-Ratten zeigten bereits drei Stunden nach einmaliger oraler Verabreichung von 50 mg 3-Chlor-1,2-propandiol/kg KG eine signifikante Reduktion der GAPDH-Aktivität in den Spermien um 85%, aber auch in den Nebenhoden und der Leber um 35 bzw. 49%. Ähnliche Ergebnisse wurden auch sechs und 24 Stunden nach Applikation gemessen. Mit der Inhibierung der Glykolyse ging auch eine Verminderung des ATP-Gehalts in den Spermien einher. Erste histopathologische Veränderungen in den Nebenhoden wie inter- und intrazelluläre Vakuolisierung, wurden sechs Stunden nach Verabreichung beobachtet. Nach 24 Stunden trat bereits eine Ablösung der Epithelzellen von der Basalmembran ein. Die Autoren führen die Effekte auf die reduzierte Energiezufuhr zurück (Jelks und Miller 2001).

In weiteren Untersuchungen an männlichen Ratten wurde drei Stunden nach einmaliger oraler Verabreichung von 0, 5, 10, 25 oder 50 mg/kg KG mittels Schlundsonde der ATP-Gehalt in den Spermien, isoliert aus den Nebenhoden, bestimmt. Ab 10 mg/kg KG wurden ein signifikanter Abfall des ATP-Gehalts sowie eine reduzierte In-vitro-Fertilisation gemessen. Der Effekt war fünf Tage nach der Substanzgabe nicht reversibel (Jelks et al. 2001). Der NOAEL für den Energie-Stoffwechsel in dieser Studie beträgt 5 mg/kg KG und Tag.

Die Inhibierung der GAPDH-Aktivität wurde in vitro an Spermien der Maus ab einer Konzentration von 100 μM gemessen (Bone et al. 2001). In-vivo-Untersuchungen an der Maus liegen zu diesem Endpunkt nicht vor.

Der Energie-Stoffwechsel in den Spermatozyten ist speziesspezifisch. Während beispielsweise die Spermatozyten von Schafböcken und Bullen weniger Glucose sondern eher Essigsäure oder Fructose als Energielieferant nutzen, ist dies bei Hunden, Kaninchen und Menschen umgekehrt (Jones 1998). Dies könnte eine Erklärung für eine unterschiedliche Sensitivität der Spezies bezüglich der Spermientoxizität sein. Für Ratten und Mäuse liegen hierzu keine Untersuchungen vor.

Auch eine unterschiedliche Gewebeverteilung von 3-Chlor-1,2-propandiol und seinen Metaboliten könnte zur speziesspezifischen Sensitivität beitragen. So war nach einer

intravenösen Injektion von 3-Chlor-1,2-propandiol (siehe auch Begründung 1991) bei der Maus nach 24 Stunden die Konzentration der Radioaktivität in den Nebenhoden nur wenig höher als im Blut, während die Ratte hier eine der höchsten Konzentrationen des ganzen Körpers aufwies (k. w. A.). Die Autoren werten diese unterschiedliche Verteilung als mögliche Ursache der hohen Sensitivität der Ratte bezüglich der Fertilität im Vergleich zur Maus (Crabo und Applegren 1972).

Der für die Inhibierung glykolytischer Enzyme verantwortliche Metabolit ist vermutlich ein nicht chlorierter Metabolit (siehe auch Abschnitt 3.1), der also entsprechend nicht aus dem β -Chlorlactat-Abbauweg stammt (Bone et al. 2002).

Es liegen weiterhin Hinweise auf einen bei der Maus im Gegensatz zur Ratte ausgeprägteren Metabolismus und eine schnellere Ausscheidung vor, was zu einer Verminderung der zirkulierenden toxischen Metaboliten führt. Auch dies kann eine mögliche Erklärung sein, warum 3-Chlor-1,2-propandiol bei der Maus *in vivo* nicht spermatoxisch wirkt und keinen Effekt auf die Fertilität hat, obgleich *In-vitro*-Tests eine hemmende Wirkung von 3-Chlor-1,2-propandiol auf Mausspermien gezeigt haben (Bone et al. 2002).

2.4 Immuntoxizität

In-vivo-Untersuchungen an der Maus (siehe Abschnitt 5.2.2) belegen, dass 3-Chlor-1,2-propandiol immuntoxisch wirkt. Als einer der Ursachen wird die reduzierte Produktion von Antikörpern gesehen, die an der Bekämpfung bakterieller Infektionen beteiligt sind, sowie auch die verminderte Aktivität der natürlichen Killerzellen (NK-Zellen), die unter anderem Aufgaben in der Tumor-Kontrolle haben (California EPA 2010).

Auch eine *In-vitro*-Untersuchung an Milzzellen und Makrophagen der Maus weist nach, dass 3-Chlor-1,2-propandiol in die Funktionalität von Lymphozyten und Makrophagen eingreift und die Produktion von Zytokinen, die an der Regulation entzündlicher Prozesse beteiligt sind, unterdrückt. So führt 3-Chlor-1,2-propandiol in subtoxischen Konzentrationen in Reaktion auf Concanavalin A, anti-CD3 oder Lipopolysaccharide zu einer signifikanten Verminderung der Lymphozyten-Blastogenese. 3-Chlor-1,2-propandiol verursachte zudem eine verminderte Produktion von Interferon sowie von Interleukin(IL)-4 und IL-10. In peritonealen Makrophagen war die Produktion von NO und Tumornekrosefaktor(TNF)- α durch 3-Chlor-1,2-propandiol reduziert (Byun et al. 2006).

2.5 Neurotoxizität

Untersuchungen an Zellkulturen von Neuronen und Gliazellen zeigen, dass 3-Chlor-1,2-propandiol den progressiven Zelltod induziert. Gleichzeitig war die Aktivität der glykolytischen Enzyme Glycerinaldehyd-3-phosphatdehydrogenase (GAPDH) und Triosephosphat-Isomerase verringert, die Konzentration von Dihydroxyacetonphosphat, einem Vorläufer von D-Glycerinaldehyd-3-phosphat (GAP), erhöht und die ATP-

6 3-Chlor-1,2-propandiol

Konzentration vermindert (Sheline und Choi 1998). Die Ursache der Neurotoxizität könnte demnach auch in der Störung des Energiehaushalts liegen.

2.6 Genotoxizität

Da 3-Chlor-1,2-propandiol an Bakterien sowohl mit als auch ohne Zusatz metabolischer Aktivierung mutagen wirkt, sind an der Entstehung des genotoxischen Metaboliten Glycidol nach Dehalogenierung von 3-Chlor-1,2-propandiol vermutlich bakterielle und nicht mikrosomale Enzyme beteiligt (Lynch et al. 1998; Robjohns et al. 2003).

Glycidol wiederum wird in Säugerzellen mittels Glutathion(GSH)-Konjugation detoxifiziert. Vor diesem Hintergrund erscheint es plausibel, dass 3-Chlor-1,2-propandiol in vitro an Säugerzellen erst bei höheren oder schon zytotoxischen Konzentrationen eine genotoxische Wirkung hat, bei denen vermutlich eine GSH-Depletion stattfindet.

Die vorliegenden Metabolismus-Untersuchungen verdeutlichen, dass Glycidol als Metabolit entsteht. Da die In-vivo-Genotoxizitätstests im Gegensatz zu den In-vitro-Tests negativ sind, ist dort anscheinend die Entgiftung des Glycidols durch Konjugation mit GSH ausreichend (Robjohns et al. 2003).

Glycidol entsteht nur auf einem der zwei Abbauege von 3-Chlor-1,2-propandiol und kann zudem auch wieder zu 3-Chlor-1,2-propandiol zurückgebildet werden (siehe Abschnitt 3.2, Abbildung 1). So scheint die Toxizität von 3-Chlor-1,2-propandiol vornehmlich auf der Metabolisierung zum S-Chlorlactaldehyd zu beruhen, zumindest solange es nicht zu einer GSH-Depletion kommt (siehe Begründung „Glycidol“ 2000).

Dies stützen die Untersuchungen von Jones et al. (1978), nach denen die Bildung von Glycidol bei der Ratte zwar der Hauptmetabolismusweg ist, jedoch bei höheren Dosierungen verstärkt eine Oxidation zu β -Chlorlactat und Oxalsäure stattfindet. Somit werden in vivo vermutlich keine Konzentrationen von Glycidol erreicht, die zu einer GSH-Depletion führen könnten.

Relevanz für den Menschen

Quantitative Angaben zum Metabolismus und zur Entgiftung durch GSH beim Menschen liegen nicht vor. Aufgrund der negativen In-vivo-Untersuchungen am Tier ist jedoch auch beim Menschen nicht mit einer genotoxischen Wirkung zu rechnen.

2.7 Kanzerogenität

Wie im Abschnitt 2.6 diskutiert, entsteht aus 3-Chlor-1,2-propandiol u.a. der genotoxische Metabolit Glycidol, der in den vorliegenden Testsystemen in vivo am Tier anscheinend ausreichend abgefangen und durch Konjugation mit GSH inaktiviert wird.

Dass speziell in den Zielorganen Nieren und Testes in In-vivo-Genotoxizitätsstudien im Comet-Assay keine genotoxische Wirkung nachgewiesen worden ist (El Ramy et al. 2007, siehe Abschnitt 5.6.2), bestätigt die Einschätzung, dass für die in der Langzeitstudie an Ratten beobachteten Tumoren eine nicht-lineare Dosis-Wirkungs-Beziehung angenommen werden kann (BfR 2007).

Unklar bleibt aber, welche anderen Mechanismen an der Kanzerogenese beteiligt sind, z. B. die Inhibierung glykolytischer Enzyme (siehe Abschnitt 2.1). Eines der betroffenen glykolytischen Enzyme ist die Glyceraldehyd-3-phosphatdehydrogenase (GAPDH), die neben ihrer Rolle in der Glykolyse noch eine Vielzahl anderer Funktionen hat. Sie ist u. a. an der Kontrolle von DNA-Reparatur, Zelltod, Verlauf des Zellzyklus und Regulation der mRNA-Stabilität beteiligt. Studien zeigen, dass die GAPDH sowohl ein Promotor als auch Inhibitor der Kanzerogenese ist. Basierend auf dem derzeitigen Wissen über die Funktion der GAPDH in der Kanzerogenese können keine endgültigen Schlüsse gezogen werden (California EPA 2010).

Auch das Immunsystem, welches ein Ziel der Toxizität von 3-Chlor-1,2-propandiol ist (siehe auch Abschnitt 2.4), könnte bei der kanzerogenen Wirkung eine Rolle spielen. 3-Chlor-1,2-propandiol unterdrückt Funktionen des Immunsystems, wie die Aktivität der natürlichen Killerzellen (NK-Zellen), die an der Tumorkontrolle beteiligt sind, und bewirkt eine veränderte Produktion von Zytokinen, die u. a. an der Regulation entzündlicher Prozesse mitwirken.

Die Beteiligung von hormonellen Effekten an der Tumorentstehung durch 3-Chlor-1,2-propandiol wird ebenfalls diskutiert (siehe unten in den Abschnitten „Leydigzell-Adenome“ und „Fibroadenome des Brustdrüsengewebes“).

2.7.1 Tubuläre Neoplasien in der Niere

Tubuläre Adenome treten in Kanzerogenitätsstudien mit F344-Ratten (Nestlé 1993) und bei Sprague-Dawley-Ratten (Cho et al. 2008 b) vermehrt auf. Bei Sprague-Dawley-Ratten kommt es bei weiblichen Tieren zu einer nicht signifikanten Erhöhung der Inzidenz tubulärer Nierenkarzinome (6% versus 2% in der Kontrolle bzw. 0,77–1,85% in der historischen Kontrolle), bei den männlichen Tieren zu einer signifikanten Erhöhung (10% versus 0% in der Kontrolle bzw. 1,43–4% in den historischen Kontrollen). Die Sprague-Dawley-Ratte ist generell nicht besonders empfindlich bezüglich der Entstehung von Nierenkarzinomen (Cho et al. 2008 b).

Die Nierentumoren wurden ausschließlich im Bereich der maximal tolerierbaren Dosis und in älteren Tieren beobachtet (Cho et al. 2008 b; Lynch et al. 1998). Entsprechend wurden bei 30 Wochen kürzerer Expositionszeit und niedrigerer Dosis in einer weiteren Studie an Sprague-Dawley-Ratten (Weisburger et al. 1981) keine Effekte gefunden.

Wie oben diskutiert, ist eine genotoxische Ursache der Nierenkarzinome bei der Ratte eher unwahrscheinlich.

Das Ausmaß der Beteiligung der Nierentoxizität (siehe auch Abschnitt 2.2) an der Tumorentstehung ist nicht bekannt (California EPA 2010). Es wird diskutiert, dass die beschleunigte Progression der Nephropathie mit nachfolgender Proliferation der tubulären Zellen letztendlich zur Entstehung von tubulären Adenomen und Karzinomen führt (Cho et al. 2008 b; Lynch et al. 1998).

Da bei der Ratte, insbesondere bei höheren Dosierungen weniger die Bildung von Glycidol, sondern verstärkt die Oxidation zu β -Chlorlactat und Oxalsäure stattfindet (Jones et al. 1978), könnte sowohl die Störung des Energiestoffwechsels als auch die renale Ausscheidung von Oxalsäure zur beschleunigten Progression der Nephropathie führen. Oxalsäure kristallisiert in größeren Mengen in den Nierentubuli aus und kann damit zu Nierenfunktionsstörungen und zu benignen Tumoren bei der Ratte führen (Lynch et al. 1998). Eine Akkumulation von Kristallen der Oxalsäure wurde jedoch in beiden Lang-

8 3-Chlor-1,2-propandiol

zeitstudien (Cho et al. 2008 b; Nestlé 1993) bei der histopathologischen Befundung nicht berichtet. Zudem müssten sich durch Oxalsäure verursachte Tumoren im distalen Tubulus und den ableitenden Harnwegen manifestieren.

Andere Mechanismen, die zur Entstehung der Nierentumoren beitragen könnten, sind, wie oben diskutiert, die Störung des Energiestoffwechsels und Effekte auf das Immunsystem.

In der Kanzerogenitätsstudie an der Maus traten bei diesbezüglich besonders kritischer Begutachtung keine Effekte an den Nieren auf (Jeong et al. 2010).

Die Frage, warum die Maus im Gegensatz zur Ratte keine Nierentumoren entwickelt, wird im Folgenden diskutiert: Ursache könnten Unterschiede in Metabolismus und Sensitivität des Zielgewebes oder eine kompensatorische Wirkung sein. Quantitative Daten zum Metabolismus der Maus im Vergleich zur Ratte liegen nicht vor. Es gibt nur Daten zur Abatmung von CO₂ bei der Maus (23%) im Vergleich zur Ratte (30%) (Jones 1975), die keinen aussagekräftigen Unterschied zeigen. Nach einer intravenösen Injektion an Ratten und Mäuse (siehe auch Begründung 1991) ist bei beiden Spezies 60 Minuten später eine hohe Radioaktivität in den Nieren nachzuweisen (k. w. A.; Crabo und Applegren 1972).

Die Maus zeigt jedoch im Gegensatz zur Ratte keine chronisch progressive Nephropathie. Es wäre dementsprechend möglich, dass ohne diese Vorschädigung der Nieren keine Tumoren durch 3-Chlor-1,2-propandiol entstehen.

Eine weitere Möglichkeit ist, dass die Maus im Gegensatz zur Ratte die Störung des Energiehaushaltes in den Nieren besser kompensieren kann. Bei Spermien konnten hier entsprechende Speziesunterschiede festgestellt werden (siehe Abschnitt 2.3). Daten zum Energiehaushalt in der Niere der Maus liegen jedoch nicht vor.

Relevanz für den Menschen

Ob die nierentoxische Wirkung des 3-Chlor-1,2-propandiol beim Menschen zu Tumoren führt, ist nicht bekannt. Die Nieren des Menschen sind wie die der Maus nicht durch eine chronische Nephropathie vorgeschädigt. Jedoch ist auch nicht klar, welchen Beitrag die Störung des Energiehaushaltes und des Immunsystems beim Menschen leistet. Auch liegen keine quantitativen Angaben zur Verteilung und zum Stoffwechsel von 3-Chlor-1,2-propandiol beim Menschen vor. Da der Wirkungsmechanismus nicht abschließend geklärt ist, ist eine mögliche kanzerogene Wirkung beim Menschen nicht auszuschließen.

2.7.2 Leydigzell-Adenome

In der Kanzerogenitätsstudie mit F344-Ratten treten Leydigzell-Adenome bei männlichen Tieren auf (Nestlé 1993). Auch in der Kanzerogenitätsstudie mit Sprague-Dawley-Ratten werden Leydigzell-Tumoren (Adenome und Karzinome nicht differenziert) beschrieben (Cho et al. 2008 b).

Die Produktion von Testosteron durch Leydigzellen wird durch das luteinisierende Hormon (LH) der Hypophyse im Rückkopplungs-System reguliert. Eine Störung dieser Hypophysen-Testosteron-Rückkopplung, zum Beispiel ein Anstieg des LH-Spiegels, führt bei der Ratte zu einem Anstieg der Inzidenz an Leydigzell-Tumoren (Lynch et al. 1998).

Diese neoplastischen Effekte in den Testes resultieren daher vermutlich aus der behandlungsbedingten Reduktion des Testosteronspiegels sowie dem Anstieg der Östrogen-

und Progesteronspiegel (WHO 2002). Hormonspiegel wurden in den Langzeitstudien jedoch nicht gemessen.

In Studien an männlichen Wistar-Ratten hatte die einmalige Injektion von 80 mg 3-Chlor-1,2-propandiol/kg KG u. a. einen anhaltenden Anstieg von LH, Prolaktin und Follikel-stimulierendem Hormon (FSH) zur Folge (California EPA 2010; Lynch et al. 1998). Niedrigere Dosierungen scheinen jedoch keinen Effekt auf den Hormonspiegel zu haben. So traten in einer vierwöchigen Schlundsondenstudie an männlichen Sprague-Dawley-Ratten bei bis zu 5 mg/kg KG und Tag keine Veränderungen des Testosteron- oder LH-Spiegels im Blut auf (Kwack et al. 2004).

Auch bei männlichen Wistar-Ratten, die zwei oder vier Wochen lang mittels Schlundsonde gegen 0, 5 oder 20 mg 3-Chlor-1,2-propandiol/kg KG und Tag exponiert wurden, trat keine Veränderung des Testosteronspiegels im Serum auf (Buttar et al. 1997). Dies wurde auch in einer früheren Studie nach einmaliger oraler Applikation von 100 mg/kg KG berichtet (Kalla und Chohan 1980).

Hingegen zeigte eine In-vitro-Studie an Leydigzellen der Ratte eine verminderte Testosteron-Produktion sowie einen verminderten Sauerstoffverbrauch der Zellen (California EPA 2010).

Für das Auftreten der Leydigzell-Tumoren ist ein Rattenstamm-spezifischer Unterschied bekannt, worauf vermutlich auch die hohe Spontaninzidenz von Leydigzell-Tumoren bei der F344-Ratte zurückzuführen ist (Lynch et al. 1998). So traten bei F344-Ratten ab 1,1 mg/kg KG und Tag Leydigzell-Hyperplasien und ab 5,2 mg/kg KG und Tag Leydigzell-Adenome auf (Nestlé 1993). Bei Sprague-Dawley-Ratten ist das spontane Auftreten von Leydigzell-Tumoren eher gering (ca. 1%) (California EPA 2010), bis 29,5 mg/kg KG und Tag wurden keine Leydigzell-Hyperplasien beobachtet. Leydigzell-Tumoren (k. A. ob maligne oder benigne) traten bei 29,5 mg/kg KG und Tag signifikant vermehrt auf und waren schon bei 8,3 mg/kg KG und Tag nicht signifikant erhöht (Cho et al. 2008 b). Bei 30 Wochen kürzerer Expositionszeit und niedrigerer Dosis (zweimal wöchentlich 60–70 mg/kg KG und Tag) wurden in der weiteren Studie mit Sprague-Dawley-Ratten (Weisburger et al. 1981) keine Effekte gefunden.

In der Kanzerogenitätsstudie an der B6C3F1-Maus wurden auch bei besonders kritischer Begutachtung keine Effekte an den Testes beobachtet (Jeong et al. 2010).

Dies könnte unter anderem daran liegen, dass sich die Metaboliten von 3-Chlor-1,2-propandiol bei der Maus in den Nebenhoden nicht anreichern, während die Ratte hier eine der höchsten Metaboliten-Konzentrationen des ganzen Körpers aufweist (k. w. A.; Crabo und Applegren 1972).

Auch die Spontan-Inzidenz der Leydigzell-Adenome ist bei der Ratte und der Maus verschieden. Während sie bei der Sprague-Dawley-Ratte 1–5% und bei der F344-Ratte nahezu 100% beträgt, liegt sie bei der B6C3F1-Maus bei 0,4%. Bei der Ratte kommt es auch durch Chemikalien und Pharmaka wesentlich schneller zu einer erhöhten Inzidenz an Leydigzell-Tumoren als bei der Maus. So induziert eine Vielzahl von Substanzen über verschiedene Mechanismen Leydigzell-Tumoren nur bei der Ratte, nicht aber bei der Maus (Cook et al. 1999).

Relevanz für den Menschen

Folgende vier Punkte sind bezüglich möglicher Interspezies-Unterschiede für die Bewertung der Relevanz der Leydigzell-Tumoren für den Menschen anzuführen (Lynch et al. 1998):

10 3-Chlor-1,2-propandiol

1. Die Spontanumorraterate für Leydigzell-Tumoren beim Menschen beträgt nur 1–3 pro 1 000 000 (Lynch et al. 1998).
2. Die Zahl der LH-Rezeptoren auf den Leydigzellen ist bei der Ratte 14mal höher als beim Menschen, wodurch die Zellen vermutlich empfindlicher auf einen LH-Anstieg reagieren (Lynch et al. 1998) und es daher eher zu Tumoren kommt.
3. Es gibt qualitative Unterschiede der LH-Rezeptoren. Die Ratte exprimiert GnRH (Gonadotropin-Releasing-Hormon)-Rezeptoren auf den Leydigzellen, die bei Maus, Affe und Menschen nicht nachzuweisen sind. So werden die Leydigzellen der Ratte direkt durch die Freisetzung des GnRH durch den Hypothalamus und die Sertolizellen stimuliert sowie zusätzlich durch die GnRH-induzierte Freisetzung von LH aus der Hypophyse (Cook et al. 1999; Lynch et al. 1998).
4. Der Hormonstatus in den Leydigzellen der Ratte unterscheidet sich von dem des Menschen. Bei der Ratte fallen die Serumkonzentrationen von LH und Testosteron mit zunehmendem Alter ab, während sie beim Menschen eher ansteigen (Lynch et al. 1998). Die fehlende Sensitivität auf einen Anstieg von LH beim Menschen spielt eine wichtige Rolle bei der Bewertung der Leydigzell-Tumoren. So zeigen zahlreiche Pharmaka, die einen Anstieg von LH bewirken, keine Effekte auf die humanen Testes, aber einen Anstieg von Leydigzell-Tumoren bei der Ratte (Lynch et al. 1998). Zusammengefasst ist der Mensch, wie auch die Maus, nicht sensitiv für die Entwicklung von Leydigzell-Tumoren. Die bei der Ratte beobachteten Leydigzell-Tumoren sind daher nicht relevant für die Bewertung der kanzerogenen Wirkung von 3-Chlor-1,2-propandiol beim Menschen.

2.7.3 Fibroadenome des Brustdrüsengewebes

In der Kanzerogenitätsstudie mit F344-Ratten treten Fibroadenome des Brustdrüsengewebes bei männlichen Tieren auf (Nestlé 1993). Mammatumoren bei der männlichen Ratte sind äußerst selten (California EPA 2010; Lynch et al. 1998). Sie resultieren vermutlich wie die Leydigzell-Tumoren aus Veränderungen des Hormonstatus (Lynch et al. 1998).

Die Proliferation des Brustdrüsengewebes der männlichen Ratte ist die Reaktion auf Veränderungen der Konzentration von Östrogen, Progesteron und Prolaktin im Serum. Leydigzell-Tumoren erhöhen die Spiegel dieser Hormone und induzieren so sekundär die Tumoren der Brustdrüse. In männlichen Ratten konnte durch die Transformation von Leydigzell-Tumoren eine Hyperplasie des Brustdrüsengewebes induziert werden. In den Versuchen mit 3-Chlor-1,2-propandiol an F344-Ratten wurden Proliferationen des Brustdrüsengewebes, insbesondere bei männlichen Ratten mit ausgeprägten Leydigzell-Tumoren beobachtet, die sich früher als in den Kontrollen entwickelt hatten. Weiterhin waren diese Leydigzell-Tumoren weniger differenziert (pleomorphe Struktur) und damit prädestiniert für die Ausschüttung der oben genannten Hormone. Das Auftreten der Leydigzell-Tumoren liegt zeitlich vor den Hyperplasien und Tumoren des Brustdrüsengewebes. Für einen Zusammenhang mit den Leydigzell-Tumoren spricht auch, dass in weiblichen F344-Ratten keine erhöhten Inzidenzen beobachtet wurden (Lynch et al. 1998).

Dass nur die F344-Ratten, nicht aber die Sprague-Dawley-Ratten Tumoren des Brustdrüsengewebes entwickelten, lässt auf eine stammsspezifische Empfindlichkeit schließen (Bakhiya et al. 2011).

Relevanz für den Menschen

Da die Tumoren des Brustdrüsenorgans bei der Ratte sekundär zu den Leydigzell-Tumoren entstehen, sind erstere wie die Leydigzell-Tumoren nicht relevant für die Bewertung der kanzerogenen Wirkung von 3-Chlor-1,2-propandiol beim Menschen.

3 Toxikokinetik und Metabolismus**3.1 Aufnahme, Verteilung, Ausscheidung**

In einer chinesischen Studie zur Toxikokinetik, die nur als englische Zusammenfassung vorliegt, erhielten männliche Sprague-Dawley-Ratten einmalig 75 mg 3-Chlor-1,2-propandiol/kg KG mit der Schlundsonde. Zwei oder 24 Stunden nach der Applikation wurden bei jeweils drei Tieren die Konzentrationen von 3-Chlor-1,2-propandiol in verschiedenen Organen bestimmt. Sie betragen nach zwei Stunden 78 µg/g in den Testes, 67 µg/g im Blut und 56 µg/g in den Nieren und nach 24 Stunden 49; 1,1 bzw. 11 µg/g. Innerhalb von 24 Stunden fanden sich 9,7% der verabreichten Dosis unverändert als 3-Chlor-1,2-propandiol im Urin, 0,6% in den Fäzes und 0,3% in der Galle. Die Autoren schlossen daraus, dass die Substanz schnell aus dem Magen-Darm-Trakt resorbiert und im Gewebe verteilt wird und in den Zielorganen, wie den Testes, akkumuliert. Die Ausscheidung erfolgte hauptsächlich über die Nieren (k. w. A.; Xiao et al. 2003). Die Daten belegen eine weitaus langsamere Elimination aus den Testes als aus dem Blut. Die Halbwertszeit in den Testes liegt im Bereich von 20 Stunden.

Vergleich Ratte / Maus

Nach einer intravenösen Injektion von ¹⁴C-3-Chlor-1,2-propandiol an Ratten und Mäuse (siehe auch Begründung 1991) war bei der Maus nach 24 Stunden die Radioaktivität in den Nebenhoden nur wenig höher als die im Blut, während die Ratte hier eine der höchsten Konzentrationen des ganzen Körpers aufwies. In beiden Spezies war 60 Minuten nach der Substanzapplikation eine hohe Radioaktivität in den Nieren nachzuweisen (k. w. A.; Crabo und Applegren 1972).

In einer weiteren Untersuchung mit intraperitonealer Gabe von 100 mg ³⁶Cl-3-Chlor-1,2-propandiol/kg KG an männliche Sprague-Dawley-Ratten wurde die Radioaktivität innerhalb von 30 Minuten schnell im Organismus verteilt, mit Konzentrationen von 0,3–0,5% der Gesamtdosis in Nebenhodenschwanz, Nebenhodenkopf, Testes, Gehirn, Leber, Hypophyse, Muskeln und roten Blutkörperchen. Nach 24 Stunden betrug die Dosis in diesen Geweben 0,2–0,3%. Im Gegensatz zur zuvor genannten Untersuchung mit ¹⁴C-markierter Substanz zeigte sich kein spezifisches Zielgewebe. Die Autoren erklärten dies damit, dass sich vermutlich dechlorierte Metaboliten in den Nebenhoden akkumulieren. Die Ausgangssubstanz ³⁶Cl-3-Chlor-1,2-propandiol wurde in den untersuchten Geweben nach drei, aber nicht nach 12 Stunden nachgewiesen. Das markierte Chloratom war in allen Geweben bis zu 48 Stunden lang nachweisbar, im Plasma 250 Stunden lang. Mit dem Urin wurden 22% der verabreichten Dosis innerhalb von 10 Stunden ausgeschieden (California EPA 2010).

Männlichen B6C3F1-Mäusen wurde 100 mg ³⁶Cl-3-Chlor-1,2-propandiol/kg KG intraperitoneal verabreicht, und die Ergebnisse wurden mit denen von Wistar-Ratten nach

12 3-Chlor-1,2-propandiol

intraperitonealer Gabe von 5 mg/kg KG verglichen (siehe auch Abschnitt 3.2). Die Exkretion der verabreichten Radioaktivität mit dem Urin betrug bei der Maus nach 24 Stunden 50% und etwa 80% nach 72 Stunden. Der höchste Peak war nach fünf Stunden zu beobachten. Die Ausscheidung mit dem Urin erfolgt bei der Maus doppelt so schnell wie bei der Ratte. Eine Akkumulation der Radioaktivität in den Organen wurde weder bei der Ratte noch bei der Maus beobachtet. Diese Ergebnisse stimmten mit denen der zuvor genannten Untersuchung überein. Die Autoren schlossen, dass die langsamere Ausscheidung bei der Ratte eine Bedeutung für deren höhere Empfindlichkeit bezüglich der fertilitätsschädigenden Wirkung haben könnte (Bone et al. 2002). Ausgehend von einer gesättigten wässrigen 3-Chlor-1,2-propandiol-Lösung ergeben sich mit den Modellen von Guy und Potts (1993), Wilschut et al. (1995) bzw. Fiserova-Bergerova et al. (1990) dermale Fluxe von 0,162; 0,311 bzw. 0,946 mg/cm² und Stunde. Das würde bei einer einstündigen Exposition von beiden Händen und Vorderarmen (ca. 2000 cm²) einer Gesamtaufnahme von 324, 623 bzw. 1891 mg 3-Chlor-1,2-propandiol bzw. 5, 9 und 27 mg/kg KG bei 70 kg Körpergewicht entsprechen.

3.2 Metabolismus

Das Metabolismusschema (siehe Abbildung 1) zeigt, dass der Metabolit Glycidol auch wieder zum 3-Chlor-1,2-propandiol umgesetzt werden kann.

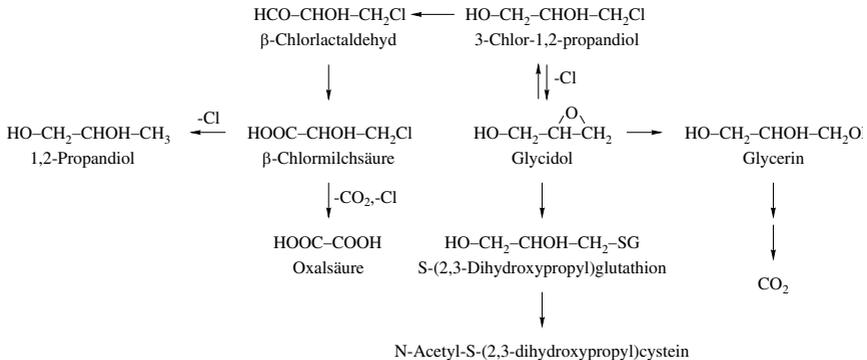


Abb. 1. Metabolismus von 3-Chlor-1,2-propandiol (nach California EPA 2010)

In einer Untersuchung mit intraperitonealer Gabe von 100 mg ³⁶Cl-3-Chlor-1,2-propandiol/kg KG an männliche Sprague-Dawley-Ratten wurde β-Chlorlactat nach zwei Stunden im Gewebe nachgewiesen und war nach 14 Stunden der radioaktive Hauptmetabolit. Auch freies ³⁶Cl wurde nach zwei Stunden gefunden, was zeigt, dass 3-Chlor-1,2-propandiol bei der Ratte nach Aufnahme über beide Stoffwechselwege abgebaut wird. Von der verabreichten Dosis wurden 9% unverändert mit dem Urin ausgeschieden. Im Urin fanden sich in den ersten fünf Stunden vorwiegend freies ³⁶Cl, erst fünf Stunden nach der Verabreichung β-Chlorlactat (23%) und β-Chlorlactaldehyd (0,95%). Die Autoren schlossen daraus, dass der Hauptabbauweg über Glycidol verläuft, 3-Chlor-1,2-pro-

pandiol jedoch bei höheren Dosierungen auch oxidativ abgebaut wird (California EPA 2010). Somit ist nicht auszuschließen, dass das freigesetzte Chlor auch aus der Metabolisierung des β -Chlorlactaldehyds stammt.

Vergleich Ratte / Maus

In einer Untersuchung mit intraperitonealer Injektion von ^{14}C -3-Chlor-1,2-propandiol an männliche Wistar-Ratten und männliche ICI-Mäuse wurden innerhalb von 24 Stunden bei der Ratte 30%, bei der Maus 23% der verabreichten Dosis als CO_2 abgeatmet. Mit dem Urin wurden bei der Ratte 8,5%, bei der Maus 11% unverändertes ^{14}C -3-Chlor-1,2-propandiol ausgeschieden. Bei beiden Spezies wurden die Metaboliten S-(2,3-Dihydroxypropyl)cystein und N-Acetyl-S-(2,3-dihydroxypropyl)cystein im Urin nachgewiesen (k. A. zur Konzentration; California EPA 2010).

Nach intraperitonealer Gabe von 100 mg ^{36}Cl -3-Chlor-1,2-propandiol/kg KG an männliche B6C3F1-Mäuse wurden im Urin vorwiegend unverändertes 3-Chlor-1,2-propandiol, sowie geringe Mengen an ^{36}Cl -Ionen und β -Chlorlactat nachgewiesen. Bei der Ratte war nach Gabe von 5 mg ^{36}Cl -(R,S)-3-Chlor-1,2-propandiol/kg KG der prozentuale Anteil an ^{36}Cl -Ionen und β -Chlorlactat höher. Bei der Ratte wurde fünf Stunden nach Gabe von 5 mg/kg KG im Nebenhodenschwanz 3-Chlorlactaldehyd gefunden, nicht aber nach 10 Stunden. β -Chlorlactat wurde nach fünf und zehn Stunden gefunden. Die Autoren vermuten, dass 3-Chlorlactaldehyd in den vorhandenen Spermien zu β -Chlorlactat umgesetzt wird. Die Autoren schlossen, dass der geringere Metabolismus bei der Ratte eine Bedeutung für deren höhere Empfindlichkeit bezüglich der fertilitäts-schädigenden Wirkung haben könnte (Bone et al. 2002).

4 Erfahrungen beim Menschen

Hierzu liegen keine neuen Untersuchungen vor.

5 Tierexperimentelle Befunde und In-vitro-Untersuchungen

5.1 Akute Toxizität

Neuere Untersuchungen liegen nur zum Endpunkt „Inhalative Aufnahme“ vor.

In einer Studie nach OECD-Prüfrichtlinie 403 führte die sechsstündige Exposition gegen 0 oder 16,7 ml 3-Chlor-1,2-propandiol/m³ (nahezu gesättigte Atmosphäre) von zehn männlichen und zehn weiblichen Ratten nicht zu klinischen Symptomen oder Effekten auf das Körpergewicht. Die makroskopische Untersuchung war ohne auffälligen Befund (Solvay America 1995).

5.2 Subakute, subchronische und chronische Toxizität

Es liegen neue Studien mit inhalativer und oraler Aufnahme vor, die im Folgenden berichtet werden.

14 3-Chlor-1,2-propandiol

5.2.1 Inhalative Aufnahme

In einer subakuten Studie nach OECD-Prüfrichtlinie 412 wurden jeweils fünf weibliche und zehn männliche Sprague-Dawley-Ratten zwei Wochen lang, an sechs Stunden pro Tag, fünf Tage pro Woche gegen 0; 1,3; 4,8 oder 18,1 ml 3-Chlor-1,2-propandiol/m³ exponiert (analytische Konzentration). Drei Tage nach der letzten Exposition wurden jeweils fünf männliche und fünf weibliche Tiere getötet, die übrigen männlichen Ratten 31 Tage nach der letzten Exposition. In der hohen Dosisgruppe war die Futteraufnahme signifikant vermindert. Es wurden keine klinischen Symptome und keine Effekte auf Körpergewichtsentwicklung oder Organgewichte beobachtet. Hämatologie und klinische Chemie sowie makroskopische und mikroskopische Untersuchungen waren ohne auffälligen Befund. Der NOAEL der Studie wurde auf 4,8 ml/m³ festgelegt (Solvay America 1995).

5.2.2 Orale Aufnahme

Ratte

In einer Studie mit männlichen Wistar-Ratten, in der der zeitliche Verlauf der nephrotoxischen Wirkung von 3-Chlor-1,2-propandiol untersucht wurde, traten nach der 10- bis 40-tägigen Gabe von 30 mg/kg KG und Tag mit der Schlundsonde eine schwache bis ausgeprägte, fokale, hydropische Degeneration der Nieren auf. Die Häufigkeit der fokalen Degeneration nahm mit der Expositionsdauer zu. In den Hodenkanälchen nahm die Anzahl der Spermien mit der Behandlungsdauer ab (Li et al. 2010).

In einer vierwöchigen Schlundsondenstudie wurde 3-Chlor-1,2-propandiol an fünf Tagen pro Woche in Dosierungen von 0, 30 oder 60 mg/kg KG und Tag an jeweils zehn Ratten pro Geschlecht und Dosisgruppe verabreicht. Ab 30 mg/kg KG und Tag waren die relativen Leber- und Nierengewichte und die Glutamat-Pyruvat-Transaminase erhöht, und es trat bei beiden Geschlechtern eine Anämie auf. In der hohen Dosisgruppe war die Körpergewichtszunahme reduziert, die Blutharnstoffwerte waren leicht erhöht, bei den männlichen Tieren auch das relative Testesgewicht, und bei den weiblichen Tieren wurde eine chronisch progressive Nephropathie beobachtet. Ab 30 mg/kg KG und Tag trat eine dosisabhängige Dilatation der testikulären Tubuli auf (Nestlé 1983). Der LOAEL dieser Studie beträgt 30 mg/kg KG und Tag, ein NOAEL kann nicht abgeleitet werden.

In einer 90-Tage-Studie wurde an jeweils 20 männlichen und weiblichen F344-Ratten Trinkwasser mit 0, 100, 300 oder 500 mg/l 3-Chlor-1,2-propandiol verabreicht, was einer Dosis von 0, 9, 27 bzw. 43 mg/kg KG und Tag bei den männlichen und 0, 11, 31 bzw. 46 mg/kg KG und Tag bei den weiblichen Tieren entspricht. In der hohen Dosisgruppe war die Körpergewichtszunahme leicht reduziert, was auf die ebenfalls verminderte Futter- und Wasseraufnahme zurückgeführt wurde. Eine Zwischenuntersuchung nach 28 Tagen fand an jeweils zehn Tieren pro Gruppe statt. Die relativen Leber- und Nierengewichte der männlichen und weiblichen Tiere waren nach 28 und nach 90 Tagen signifikant und dosisabhängig erhöht. Für die Nieren war dieser Effekt ab der niedrigsten Dosis signifikant. Nach 90 Tagen war bei allen behandelten Tieren eine Anämie vorhanden, die nach 28 Tagen nur bei den weiblichen Tieren zu beobachten war. Ebenfalls bei allen behandelten Tieren waren die Plasma-Kreatinin-Werte nach 90 Tagen erniedrigt, nach 28 Tagen nur in den beiden hohen Dosis-Gruppen. Bei den weiblichen Tieren trat ab der mittleren Dosisgruppe nach 90 Tagen eine Reduktion der Alanin-

Aminotransferase, Aspartat-Aminotransferase und von Calcium auf. Histopathologische Untersuchungen wurden nur bei den Kontrolltieren und den Tieren der hohen Dosisgruppe durchgeführt. Die behandelten Tiere zeigten eine geringe kristalline Präzipitation in den Nieren, und in den Nebenhoden war die Zahl abgeschilfter Zellen, die aus den Hodenkanälchen stammen, erhöht. Der LOAEL dieser Untersuchung beträgt 9 bzw. 11 mg/kg KG und Tag für männliche und weibliche Ratten. Ein NOAEL kann nicht abgeleitet werden (Nestlé 1989 a).

In einer Studie, die nur als englische Zusammenfassung vorliegt, erhielten Gruppen von jeweils 21 Sprague-Dawley-Ratten 90 Tage lang 3-Chlor-1,2-propandiol in Dosierungen von 0; 0,25; 0,5; 1; 2; 4; 8 oder 16 mg/kg KG und Tag mit der Schlundsonde. Es wurden keine Effekte auf Futterverbrauch, Körpergewicht, Hämatologie und klinische Chemie beobachtet. Ab 4 mg/kg KG und Tag waren die Aktivität der N-Acetyl- β -D-Glucosaminidase im Urin und das Organgewicht der Nieren erhöht; die Histopathologie ergab bei diesen Dosierungen pathologische Veränderungen der Nieren (k. w. A.). Pathologische Veränderungen (k. w. A.) in Testes und Nebenhoden, eine verminderte Lactatdehydrogenase-Aktivität in den Spermien sowie die verminderte Lebensfähigkeit der Spermien wurden ab 8 mg/kg KG und Tag beobachtet (Li et al. 2003). Der NOAEL der unzureichend beschriebenen Untersuchung beträgt 2 mg/kg KG und Tag.

In einer chronischen Studie mit Schlundsondengabe von 0, 30 oder 60 mg 3-Chlor-1,2-propandiol/kg KG und Tag an CD-Ratten (siehe auch Abschnitt 5.7.2) und einer Erhöhung der Dosis auf 35 bzw. 70 mg/kg KG nach zehnwöchiger Exposition trat nach insgesamt 72 Wochen bei allen behandelten männlichen Tieren eine ausgeprägte testikuläre Degeneration und eine Atrophie der Testes auf, etwa die Hälfte zeigten eine Polyarteriitis der Testes (Weisburger et al. 1981). Der LOAEL dieser Studie beträgt 30 mg/kg KG und Tag.

In einer chronischen Trinkwasserstudie mit Sprague-Dawley-Ratten (siehe auch Abschnitt 5.7.2) wurden bei männlichen Tieren bereits ab der niedrigsten Dosis von 2 mg/kg KG und Tag tubuläre Hyperplasien der Nieren wie auch erhöhte Inzidenzen der chronischen Nephropathie sowie Atrophie und Arteriitis der Testes berichtet (Cho et al. 2008 b). Der LOAEL dieser Studie beträgt 2 mg/kg KG und Tag. Mit der BMD5-Software der USEPA Version 1.4.1b wurde für den empfindlichsten Endpunkt „tubuläre Hyperplasie der Nieren“ für die männlichen Tiere mit dem log-logistic-Modell eine BMD05 von 0,57 mg/kg KG und eine BMDL05 von 0,41 mg/kg KG und Tag berechnet.

In einer weiteren chronischen Trinkwasserstudie mit F344-Ratten (siehe auch Abschnitt 5.7.2) wurde ab 5,2 bzw. 7,0 mg 3-Chlor-1,2-propandiol/kg KG und Tag bei männlichen und weiblichen Tieren eine signifikant verminderte Körpergewichtszunahme berichtet. Diese Dosis führte bei beiden Geschlechtern auch zu einem signifikanten Anstieg der Inzidenzen der tubulären Hyperplasien in den Nieren, der chronischen progressiven Nephropathie (Inzidenz bei 0,15 bzw. 0,19 (Kontrolle); 1,1 bzw. 1,4; 5,2 bzw. 7,0 und 28 bzw. 35 mg/kg KG und Tag bei männlichen Tieren 36/50, 40/50, 45/50, 49/50, bei weiblichen 24/50, 23/50, 42/50, 48/50) und zu einem signifikanten Anstieg des absoluten Nierengewichts, der Serum-Kreatinin-Konzentration und der Blut-Harnstoff-Konzentration. Bei männlichen Ratten wurde zudem ab 5,2 mg/kg KG und Tag eine signifikant erhöhte Inzidenz der glandulären Hyperplasie des Brustdrüsengewebes beobachtet (Nestlé 1993). Der NOAEL dieser Untersuchung beträgt 1,1 bzw. 1,4 mg/kg KG und Tag für männliche und weibliche Ratten.

16 3-Chlor-1,2-propandiol

Neurotoxische Wirkung

Gruppen von zehn männlichen und zehn weiblichen Sprague-Dawley-Ratten erhielten elf Wochen lang 3-Chlor-1,2-propandiol mit der Schlundsonde in Dosierungen von 0, 10, 20, oder 30 mg/kg KG und Tag, die Positivkontrolle wurde mit 30 mg Acrylamid/kg KG und Tag behandelt. Verhaltenstests wurden in der 1., 3., 5., 7., 9. und 11. Woche der Behandlung durchgeführt. Im Gegensatz zur Positivkontrolle bewirkte die Behandlung mit 3-Chlor-1,2-propandiol keine Effekte auf motorische Aktivität, Koordination oder Muskelkraft (Kim et al. 2004). Der NOAEL der Studie beträgt 30 mg/kg KG und Tag.

In einer weiteren Schlundsondenstudie erhielten Gruppen von jeweils fünf männlichen Sprague-Dawley-Ratten 13 Wochen lang 0, 10 oder 30 mg/kg KG und Tag. Die Autoren untersuchten das Vorkommen von Nervenzellen in Striatum und Cortex, die Stickoxidsynthase (SOS) exprimieren. Die Behandlung reduzierte dosisabhängig und signifikant die SOS-Neuronen im rostralen Striatum und Cortex, während in caudalen Abschnitten der umgekehrte Effekt eintrat. Die Autoren diskutieren eine Beeinträchtigung der Stickoxid-Signalinduktion (Kim 2008). Der LOAEL der Studie beträgt 10 mg/kg KG und Tag.

Maus

In einer Studie nach OECD-Prüfrichtlinie 408 (jedoch ohne ophthalmologische Untersuchung oder Untersuchungen zur Motorik und Sensorik) wurde jeweils zehn männlichen und zehn weiblichen B6C3F1-Mäusen 13 Wochen lang 3-Chlor-1,2-propandiol (Reinheitsgrad 98%) in Konzentrationen von 0, 5, 25, 100, 200 oder 400 mg/l Trinkwasser verabreicht (entsprechend 0; 0,9; 4,6; 18; 37 oder 77 mg/kg KG und Tag bei männlichen und 0; 0,8; 3,9; 15; 30 oder 61 mg/kg KG und Tag bei weiblichen Tieren). Die Behandlung war für keines der Tiere letal. Effekte auf die Futter- und Wasseraufnahme wurden nicht beobachtet. In der hohen Dosisgruppe war die Körpergewichtszunahme beider Geschlechter signifikant vermindert. Die Darstellung des finalen Körpergewichtes ist widersprüchlich; im Text und in den Tabellen werden unterschiedliche Werte genannt. Die relativen Nierengewichte waren ab 100 mg/l Trinkwasser (entsprechend 15 oder 18 mg/kg KG und Tag) bei beiden Geschlechtern erhöht. Die Hämatologie und die klinische Chemie waren ohne behandlungsbedingten Befund. In der hohen Dosisgruppe war die Beweglichkeit der Spermien vermindert, und die vaginale Zytologie ergab einen signifikant verlängerten Zyklus. Eine Degeneration des Keimepithels in den Hodenkanälchen war ab 37 mg/kg KG und Tag signifikant, eine minimale Degeneration trat bereits bei 4,6 mg/kg KG und Tag bei einem von zehn Tieren und bei 18 mg/kg KG und Tag bei zwei von zehn Tieren auf (Cho et al. 2008 a). Die Validität der Studie ist durch die widersprüchliche Dokumentation eingeschränkt.

In einer Kanzerogenitätsstudie nach OECD-Prüfrichtlinie 451 mit jeweils 50 männlichen und 50 weiblichen B6C3F1-Mäusen pro Dosisgruppe, denen 104 Wochen lang 0, 30, 100 oder 300 (nach 100 Tagen 200) mg 3-Chlor-1,2-propandiol/l (Reinheitsgrad 98%) über das Trinkwasser verabreicht wurde (siehe Abschnitt 5.7.2), betrug die Aufnahme 4,2; 14,3 bzw. 33 mg/kg KG und Tag für männliche Tiere und 3,7; 12,2 bzw. 31 mg/kg KG und Tag für weibliche Tiere. In der hohen Dosisgruppe waren bei beiden Geschlechtern die Wasser- und Futtermittelaufnahme sowie die Körpergewichtszunahme signifikant reduziert. Ausgezehrt und geduckte Haltung wurden in dieser Dosisgruppe ebenfalls beobachtet. Die Urinanalyse war ohne auffälligen Befund. Hämatologische

Untersuchungen zeigten bei männlichen Tieren ab der mittleren Dosis eine reduzierte Zahl von Blutplättchen und verminderten mittleren Hämoglobin-Gehalt der Erythrozyten, in der hohen Dosisgruppe einen Anstieg der RDW (Abweichung der Erythrozyten von der normalen Größe); bei weiblichen Tieren waren die Monozyten in der höchsten Dosisgruppe vermindert. Die Blutharnstoffwerte waren bei beiden Geschlechtern ab der mittleren Dosis, die Aktivität der alkalischen Phosphatase bei der hohen Dosis erhöht. Bei den männlichen Tieren der hohen Dosisgruppe stieg der Serum-Albuminwert an, die Triglyceride nahmen ab. Histopathologisch traten Effekte an den Testes und den Nieren auf, waren aber nicht dosisabhängig (Jeong et al. 2010). Der NOAEL der Untersuchung beträgt 3,7 bzw. 4,2 mg/kg KG und Tag für die männliche und weibliche Maus.

Immuntoxische Wirkung

Jeweils sieben bis acht weiblichen Balb/c-Mäusen wurde 14 Tage lang 0, 25, 50 oder 100 mg 3-Chlor-1,2-propandiol/kg KG und Tag mittels Schlundsonde verabreicht. Effekte auf das Körpergewicht wurden nicht beobachtet. Ab 50 mg/kg KG und Tag war die Aktivität der natürlichen Killerzellen (NK-Zellen) erniedrigt. Bei 100 mg/kg KG und Tag waren das absolute und das relative Thymusgewicht signifikant reduziert, die proliferative Antwort der antikörperbildenden Zellen in der Milz auf Schaf-Erythrozyten vermindert, und die Zelldichte in Thymus und Milz reduziert (Lee et al. 2004). Unter gleichen Versuchsbedingungen wurde in der hohen Dosisgruppe die Aktivität der peritonealen Makrophagen vermindert, die Zusammensetzung der phänotypischen Subklassen des Thymus verändert, und eine verstärkte Apoptose der Thymuszellen beobachtet (Lee et al. 2005).

Zusammenfassung (Ratte und Maus)

In einer chronischen Trinkwasserstudie mit F344-Ratten traten ab 5,2 bzw. 7,0 mg/kg KG und Tag bei männlichen und weiblichen Tieren eine verminderte Körpergewichtszunahme und Effekte auf die Nieren (tubuläre Hyperplasien, chronische progressive Nephropathie, Anstieg des Nierengewichts, der Serum-Kreatinin- sowie der Blut-Harnstoff-Konzentration) auf, bei männlichen Ratten zudem eine erhöhte Inzidenz der glandulären Hyperplasie des Brustdrüsengewebes (Nestlé 1993). Der NOAEL dieser Untersuchung beträgt 1,1 bzw. 1,4 mg/kg KG und Tag für männliche und weibliche Ratten. In einer weiteren chronischen Trinkwasserstudie wurden bei männlichen Sprague-Dawley-Ratten bereits bei der niedrigsten Dosis von 2 mg/kg KG und Tag tubuläre Hyperplasien der Nieren, erhöhte Inzidenzen der chronischen Nephropathie sowie Atrophie und Arteriitis der Testes berichtet (Cho et al. 2008 b). Ein NOAEL konnte nicht abgeleitet werden. Die BMDL05 beträgt 0,41 mg/kg KG und Tag. In den Studien zur Toxizität an Spermien wurden schon bei niedrigeren Dosierungen Effekte beobachtet (siehe Abschnitt 5.5.1).

In einer chronischen Trinkwasserstudie mit B6C3F1-Mäusen traten ab 12,2 mg/kg KG und Tag hämatologische und klinisch-chemische Effekte auf (Jeong et al. 2010). Der NOAEL beträgt 3,7 mg/kg KG und Tag.

18 3-Chlor-1,2-propandiol

5.2.3 Intraperitoneale Aufnahme

Neurotoxizität

Fünf männliche Balb/c-Mäuse, denen neun Tage lang intraperitoneal 25 mg 3-Chlor-1,2-propandiol/kg KG und Tag verabreicht wurde, zeigten klinische Symptome wie Zittern, Ataxie und Parese. Die neuropathologische Untersuchung ergab Läsionen im Hirnstamm. Die neurotoxischen Effekte waren auf die Gliazellen, insbesondere die Astrozyten beschränkt. Ähnliche Ergebnisse wurden bei Versuchen mit weiblichen Wistar-Ratten berichtet, die fünf Tage lang intraperitoneal 50 mg/kg KG und Tag erhielten (Cavanagh und Nolan 1993; Cavanagh et al. 1993). Die Angaben zu Kontrollen fehlen oder sind widersprüchlich, so dass histologische Artefakte nicht ausgeschlossen werden können.

Jeweils vier männliche Wistar-Ratten erhielten einmalig intraperitoneal 80, 120, 140 oder 160 mg/kg KG S(+)-3-Chlor-1,2-propandiol. Dieses Isomer ist auch für die Infertilitätswirkung verantwortlich (siehe Begründung 1991). Läsionen im Hirnstamm wurden ab 120 mg/kg KG berichtet, eine leichte Ataxie bei 140 mg/kg KG. Eine Beeinträchtigung des Energiehaushaltes als Ursache der neurotoxischen Wirkung schließen die Autoren aus (Skamarauskas et al. 2007). Angaben zu Kontrollen fehlen, jedoch war die niedrige Dosis von 80 mg/kg KG und Tag ohne Effekt.

In einer weiteren Studie wurden mit Magnet-Resonanz-Tomographie Läsionen im Hirnstamm von männlichen F344-Ratten nach intraperitonealer Injektion von 140 mg S(+)-3-Chlor-1,2-propandiol/kg KG nachgewiesen. Die Läsionen erreichten zwei Tage nach der Substanzgabe ihre maximale Ausdehnung. Die Autoren diskutieren einen selektiven Effekt auf Astrozyten mit nachfolgender Schädigung der Blut-Hirn-Schranke (Prior et al. 2004).

5.3 Wirkung auf Haut und Schleimhäute

5.3.1 Haut

Hierzu liegen keine neuen Untersuchungen vor.

5.3.2 Auge

Hierzu liegen keine neuen Untersuchungen vor.

5.4 Allergene Wirkung

Hautsensibilisierende Wirkung

In einem modifizierten Bühler-Test mit unverdünntem 3-Chlor-1,2-propandiol (Reinheit 98%) für die zehnmalige Induktions- und für die Auslösebehandlung wurde bei keinem der fünf männlichen und fünf weiblichen Meerschweinchen eine positive Reaktion beobachtet (ECHA 2012).

Atemwegssensibilisierende Wirkung

Hierzu liegen keine Befunde vor.

5.5 Reproduktionstoxizität

5.5.1 Fertilität

Die fertilitätsschädigende Wirkung von 3-Chlor-1,2-propandiol wurde bereits in der Begründung 1991 beschrieben. Untersuchungen am Schwein mit einer Expositionsdauer von fünf Tagen ergaben einen LOAEL für die fertilitätsschädigende Wirkung von 1 mg/kg KG und Tag, ein NOAEL konnte nicht abgeleitet werden. Bei männlichen Ratten verursachte die orale Verabreichung von 1 mg/kg KG und Tag für 14 Tage keine Beeinträchtigung der Fertilität, der LOAEL ist 5 mg/kg KG und Tag (Begründung 1991).

Folgende Untersuchungen sind neu hinzugekommen:

Männliche Tiere, inhalative Aufnahme

In einer subakuten Studie nach OECD-Prüfrichtlinie 412 (siehe auch Abschnitt 5.2.1) wurden jeweils zehn männliche Sprague-Dawley-Ratten zwei Wochen lang, an sechs Stunden pro Tag, fünf Tage pro Woche gegen 0; 1,3; 4,8 oder 18,1 ml 3-Chlor-1,2-propandiol/m³ exponiert (analytische Konzentration). In der hohen Dosisgruppe war die Futteraufnahme signifikant vermindert. Zwei Tage nach der letzten Exposition wurden die Ratten über Nacht mit jeweils einem unbehandelten weiblichen Tier verpaart. Die Anzahl der erfolgreichen Verpaarungen betrug in den jeweiligen Dosisgruppen 2, 4, 6 und 6 von 10 bei 0; 1,3; 4,8 bzw. 18,1 ml/m³, die Anzahl der trächtigen Ratten 2, 4, 4 und 0. Bei weiteren Verpaarungen der männlichen Ratten mit unbehandelten weiblichen Tieren nach 6–9 und 27–30 Tagen wurden keine Effekte auf die Fertilität beobachtet. Aufgrund der fehlenden Trächtigkeit der unbehandelten weiblichen Ratten nach Verpaarung mit den männlichen Tieren der hohen Dosisgruppe diskutieren die Autoren eine LOAEC von 18,1 ml/m³, die NOAEC beträgt 4,8 ml/m³ (Solvay America 1995). Die Validität dieser Studie ist begrenzt, da in der Kontrolle nur zwei weibliche Ratten besamt wurden und aufgrund des niedrigen Inseminationsindex von 20–60% zu wenige Tiere zur Verfügung standen. Somit kann eine NOAEC nicht valide festgelegt werden. In der Studie wurden außer histologischen Untersuchungen keine spermatologischen Untersuchungen durchgeführt.

Männliche Tiere, orale Aufnahme

In einer Untersuchung zur In-vitro-Fertilisation, die nur als Zusammenfassung vorliegt, erhielten männliche Sprague-Dawley-Ratten fünf Tage lang mit der Schlundsonde 0; 0,3; 1 oder 3 mg 3-Chlor-1,2-propandiol/kg KG und Tag. Die Tiere zeigten eine Abnahme der Spermienmotilität und der Fertilität bei der In-vitro-Fertilisation von Oozyten unbehandelter Weibchen. In der hohen Dosisgruppe betrug der Prozentsatz der Oozyten-Penetration durch die Spermien 8,9%, bei den Kontrolltieren 77,3%. Kein Effekt wurde bei 0,3 oder 1 mg/kg KG und Tag beobachtet. Eine leicht veränderte Spermienmotilität zeigte sich ebenfalls nur in der 3-mg/kg-Gruppe (Izumi et al. 2003). Der NOAEL für die Fertilität und Spermienmotilität beträgt 1 mg/kg KG und Tag, der LOAEL 3 mg/kg KG und Tag.

In einer Untersuchung an jeweils fünf Wistar-Ratten, denen fünf Tage lang 0, 5, 10 oder 20 mg/kg KG und Tag mittels Schlundsonde verabreicht wurde und die anschließend mit unbehandelten Weibchen verpaart wurden, zeigte sich ab 5 mg/kg KG und Tag eine

20 3-Chlor-1,2-propandiol

Infertilität. Auch die Motilität der Spermien war ab dieser Dosis beeinträchtigt (Woods und Garside 1996). Der LOAEL für Fertilität und Spermienmotilität beträgt 5 mg/kg KG und Tag.

Jeweils 15 männliche Sprague-Dawley-Ratten wurden neun Tage lang mittels Schlundsonde gegen 3-Chlor-1,2-propandiol in Dosierungen von 0, 1, 3 oder 10 mg/kg KG und Tag exponiert. Die Tiere wurden zwölf Stunden nach der letzten Behandlung eine Nacht mit jeweils zwei unbehandelten weiblichen Tieren verpaart. Die weiblichen Tiere wurden am 15. Trächtigkeitstag schnittenbunden. Der Verpaarungsindex war durch die Behandlung nicht beeinträchtigt. Der Fertilitätsindex betrug 100, 60 bzw. 0% bei 1, 3 und 10 mg/kg KG und Tag. Ab 3 mg/kg KG und Tag waren auch die Präimplantationsverluste signifikant erhöht, Implantationen pro Wurf und lebende Feten pro Wurf waren signifikant reduziert. Histopathologisch zeigten weder Testes oder Nebenhodenschwanz einen substanzbedingten Befund, noch war die Anzahl der Spermien bei den behandelten Tieren signifikant beeinträchtigt. Die Motilitätsparameter der Spermien waren ab 3 mg/kg KG und Tag signifikant reduziert (Ban et al. 1999). Der NOAEL für Fertilität und Spermienmotilität beträgt 1 mg/kg KG und Tag, der LOAEL 3 mg/kg KG und Tag.

In einer weiteren Untersuchung wurden jeweils zehn männliche Sprague-Dawley-Ratten zwei Wochen lang mittels Schlundsonde oral gegen 0, 1, 5 oder 25 mg 3-Chlor-1,2-propandiol/kg KG und Tag exponiert und am 15. Tag direkt oder am 29. Tag nach Expositionsbeginn nach einer 14-tägigen Verpaarungszeit ohne Exposition hinsichtlich Testesgewicht, DNA-Gehalt in den testikulären Zellen, Histopathologie der Testes und Nebenhoden und Spermienanalyse untersucht. Die weiblichen Tiere wurden am 13. Trächtigkeitstag schnittenbunden. Die höchste Dosis führte zu leicht verminderter Körpergewichtszunahme und Futteraufnahme, sowie zu einem erhöhten Testesgewicht bei den männlichen Tieren. Der DNA-Gehalt in den testikulären Zellen war in der Gruppe am 29. Tag ausgeprägter als am 15. Tag. Bei den weiblichen Tieren waren nach Verpaarung mit den männlichen Tieren der Expositionsgruppen 0, 1, 5 bzw. 25 mg/kg KG und Tag 10, 10, 5 bzw. 0 von 10 Tieren tragend. Auch die Implantationsrate war ab 5 mg/kg KG und Tag signifikant reduziert. Die Motilität der Spermien war ab 5 mg/kg KG und Tag in der Untersuchung am 15. Tag beeinträchtigt. Eine reduzierte Spermieneschwindigkeit und Spermienzahl sowie eine erhöhte Inzidenz abnormaler Spermien traten in der hohen Dosisgruppe auf (Hoyt et al. 1994). Der NOAEL für Fertilität dieser Untersuchung beträgt 1 mg/kg KG und Tag, der LOAEL 5 mg/kg KG und Tag. An jeweils sieben männliche Sprague-Dawley-Ratten wurde zwei Wochen lang 3-Chlor-1,2-propandiol mit der Schlundsonde in Dosierungen von 0, 2 oder 8 mg/kg KG und Tag verabreicht. Eine zusätzliche Gruppe erhielt die hohe Dosis vier Wochen lang. Anschließend wurden die Tiere zwei Wochen lang mit 14 unbehandelten weiblichen Ratten verpaart, wobei die Behandlung fortgesetzt wurde. Es wurden die Fertilitätsparameter und eine Spermienanalyse durchgeführt. Die Spermienaktivität war ab 2 mg/kg KG und Tag leicht beeinträchtigt. Während die weiblichen Tiere, die mit den 2 mg/kg KG und Tag behandelten männlichen Tieren verpaart wurden, sich weder in der Trächtigkeitsrate, noch in der Anzahl der Implantationen oder Corpora lutea von den Kontrolltieren unterschieden, waren die Tiere der hohen Dosisgruppe infertil (Yamada et al. 1995). Der NOAEL dieser Untersuchung beträgt für die Fertilität 2 mg/kg KG und Tag, wenn auch diese Dosis schon zu leicht reduzierter Spermienaktivität führt.

Jeweils acht männliche Sprague-Dawley-Ratten erhielten drei oder 18 Tage lang 0,5 oder 20 mg 3-Chlor-1,2-propandiol/kg KG und Tag mittels Schlundsonde. Jeweils am Ende der Expositionszeit (3.–4. bzw. 14.–17. Tag) wurden die Tiere mit unbehandelten weiblichen Tieren verpaart. Am 3. und 18. Tag wurden die Spermien untersucht. Die weiblichen Tiere wurden am 13. bzw. 14. Trächtigkeitstag schnittentbunden. Bis auf eine leicht verzögerte Körpergewichtszunahme der männlichen Tiere in der hohen Dosisgruppe traten keine klinischen Symptome auf. Am 3., nicht aber am 18. Tag waren in der hohen Dosisgruppe das absolute und das relative Testesgewicht, am 18. Tag das absolute und das relative Nebenhodengewicht signifikant reduziert. Entsprechend war in der hohen Dosisgruppe ab dem 3. Tag das Keimepithel degeneriert, die Spermienzahl in den Nebenhoden und die Spermienmotilität vermindert. Am 18. Tag traten zusätzlich Atrophien der Nebenhoden und eine erhöhte Inzidenz abnormaler Spermien auf. Der NOAEL für histopathologische Befunde betrug 5 mg/kg KG und Tag. Der Trächtigkeitsexindex der zweiten Verpaarung war bei 5 mg/kg KG und Tag, der der ersten Verpaarung bei 20 mg/kg KG und Tag signifikant reduziert. Die Zahl lebender Feten war bei 5 mg/kg KG und Tag schon nach der ersten Verpaarung reduziert (Kawaguchi et al. 2004). Der LOAEL für die Fertilität beträgt in dieser Untersuchung 5 mg/kg KG und Tag.

Jeweils 15 männliche Sprague-Dawley-Ratten erhielten mittels Schlundsonde 28 Tage lang 0; 0,01; 0,05; 0,25; 1 oder 5 mg/kg KG und Tag. Nach der Behandlung wurden die Tiere über Nacht mit weiblichen Ratten verpaart und am nächsten Tag die Spermien untersucht. Die trächtigen weiblichen Tiere wurden am 20. Trächtigkeitstag schnittentbunden. Das Körpergewicht der Tiere war von der Behandlung nicht beeinflusst. Die Anzahl der Spermien und deren Motilität waren ab der niedrigsten Dosis vermindert, signifikant war der Effekt ab 0,25 mg/kg KG und Tag. Andere histopathologische Befunde der Testes oder Nebenhoden traten nicht auf, die Bestimmung der Konzentration von Testosteron und LH in Blut und Testes war ohne substanzbedingten Befund. Das relative Testesgewicht war bei allen Dosierungen leicht vermindert, signifikant aber nur bei 0,05 und 1 mg/kg KG und Tag, so dass hier keine klare Dosisabhängigkeit zu beobachten war. Bei 5 mg/kg KG und Tag waren der Fertilitätsindex und die Anzahl lebender Feten signifikant reduziert (Kwack et al. 2004). Der NOAEL dieser Untersuchung beträgt 0,05 mg/kg KG und Tag, der LOAEL 0,25 mg/kg KG und Tag.

Auch in weiteren Untersuchungen an Wistar-Ratten bestätigt sich eine veränderte Spermienmotilität nach zwei- oder vierwöchiger Schlundsondengabe von 5 oder 20 mg 3-Chlor-1,2-propandiol/kg KG und Tag (Buttar et al. 1997). Eine Studie mit 3-Chlor-1,2-propandiol an jeweils sechs Wistar-Ratten pro Dosisgruppe, denen zwei oder vier Wochen lang 0, 10, 20 oder 40 mg/kg KG und Tag mit der Schlundsonde verabreicht wurden, zeigte ab 10 mg/kg KG und Tag einen dosisabhängigen Anstieg des Testesgewichtes, histopathologische Veränderungen in den Spermien und den Nebenhodenschwänzen (Shell Oil Co 1992). In einer Untersuchung am Hamster traten nach viertägiger oraler Gabe von 33 mg/kg KG und Tag (niedrigste getestete Dosis) Effekte auf die Fertilität und die Spermien auf (Slott et al. 1995, 1997).

Weitere Studien an der männlichen Ratte mit 3-Chlor-1,2-propandiol und nur einer einzelnen oralen Dosis von 5, 8, 10 oder 20 mg/kg KG zeigen ähnliche Effekte wie oben beschrieben (Kato et al. 2000; Kaneto et al. 1999; Plassmann und Urwyler 2001; Toth et al. 1992; Xie et al. 2010). Da sie nicht zur Ableitung des NOAEL dienen, werden sie hier nicht detailliert beschrieben.

22 3-Chlor-1,2-propandiol

Zusammenfassung

In keiner der vorliegenden Studien wurde der gesamte Spermatogenese-Zyklus abgedeckt, da nur zwischen 5 und 28 Tage lang behandelt wurde. Aus den Ergebnissen der Untersuchungen ist jedoch ersichtlich, dass die Effekte mit zunehmender Behandlungsdauer und Dosis ansteigen.

Untersuchungen am Schwein mit einer Expositionsdauer von fünf Tagen ergaben einen LOAEL für die fertilitätsschädigende Wirkung von 1 mg/kg KG und Tag, ein NOAEL konnte nicht abgeleitet werden (Begründung 1991).

Ratten sind bezüglich einer Beeinträchtigung der Fertilität offenbar weniger empfindlich als Schweine. So verursachte die orale Verabreichung von 1 mg/kg KG und Tag (NOAEL) für 14 Tage bei männlichen Ratten keine Beeinträchtigung der Fertilität, der LOAEL betrug 3 oder 5 mg/kg KG und Tag, was jeweils die nächsthöhere getestete Dosis war (Begründung 1991; Ban et al. 1999; Hoyt et al. 1994; Izumi et al. 2003; Yamada et al. 1995).

In Studien mit einer Expositionsdauer von 5–14 Tagen betrug der NOAEL für die Spermienmotilität 1 mg/kg KG und Tag (Ban et al. 1999; Hoyt et al. 1994; Izumi et al. 2003; Yamada et al. 1995). In der einzigen Studie mit 28-tägiger Schlundsondengabe zeigten sich signifikante Effekte auf die Zahl und die Motilität der Spermien bereits ab 0,25 mg/kg KG und Tag (Kwack et al. 2004), was auf eine Zunahme der Effekte mit der Zeit hinweist.

Studien an Affen wurden mit höheren Dosierungen durchgeführt und führten zur Infertilität (Begründung 1991). Die Empfindlichkeit des Menschen ist nicht bekannt.

Eine reduzierte Spermienmotilität bei der Ratte ist ein früher Indikator für die bei höheren Dosierungen auftretende Infertilität. Im unteren Dosisbereich wirkt 3-Chlor-1,2-propandiol auf die Spermien über die Hemmung glykolytischer Enzyme wie im Abschnitt 2.3 beschrieben. Histologische Veränderungen im Spermatogenese-Zyklus werden erst ab höheren Dosierungen, die bereits die Fertilität beeinflussen, beobachtet (Begründung 1991).

Aus einer 28-Tage-Studie ergibt sich ein NOAEL für die spermatotoxische Wirkung bei Ratten von 0,05 mg/kg KG und Tag, abgeleitet aus der Studie von Kwack et al. (2004).

5.5.2 Entwicklungstoxizität

Bei Erstellung der Begründung 1991 lagen noch keine Studien zur Entwicklungstoxizität vor.

In einer Schlundsondenstudie mit 3-Chlor-1,2-propandiol wurden keine Effekte auf die Organogenese der Testes nach In-utero-Exposition berichtet. Am 11. bis 18. Tag der Trächtigkeit erhielten Gruppen von 5–6 weiblichen Sprague-Dawley-Ratten 0, 5, 10 oder 25 mg/kg KG und Tag. In Vorversuchen zu dieser Studie zeigte eine Dosis von 50 mg/kg KG und Tag maternal- und fetotoxische Effekte (k. w. A.). Eine signifikant reduzierte Körpergewichtsentwicklung der trächtigen Ratten wurde im Hauptversuch in der mittleren und hohen Dosisgruppe gemessen. Einen Tag nach der letzten Verabreichung wurden die trächtigen Ratten getötet, das Gewicht der Feten bestimmt und die fetalen Testes isoliert. Die Histopathologie der Testes, die Bestimmung der Testosteronkonzentration und auch die Untersuchung der Genexpression in den Testes ergaben keinen Unterschied zur Lösungsmittelkontrolle, obwohl 3-Chlor-1,2-propandiol nach-

weislich Plazenta-gängig ist. Sowohl im Gewebe der Feten als auch im Plasma der Muttertiere wurden ähnliche Konzentrationen des 3-Chlor-1,2-propandiols und des Metaboliten β -Chlorlactat gemessen (El Ramy et al. 2006). Die Untersuchungen beschränkten sich auf die Organogenese der Testes, viszerale und skeletale Missbildungen wurden nicht untersucht.

Jeweils 15 männliche Sprague-Dawley-Ratten erhielten mittels Schlundsonde 28 Tage lang 0; 0,01; 0,05; 0,25; 1 oder 5 mg/kg KG und Tag. Nach der Behandlung wurden die Tiere über Nacht mit unbehandelten weiblichen Ratten verpaart. Die trächtigen weiblichen Tiere wurden am 20. Trächtigkeitstag schnittentbunden. Es wurde die Zahl an Corpora lutea, Implantationen, Resorptionen und lebenden Feten bestimmt. Die Feten wurden nur auf externe Missbildungen untersucht. In der höchsten Dosisgruppe von 5 mg/kg KG und Tag waren nur zwei Würfe mit je einem Fetus vorhanden. In keiner Dosisgruppe wurden bei den Feten externe Missbildungen beobachtet (Kwack et al. 2004).

5.6 Genotoxizität

5.6.1 In vitro

Die Studien zur Genotoxizität von 3-Chlor-1,2-propandiol in vitro sind in Tabelle 1 dargestellt.

Genmutationstests an Hefezellen (*Schizosaccharomyces pombe*) waren mit und ohne Zusatz metabolischer Aktivierung positiv (Rossi et al. 1983). Ein Rec-Assay an *E. coli* war negativ (Silhánková et al. 1982).

In Mutagenitätstests mit *Salmonella typhimurium* liegen positive Ergebnisse an den Stämmen TA98, TA100 und TA1535 mit und ohne Zusatz metabolischer Aktivierung vor (Ohkubo et al. 1995; Silhánková et al. 1982; Stolzenberg und Hine 1979, 1980; Zeiger et al. 1988). An *Salmonella typhimurium* TA100 war der Metabolit Glycidol in seiner mutagenen Potenz deutlich stärker als 3-Chlor-1,2-propandiol selbst (Stolzenberg und Hine 1979).

Eine unzureichend beschriebene Untersuchung zur Inhibierung der DNA-Synthese in menschlichen HeLa-Zellen war negativ (Painter und Howard 1982).

Im Comet-Assay an CHO-Zellen ohne Zusatz metabolischer Aktivierung war 3-Chlor-1,2-propandiol positiv bei hohen Konzentrationen ab 2,5 mg/ml, die gleichzeitig zytotoxisch waren. In diesem Comet-Assay wurden keine DNA-Strangbrüche durch den Metaboliten β -Chlorlactat, wohl aber durch Glycidol induziert (signifikant ab 0,02 mg/ml), bei deutlich niedrigeren Konzentrationen als durch 3-Chlor-1,2-propandiol selbst (El Ramy et al. 2007).

In V79-Zellen induzierte 3-Chlor-1,2-propandiol mit und ohne Zusatz metabolischer Aktivierung Schwesterchromatidaustausch. Untersucht wurden Konzentrationen von 0,7 bis 2,8 mg/ml (k. w. A.; WHO 2002). Der Originalbericht des Fraunhofer-Instituts (ITEM, Hannover), das den Versuch durchführte, steht nicht mehr zur Verfügung.

Auch im HPRT-Test in V79-Zellen des Chinesischen Hamsters war 3-Chlor-1,2-propandiol ab 5,5 mg/ml mit und ohne Zusatz metabolischer Aktivierung schwach mutagen bei gleichzeitiger zytotoxischer Wirkung (k. w. A.; WHO 2002). Der Originalbericht des Fraunhofer-Instituts (ITEM, Hannover) steht nicht mehr zur Verfügung.

Tab. 1. Genotoxizität von 3-Chlor-1,2-propandiol in vitro

Endpunkt	Testsystem	Konzentration	wirksame Konzentration	zytotoxische Konzentration	Ergebnis -m. A. +m. A.	Literatur
Genmutation Adenin-Locus	Schizosaccharomyces pombe	11–33 mg/ml (100–300 mM)	-m. A.: 11 mg/ml (100 mM) +m. A.: 33 mg/ml (300 mM)	-m. A.: 22 mg/ml (200 mM) +m. A.: 11 mg/ml (100 mM)	+ +	Rossi et al. 1983
Rec-assay	E. coli WP2, TM930, TM1080	0,22; 2,2; 22 mg/Platte	-	-	-	Silhánková et al. 1982
Genmutation	S. typhimurium TA1535	0,22–22 mg/Platte	1,1 mg/Platte	22 mg/Platte	+ +	Silhánková et al. 1982
Genmutation	S. typhimurium TA98, TA1537, TA1538	n. a.	-	n. a.	-	Silhánková et al. 1982
Genmutation	S. typhimurium TA100	22, 55, 110 mg/Platte	22 mg/Platte	n. a.	+ +	Stolzenberg und Hine 1979
Genmutation	S. typhimurium TA1535	11, 110 mg/Platte	110 mg/Platte	n. a.	+ +	Stolzenberg und Hine 1979
Genmutation	S. typhimurium TA100	n. a.	-	n. a.	n. a.	Majeska und Matheson 1983
Genmutation	S. typhimurium TA100	1, 1; 11; 110 mg/Platte	110 mg/Platte	n. a.	+ +	Stolzenberg und Hine 1980
Genmutation	S. typhimurium TA97, TA98, TA100, TA1535	0,1–10 mg/Platte	-m. A.: 1 mg/Platte +m. A.: 0,3 mg/Platte	-m. A.: 10 mg/Platte +m. A.: -	+ +	Zeiger et al. 1988
Genmutation	S. typhimurium TA98, TA100	0,1–1,25 mg/Platte	0,6 mg/Platte	n. a.	+ -	Ohkubo et al. 1995
Genmutation	S. typhimurium TM677	0,01–0,1 mg/Platte	0,05 mg/Platte	n. a.	+ -	Ohkubo et al. 1995
Hemmung der DNA-Synthese	humane HeLa-Zellen	n. a.	-	n. a.	-	Painter und Howard 1982
SCE	V79-Zellen des Chinesischen Hamsters	0,7–2,8 mg/ml (6,4–25,5 mM)	n. a.	n. a.	+ +	WHO 2002

Tab. 1. Fortsetzung

Endpunkt	Testsystem	Konzentration	wirksame Konzentration	zytotoxische Konzentration	Ergebnis -m. A. +m. A.	Literatur
Comet Assay	CHO-K1-Zellen	0,5–5 mg/ml (4,5–45 mM)	2,5 mg/ml (22,7 mM)	2,5 mg/ml (22,7 mM)	+ n. a.	El Ramy et al. 2007
Genmutation HPRT-Locus	V79-Zellen des Chinesi- schen Hamsters	0,033–7,7 mg/ml (0,3–70 mM)	5,5 mg/ml (50 mM)	5,5 mg/ml (50 mM)	+ +	WHO 2002
Genmutation TK ⁺ -Locus	Mauslymphom-Zellen	2–9 mg/ml (18–82 mM)	n. a.	n. a.	- +	WHO 2002

n. a.: nicht angegeben; –/+ m. A.: ohne bzw. mit Zusatz metabolischer Aktivierung; SCE: Schwesterchromatidaustausch

26 3-Chlor-1,2-propandiol

Im TK[±]-Mutationstest mit L5178Y-Mauslymphomzellen war 3-Chlor-1,2-propandiol nur mit metabolischer Aktivierung, nicht aber ohne metabolische Aktivierung genotoxisch (k. w. A; WHO 2002). Der Originalbericht steht nicht zur Verfügung.

Zusammenfassung

In vitro ist 3-Chlor-1,2-propandiol mutagen an Bakterien und Hefezellen. An Säugierzellen liegt nur der Comet-Assay als ausführlicher Bericht vor. Hier werden DNA-Strangbrüche nur bei zytotoxischen Konzentrationen beobachtet. Die anderen Untersuchungen an Säugierzellen sind aufgrund unzureichender Dokumentation nicht verwertbar. Dennoch weisen die hohen Testkonzentrationen darauf hin, dass die positiven Ergebnisse vermutlich bei zytotoxischen Konzentrationen auftreten.

Es liegen Hinweise vor, dass der Metabolit Glycidol für die genotoxische Wirkung verantwortlich ist (Lynch et al. 1998).

Insgesamt deuten die vorliegenden Daten darauf hin, dass in vitro die genotoxische Wirkung in Säugierzellen erst bei höheren Konzentrationen auftritt (siehe Diskussion im Abschnitt 2.6).

5.6.2 In vivo

Die Studien zur Genotoxizität von 3-Chlor-1,2-propandiol in vivo sind in Tabelle 2 dargestellt.

Tab. 2. In-vivo-Studien mit 3-Chlor-1,2-propandiol zur Genotoxizität

Testsystem	Spezies/Stamm, Tierzahl, Geschlecht	Dosis	Ergebnis	Literatur
Somazellen				
SMART	Drosophila melanogaster, 23–240 Tiere	48 h, Fütterung der Larven mit 0, 5, 10 mM (toxisch bei ≥ 10 mM)	–	Frei und Würgler 1997
Comet-Assay, Niere, Testes, Leber, Knochenmark, Leukozyten	Ratte, Sprague-Dawley, je 5 ♂	zweimalig, oral, 0, 25, 60 mg/kg KG	–	El Ramy et al. 2007
Comet-Assay, Testes, Leukozyten	Ratte, F344, je 4 ♂	zweimalig, oral, 0, 60 mg/kg KG	–	El Ramy et al. 2007
UDS, Leber (OECD-Prüfrichtlinie 486)	Ratte, Wistar, je 4 ♂	einmalig, oral, 0, 40, 100 mg/kg KG und Tag	–	Robjohns et al. 2003
MN, Knochenmark (OECD-Prüfrichtlinie 474)	Ratte, Wistar, je 6 ♂	zweimalig, oral, 0, 15, 30, 60 mg/kg KG und Tag	–	Robjohns et al. 2003

Tab. 2. Fortsetzung

Testsystem	Spezies/Stamm, Tierzahl, Geschlecht	Dosis	Ergebnis	Literatur
MN, Knochenmark	Maus, OF1, je 5 ♂/♀	einmalig, oral, 40–120 mg/kg KG Probenahme nach 24 h; einmalig, oral, 120 mg/kg KG Probenahme nach 24, 48, 72 h	–	Nestlé 1989 b
MN, Colon	Maus, OF1, je 5 ♂/♀	einmalig, oral, 40–120 mg/kg KG Probenahme nach 24 h; einmalig, oral, 120 mg/kg KG Probenahme nach 24, 48, 72 h	–	Nestlé 1989 b
Keimzellen				
DLT	Ratte, ♂, k. w. A.	5 Tage, oral, 0, 5, 10 mg/kg KG und Tag (reversible Sterilität)	–	Jones et al. 1969
DLT	Ratte, Wistar, je 5 ♂	5 Tage, oral, 0, 5, 10, 20 mg/kg KG und Tag (reversible Sterilität ab 10 mg/kg KG und Tag)	–	Jones und Jackson 1976
DLT	Maus, ICR/Ha Swiss, je 10 ♂	5 Tage, oral, 0, 20 mg/kg KG und Tag (keine letale Wirkung)	–	Epstein et al. 1972
DLT	Maus, ICR/Ha Swiss, je 10 ♂	einmalig, i. p., 0, 125 mg/kg KG (keine letale Wirkung)	–	Epstein et al. 1972

DLT: Dominant-Letal-Test; MN: Mikronucleustest; SMART: Test auf somatische Mutationen und Rekombinationen; UDS: Test auf DNA-Reparatursynthese

Somazellen

In einem Test auf somatische Mutationen und Rekombinationen (SMART) in *Drosophila melanogaster* wurde bei Fütterung bis zur toxischen Dosis kein mutagener Effekt beobachtet (Frei und Würgler 1997).

In einem Comet-Assay zum Nachweis von DNA-Strangbrüchen wurden jeweils fünf männliche Sprague-Dawley-Ratten oral mit 0, 25 oder 60 mg/kg KG behandelt. Die Applikation erfolgte zweimalig 24 und drei Stunden vor der Probenentnahme. Die Positivkontrollen erhielten einmalig 110 mg/kg KG Methylmethansulfonat. 3-Chlor-1,2-propandiol induzierte keine DNA-Strangbrüche in isolierten Zellen von Nieren, Testes, Leber, Knochenmark oder Blut (Leukozyten) im Gegensatz zur Positivkontrolle. Das Körpergewicht der Tiere der höchsten Dosisgruppe war leicht vermindert. Die histopa-

28 3-Chlor-1,2-propandiol

thologische Untersuchung zeigte eine erhöhte Mitoserate und einen leichten Abfall des Glykogenstatus in der Leber. In einem identischen Versuchsansatz mit männlichen F344-Ratten wurden Hodenzellen (nicht spezifiziert) und Leukozyten untersucht. Auch hier trat keine erhöhte Inzidenz an DNA-Strangbrüchen auf (El Ramy et al. 2007).

In einem Test auf DNA-Reparatursynthese an der Leber nach OECD-Prüfrichtlinie 486 erhielten jeweils vier männliche Ratten pro Dosisgruppe mit der Schlundsonde einmalig 0, 40 oder 100 mg/kg KG in wässriger Lösung. Die Probenentnahme erfolgte 2–4 Stunden nach der Applikation (Positivkontrolle 10 mg Dimethylnitrosamin/kg KG) oder nach 12–14 Stunden (Positivkontrolle 75 mg Acetaminofluoren/kg KG). Die Behandlung mit 3-Chlor-1,2-propandiol führte nicht zu einer Induktion der DNA-Reparatursynthese. Die Positivkontrollen zeigten ein funktionierendes Testsystem an. Auch hier waren im Gegensatz zu den Vorversuchen zur Dosisfindung im Hauptversuch klinische Symptome nur begrenzt vorhanden (Robjohns et al. 2003).

Ein Mikronukleustest an männlichen Ratten wurde nach OECD-Prüfrichtlinie 474 mit zweimaliger oraler Gabe von 0, 15, 30 oder 60 mg 3-Chlor-1,2-propandiol/kg KG in wässriger Lösung mittels Schlundsonde im Abstand von 24 Stunden durchgeführt. Die Probenentnahme erfolgte 24 Stunden nach der letzten Applikation. Die Behandlung führte nicht zu einer erhöhten Inzidenz an Mikronuklei. Die Positivkontrolle (einmalig oral 40 mg Cyclophosphamid/kg KG) zeigte ein funktionierendes Testsystem. Das dosisabhängig verminderte Verhältnis polychromatischer zu normochromatischen Erythrozyten (PCE/NCE) deutet auf einen behandlungsbedingten zytotoxischen Effekt im Knochenmark hin. Im Gegensatz zu den Vorversuchen zur Dosisfindung waren im Hauptversuch klinische Symptome nur begrenzt vorhanden (Robjohns et al. 2003).

Ein weiterer Mikronukleustest an jeweils fünf männlichen und fünf weiblichen OF1-Mäusen pro Dosisgruppe mit einmaliger oraler Gabe von 0, 40, 80 oder 120 mg 3-Chlor-1,2-propandiol/kg KG und einer Untersuchung 24 Stunden nach der Substanzgabe führte nicht zu einer erhöhten Anzahl an Mikronuklei im Knochenmark oder im Colon. In einer zweiten Untersuchung wurde die Zeitabhängigkeit mit einer Probenahme 24, 48 oder 72 Stunden nach der Verabreichung von einmalig 120 mg 3-Chlor-1,2-propandiol/kg KG geprüft. Auch dieser Versuch führte nicht zu einer erhöhten Anzahl an Mikronuklei im Knochenmark oder im Colon. Eine Veränderung des Verhältnisses von PCE/NCE trat nicht auf (Nestlé 1989 b).

Keimzellen

Es liegen zwei negative Dominant-Letal-Tests an der Ratte mit fünftägiger oraler Gabe von bis zu 20 mg 3-Chlor-1,2-propandiol/kg KG und Tag vor (Jones et al. 1969; Jones und Jackson 1976).

Auch zwei Dominant-Letal-Tests an der Maus mit fünftägiger oraler Gabe von bis zu 20 mg/kg KG und Tag oder einmaliger intraperitonealer Gabe von 125 mg/kg KG und Tag zeigten keine genotoxischen Effekte auf die Keimzellen (Epstein et al. 1972).

Zusammenfassung

3-Chlor-1,2-propandiol war weder im Mikronukleustest am Knochenmark der männlichen Ratte oder der Maus bzw. im Colon der Maus noch in einem Test auf DNA-Reparatursynthese an der Rattenleber oder im Comet-Assay an Leber, Nieren, Testes, Knochenmark oder Blut (Leukozyten) von Ratten genotoxisch.

Es liegen zwei negative Dominant-Letal-Tests mit oraler Gabe an der Ratte vor sowie jeweils ein negativer Test an der Maus mit oraler bzw. intraperitonealer Gabe.

In den vorliegenden In-vivo-Genotoxizitätstests zeigt 3-Chlor-1,2-propandiol im Gegensatz zu den In-vitro-Studien keine genotoxische Wirkung, weder an Soma- noch an Keimzellen (siehe auch Abschnitt 2.6).

5.7 Kanzerogenität

5.7.1 Kurzzeitstudien

In einem Zelltransformationstest mit M2-Maus-Fibroblasten induzierte 3-Chlor-1,2-propandiol nach 24-stündiger Exposition gegen 0,25 mg/ml (2,3 mM) ohne Zugabe eines Metabolisierungssystems und einer anschließenden achtwöchigen Kultivierung einen Anstieg der Zelltransformation. Zytotoxische Effekte traten ab 1 mg/ml (9,1 mM) auf; ab dieser Konzentration war die Zelltransformationsrate reduziert (Piasecki et al. 1990).

5.7.2 Langzeitstudien

Die Studien zur Kanzerogenität (siehe auch Begründung 1991), in denen erhöhte Tumorzinidenzen beobachtet wurden, sind in Tabelle 3 dargestellt.

Maus

An 50 weiblichen ICR/Ha Swiss-Mäusen wurde die kanzerogene Wirkung nach dermalen Applikation geprüft. Die Tiere erhielten 83 Wochen lang, dreimal wöchentlich 2 mg 3-Chlor-1,2-propandiol in 0,1 ml Aceton. In der Kontrollgruppe wurden 50 weibliche Mäuse mit dem Lösungsmittel behandelt. Die Behandlung mit 3-Chlor-1,2-propandiol induzierte keine Papillome oder Karzinome an der Haut. Die mittlere Lebensdauer betrug bei den behandelten Tieren 542 Tage, bei den Kontrolltieren waren es 543 Tage (Van Duuren et al. 1974).

In weiteren Studien derselben Arbeitsgruppe erhielten 50 weibliche ICR/Ha Swiss-Mäuse 83 Wochen lang, einmal wöchentlich subkutan 1 mg 3-Chlor-1,2-propandiol in 0,05 ml Tricaprylin. In der Kontrollgruppe wurde 50 Tieren das Lösungsmittel injiziert. Die mittlere Lebensdauer der behandelten Tiere betrug 487 Tage, in der Kontrolle waren es 493 Tage. Sowohl in der Behandlungs- als auch in der Kontrollgruppe wurde jeweils ein lokales Sarkom beobachtet (Van Duuren et al. 1974).

Eine Kanzerogenitätsstudie nach OECD-Prüfrichtlinie 451 wurde mit jeweils 50 männlichen und 50 weiblichen B6C3F1-Mäusen pro Dosisgruppe durchgeführt, denen 104 Wochen lang 0, 30, 100 oder 300/200 mg 3-Chlor-1,2-propandiol (Reinheitsgrad 98%)/l mit dem Trinkwasser verabreicht wurde. In der hohen Dosisgruppe wurde aufgrund der stark reduzierten Körpergewichtszunahme der Tiere die Dosis von 300 mg/l nach 100 Tagen Exposition auf 200 mg/l abgesenkt. Die Aufnahme betrug 0; 4,2; 14,3 bzw. durchschnittlich 33 mg 3-Chlor-1,2-propandiol/kg KG und Tag für männliche und 0; 3,7; 12,2 bzw. durchschnittlich 31 mg/kg KG und Tag für weibliche Tiere. Die Prüfung der Substanzstabilität weist Mängel auf, da die Stabilität nur bei drei Stunden alten Proben untersucht wurde, während das Trinkwasser alle drei Tage gewechselt wurde. Die Stabilität von 3-Chlor-1,2-propandiol im Trinkwasser wurde jedoch in anderen Kanzerogenitätsstudien nachgewiesen (Nestlé 1993). Die Überlebensrate nach

30 3-Chlor-1,2-propandiol

104 Wochen betrug 80% bei männlichen und 72% bei weiblichen Mäusen. In der hohen Dosisgruppe waren bei beiden Geschlechtern Futter- und Wasseraufnahme sowie Körpergewichtszunahme signifikant reduziert. Die histopathologische Untersuchung ergab keine Hinweise auf behandlungsbedingte Tumoren (Jeong et al. 2010).

Ratte

Jeweils 26 männliche und 26 weibliche CD-Ratten erhielten zweimal wöchentlich mittels Schlundsonde 3-Chlor-1,2-propandiol (Reinheitsgrad 95%) in wässriger Lösung in Dosierungen von 0, 30 oder 60 mg/kg KG. Die Kontrollgruppe bestand aus jeweils 20 männlichen bzw. weiblichen Ratten. Nach zehnwöchiger Exposition wurde die Dosis auf 35 bzw. 70 mg/kg KG und Tag erhöht. Die Behandlungsdauer betrug insgesamt 72 Wochen, die Nachbeobachtungszeit 32 Wochen. Nach 52-wöchiger Behandlung war die Überlebensrate in allen Gruppen bei 100%, am Ende des Versuchs war die Mortalitätsrate bei den männlichen Tieren signifikant erhöht (k. A. zur Dosis). In der hohen Dosisgruppe trat bei beiden Geschlechtern eine reduzierte Körpergewichtsentwicklung auf. Bei allen behandelten männlichen Tieren zeigten sich Effekte auf die Testes (siehe Abschnitt 5.2.2). Drei männliche Tiere der hohen Dosisgruppe hatten Adenome der Nebenschilddrüse (nicht signifikant). In der mitlaufenden Kontrolle wurden keine Nebenschilddrüsen-Adenome beobachtet. In parallelen Kontrollgruppen anderer Studien wurde bei 184 untersuchten männlichen Ratten ein Adenom der Nebenschilddrüse berichtet. Bei weiblichen Ratten traten keine substanzbedingten Tumoren auf (Weisburger et al. 1981).

In einer Trinkwasserstudie nach OECD-Prüfrichtlinie 451 wurden jeweils 50 männliche und 50 weibliche Sprague-Dawley-Ratten gegen 0, 25, 100 oder 400 mg/l exponiert (entsprechend 0; 2,0; 8,3 oder 29,5 mg 3-Chlor-1,2-propandiol/kg KG und Tag bei den männlichen und 0; 2,7; 10,3 oder 37,0 mg/kg KG und Tag bei den weiblichen Ratten). Nach einer Expositionsdauer von 100 Wochen wurde der Versuch aufgrund der niedrigen Überlebensrate (siehe Tabelle 3) beendet. Die Autoren der Studie begründen die

Tab. 3. Studien zur Kanzerogenität von 3-Chlor-1,2-propandiol nach oraler Applikation

Autor:	Cho et al. 2008 b				
Stoff:	3-Chlor-1,2-propandiol (98% rein)				
Spezies:	Ratte , Sprague Dawley, je 50 ♂, ♀				
Applikation:	Trinkwasser, ad libitum				
Konzentration:	0, 25, 100, 400 mg/l (♂: 0; 2,0; 8,3 29,5 mg/kg KG und Tag, ♀: 0; 2,7; 10,3 oder 37,0 mg/kg KG und Tag)				
Dauer:	100 Wochen				
Toxizität:	ab 2 mg/kg KG: ♂: Nephropathie, Atrophie u. Arteriitis der Testes; ab 10,3 mg/kg KG: ♂/♀: KG-Zunahme ↓; ♀: Nephropathie; ab 29,5 mg/kg KG: ♂/♀: Trinkwasserverbrauch ↓				
		Expositionskonzentration (mg/l Trinkwasser)			
		0	25	100	400
Überlebende	♂	14	17	9	13
	♀	15	22	11	16

Tab. 3. Fortsetzung

Tumoren und Präneoplasien

Niere

tubuläre Hyperplasien	♂	1/50 (2%)	11/50 (22%)*	21/50 (42%)*	36/50 (72%)*
	♀	1/50 (2%)	0/50 (0%)	1/50 (2%)	10/50 (20%)*
tubuläre Adenome	♂	0/50 (0%)	0/50 (0%)	1/50 (2%)	4/50 (8%)
	♀	0/50 (0%)	0/50 (0%)	1/50 (2%)	6/50 (12%)*
tubuläre Karzinome	♂	0/50 (0%) ^{a)}	0/50 (0%)	0/50 (0%)	5/50 (10%)*
	♀	1/50 (2%) ^{b)}	0/50 (0%)	1/50 (2%)	3/50 (6%)
tubuläre Adenome u. Karzinome	♂	0/50 (0%)	0/50 (0%)	1/50 (2%)	7/50 (14%)*
	♀	1/50 (2%)	0/50 (0%)	2/50 (4%)	9/50 (18%)*

Testes

Leydigzell-Tumoren	♂	1/50 (2%)	1/50 (2%)	4/50 (8%)	14/50 (28%)*
--------------------	---	-----------	------------	------------	--------------

* p<0,05, Poly-3 Test;

^{a)} in historischen Kontrollen 1,43–4,00% (n=1531)

^{b)} in historischen Kontrollen 0,77–1,85% (n=1729)

Autor:	Nestlé 1993
Stoff:	3-Chlor-1,2-propandiol (98% rein)
Spezies:	Ratte , F344, je 50 ♂, ♀
Applikation:	Trinkwasser, ad libitum
Konzentration:	2,7 (Kontrolle ^{a)}), 20, 100, 500 mg/l (♂: 0,15; 1,1; 5,2; 28 mg/kg KG und Tag, ♀: 0,19; 1,4; 7,0 35 mg/kg KG und Tag)
Dauer:	2 Jahre
Toxizität:	ab 5,2/7,0 mg/kg KG: ♂/♀: KG-Zunahme ↓, chronischen Nephropathie ↑

		Expositionskonzentration (mg/l Trinkwasser)			
		Kontrolle ^{a)}	20	100	500
Überlebende	♂	24	30	28	21
	♀	33	29	30	30

Tumoren und Präneoplasien

Nieren

tubuläre Hyperplasien	♂	3/50 (6%)	6/50 (12%)	15/50 (30%)**	34/50 (68%)*
	♀	2/50 (4%)	4/50 (8%)	20/50 (40%)*	31/50 (62%)*
tubuläre Adenome	♂	0/50 (0%)	0/50 (0%)	1/50 (2%)	5/50 (10%)*
	♀	0/50 (0%)	1/50 (2%)	0/50 (0%)	9/50 (18%)*

Brustdrüse

glanduläre Hyperplasien	♂	2/45 (4%)	6/48 (12%)	24/47 (51%)*	43/49 (88%)*
Fibroadenome	♂	0/45 (0%)	0/48 (0%)	2/47 (4%)	10/49 (20%)*



32 3-Chlor-1,2-propandiol

Tab. 3. Fortsetzung

Adenome	♂	0/45 (0%)	0/48 (0%)	1/47 (2%)	1/49 (2%)
Adenokarzinome	♂	0/45 (0%)	0/48 (0%)	1/47 (2%)	1/49 (2%)
Testes					
Leydigzell-Hyperplasien	♂	39/50 (78%)	27/50 (54%)*	4/50 (8%)*	0/50 (0%)*
Leydigzell-Adenome	♂	38/50 (76%)	43/50 (86%)	50/50 (100%)*	47/50 (94%)*
Leydigzell-Karzinome	♂	0/50 (0%)	0/50 (0%)	0/50 (0%)	3/50 (6%)
Präputialdrüse					
Adenome	♂	1/50 (2%)	2/50 (4%)	6/50 (12%)	5/50 (10%)
Karzinome	♂	0/50 (0%)	0/50 (0%)	1/50 (2%)	2/50 (4%)

* p≤0,05; ** p≤0,01; *** p<0,001; * Fisher-Exact-Test

^{a)} Das Trinkwasser der Kontrolle enthielt durchschnittlich 2,7 mg/l 3-Chlor-1,2-propandiol, entsprechend einer täglichen Aufnahme von 0,15 mg/kg KG für ♂ und 0,19 mg/kg KG für ♀ Tiere

hohe Sterblichkeit der Kontroll- und Versuchstiere mit einer erhöhten Inzidenz der Hypophysenadenome bei den männlichen Tieren (25/50, 26/50, 24/50, 13/50 bei 0; 2,0; 8,3 bzw. 29,5 mg/kg KG und Tag; jedoch keine Tumoren bei den weiblichen Ratten). Körpergewichtszunahme und Wasseraufnahme waren in der hohen Dosisgruppe bei beiden Geschlechtern signifikant vermindert. Tubuläre Hyperplasien der Nieren traten bei den männlichen Tieren bereits ab der niedrigsten Dosis signifikant häufiger auf als in der Kontrollgruppe, der Effekt war dosisabhängig. Bei den weiblichen Ratten wurde dieser Effekt nur in der hohen Dosisgruppe beobachtet. Die Inzidenz der tubulären Adenome der Nieren war in der hohen Dosisgruppe erhöht, statistisch signifikant jedoch nur bei den weiblichen Tieren. Die männlichen Ratten der hohen Dosisgruppe zeigten eine signifikant erhöhte Inzidenz tubulärer Karzinome. Werden tubuläre Adenome und Karzinome gemeinsam bewertet, ergibt sich ein statistisch signifikanter Effekt bei beiden Geschlechtern in der hohen Dosisgruppe. Erste tubuläre Adenome traten nach 78 Wochen und tubuläre Karzinome nach 74 Wochen auf. Die Autoren der Studie sehen eine Progression der Nephropathie durch 3-Chlor-1,2-propandiol mit nachfolgender tubulärer Hyperplasie und letztendlich einer Bildung tubulärer Adenome und Karzinome. Eine chronisch progressive Nephropathie trat bei den männlichen Tieren ab der niedrigen Dosis, bei den weiblichen Ratten ab der mittleren Dosis auf. Als Wirkungsmechanismus diskutieren die Autoren eine Inhibierung der Glykolyse und nachfolgende Beeinträchtigung des Energiehaushaltes durch den Metaboliten β -Chlorlactat (siehe Abschnitt 2.1). Ab 2 mg/kg KG und Tag wurden bei den männlichen Ratten statistisch signifikant erhöhte Inzidenzen an Atrophien und Arteriitis der Testes, ab 29,5 mg/kg KG und Tag an Leydigzell-Tumoren (keine Angabe, ob Adenome oder Karzinome) festgestellt. Leydigzell-Hyperplasien wurden im Gegensatz zur Studie mit F344-Ratten nicht beobachtet. Das Auftreten von Leydigzell-Tumoren sehen die Autoren (Cho et al. 2008 b) nicht als Folge einer hormonellen Störung, diskutieren aber auch keinen anderen möglichen Wirkungsmechanismus. Aufgrund der hohen Mortalität war die Behandlungsdauer für die Entwicklung von Nierentumoren möglicherweise zu kurz. Daher ist die Validität der Studie stark eingeschränkt. Jedoch zeigen die Ergebnisse eine gute

Übereinstimmung mit den Befunden aus der Studie an F344-Ratten (Nestlé 1993), das heißt, es zeigten sich Tumoren in identischen Zielorganen.

In einer weiteren Kanzerogenitätsstudie erhielten jeweils 50 männliche und 50 weibliche F344-Ratten 104 Wochen lang Trinkwasser mit einer 3-Chlor-1,2-propandiol-Konzentration von 2,7 (Kontrolle), 20, 100, oder 500 mg/l (entsprechend 0,15; 1,1; 5,2 bzw. 28 mg/kg KG und Tag bei männlichen und 0,19; 1,4; 7,0 bzw. 35 mg/kg KG und Tag bei weiblichen Ratten). Der Grund für die Verwendung von Trinkwasser mit 2,7 mg 3-Chlor-1,2-propandiol/l für die Kontrolltiere wurde von den Autoren nicht angegeben. Die Überlebensrate war im Vergleich zu den Kontrolltieren unverändert. Bei den Tieren der hohen Dosisgruppe waren Futter- und Wasseraufnahme vermindert, die Körpergewichtszunahme bereits ab der ersten Woche. Am Ende der Studie war die Körpergewichtszunahme ab der mittleren Dosisgruppe reduziert, was zum Teil auf die verminderte Futter- und Wasseraufnahme zurückgeführt wurde. In den Nieren männlicher und weiblicher Tiere trat dosisabhängig und statistisch signifikant ab der mittleren Dosis eine erhöhte Inzidenz präneoplastischer tubulärer Hyperplasien auf. In der hohen Dosisgruppe wurde bei beiden Geschlechtern eine signifikant erhöhte Inzidenz tubulärer Adenome beobachtet. Diese Effekte auf die Nieren korrelieren mit einer verstärkten chronisch progressiven Nephropathie (siehe auch Abschnitt 5.2.2). Leydigzell-Karzinome wurden in der hohen Dosisgruppe bei drei von 50 Tieren (nicht statistisch signifikant) beobachtet; Leydigzell-Adenome waren ab der mittleren Dosis statistisch signifikant vermehrt, während gleichzeitig die Häufigkeit der Leydigzell-Hyperplasien abnahm. Die Autoren weisen auf die hohe Spontanrate der Leydigzell-Tumoren bei F344-Ratten hin. Im Brustdrüsengewebe männlicher Ratten war ab der mittleren Dosis die Inzidenz glandulärer Hyperplasien, in der hohen Dosisgruppe die Inzidenz der Fibroadenome erhöht, was die Autoren als sekundären Effekt durch die hormonelle Aktivität der Leydigzell-Tumoren ansehen (Nestlé 1993).

Zusammenfassung

In vitro führte 3-Chlor-1,2-propandiol zu Zelltransformationen bei Maus-Fibroblasten. Untersuchungen an Mäusen mit dermalen oder subkutanen Gaben von 3-Chlor-1,2-propandiol ergaben keine Hinweise auf eine kanzerogene Wirkung, sind jedoch nicht nach heutigen Standards durchgeführt worden (Van Duuren et al. 1974). Eine dritte Studie an Mäusen nach OECD-Prüfrichtlinie 451 mit Trinkwassergabe gibt ebenfalls keinen Hinweis auf ein tumorinduzierendes Potenzial von 3-Chlor-1,2-propandiol (Jeong et al. 2010).

In einer Schlundsondenstudie an Ratten, die nicht heutigen Anforderungen entspricht, wurde von einer nicht statistisch signifikant erhöhten Inzidenz der Adenome in der Nebenschilddrüse der männlichen Tiere berichtet (Weisburger et al. 1981). Zudem liegen zwei Trinkwasserstudien an Sprague-Dawley- (Cho et al. 2008 b) und F344-Ratten (Nestlé 1993) vor. Bei männlichen und weiblichen Sprague-Dawley-Ratten traten bei der höchsten Dosis von 29,5 bzw. 37 mg/kg KG und Tag vermehrt tubuläre Adenome und Karzinome der Nieren auf. Tubuläre Hyperplasien der Nieren wurden bei männlichen Sprague-Dawley-Ratten bereits ab der niedrigsten Dosis von 2 mg/kg KG und Tag beobachtet. Bei F344-Ratten kam es ebenfalls in der höchsten Dosisgruppe bei 28 bzw. 35 mg/kg KG und Tag bei männlichen und weiblichen Tieren zu einer statistisch signifikant erhöhten Inzidenz tubulärer Adenome der Nieren, jedoch nicht zu Karzinomen. Auch hier waren bei niedrigeren Dosierungen tubuläre Hyperplasien zu beobachten.

34 3-Chlor-1,2-propandiol

Bei Sprague-Dawley-Ratten war bei 29,5 mg/kg KG und Tag die Inzidenz der Leydigzell-Tumoren (Tumortyp nicht spezifiziert) statistisch signifikant erhöht, bei F344-Ratten war die Inzidenz von Leydigzell-Adenomen ab 5,2 mg/kg KG und Tag signifikant und die der Leydigzell-Karzinome bei 28 mg/kg KG und Tag nicht statistisch signifikant erhöht. Bei männlichen F344-Ratten wurde zudem die Bildung glandulärer Hyperplasien und Fibroadenome des Brustdrüsengewebes beobachtet, nicht jedoch bei Sprague-Dawley-Ratten.

Diese Studien zeigen, dass Tumoren ausschließlich bei Ratten entstehen, also der Spezies, deren Nieren und Testes eine erhöhte Empfindlichkeit aufweisen. Auch die fehlende genotoxische Wirkung in Nieren und Testes unterstützt die Einschätzung, dass für die in Langzeitstudien an Ratten beobachteten erhöhten Tumorzinzenzen eine nicht-lineare Dosis-Wirkungs-Beziehung angenommen werden kann. Wie im Abschnitt 2.7 dargestellt, können die Tumoren mit nicht-genotoxischen Entstehungsmechanismen erklärt werden.

Die Leydigzell-Tumoren und die Tumoren des Brustdrüsengewebes sind speziesspezifisch für die Ratte und für die Bewertung der kanzerogenen Wirkung von 3-Chlor-1,2-propandiol beim Menschen nicht relevant.

Für die Entstehung der Nierentumoren der Ratte werden Störungen des Energiestoffwechsels und Effekte auf das Immunsystem diskutiert, die zu einer verstärkten chronischen Nephropathie führen könnten. Die Nieren des Menschen sind wie die der Maus nicht durch eine chronische Nephropathie vorgeschädigt. Somit ist zu vermuten, dass die nierentoxische Wirkung des 3-Chlor-1,2-propandiol beim Menschen nicht zu Tumoren führt. Jedoch ist nicht klar, inwieweit die Störung des Energiehaushaltes und des Immunsystems auch beim Menschen zur Tumorentstehung beiträgt. Auch liegen keine quantitativen Angaben zur Verteilung und zum Stoffwechsel von 3-Chlor-1,2-propandiol beim Menschen vor. Da der Wirkungsmechanismus nicht abschließend geklärt ist, kann eine mögliche kanzerogene Wirkung beim Menschen nicht ausgeschlossen werden.

6 Bewertung

Kritische Effekte von 3-Chlor-1,2-propandiol sind die Spermientoxizität und ein Verdacht auf eine kanzerogene Wirkung.

MAK-Wert. Aus einer chronischen Trinkwasserstudie an Sprague-Dawley-Ratten resultiert eine BMDL05 von 0,41 mg/kg KG und Tag; ab 2 mg/kg KG und Tag traten tubuläre Hyperplasien der Nieren, erhöhte Inzidenzen der chronischen Nephropathie sowie Atrophie und Arteriitis der Testes auf (Cho et al. 2008 b). Der NOAEL in einer chronischen Trinkwasserstudie mit B6C3F1-Mäusen betrug 3,7 mg/kg KG und Tag. Ab 12,2 mg/kg KG und Tag kam es zu hämatologischen und klinisch-chemischen Effekten (Jeong et al. 2010).

Beim Schwein lag der LOAEL für fertilitätsschädigende Wirkung nach einer fünftägigen Exposition bei 1 mg/kg KG und Tag; ein NOAEL konnte nicht abgeleitet werden (Begründung 1991). Bei männlichen Ratten verursachte die 14-tägige orale Verabrei-

chung von 1 mg/kg KG und Tag keine Beeinträchtigung der Fertilität; der LOAEL betrug 3 oder 5 mg/kg KG und Tag, was jeweils die nächsthöhere getestete Dosis war (Ban et al. 1999; Begründung 1991; Hoyt et al. 1994; Izumi et al. 2003; Yamada et al. 1995). Für die Spermienmotilität betrug der NOAEL in Studien mit einer Expositionsdauer von 5–14 Tagen ebenfalls 1 mg/kg KG und Tag (Ban et al. 1999; Hoyt et al. 1994; Izumi et al. 2003; Yamada et al. 1995). In der einzigen Studie mit 28-tägiger täglicher Schlundsondengabe zeigten sich signifikante Effekte auf Zahl und Motilität der Spermien bereits ab 0,25 mg/kg KG und Tag (Kwack et al. 2004), was auf eine mit der Zeit zunehmende Spermatotoxizität hinweist. Der NOAEL für spermatotoxische Effekte betrug demnach 0,05 mg/kg KG und Tag (Kwack et al. 2004) und liegt unter den NOAEL bzw. der BMDL05 der Untersuchungen mit wiederholter oraler Gabe an Ratten und Mäusen. Bei dieser Dosierung ist auch die Entgiftung des genotoxischen Metaboliten Glycidol gewährleistet.

Da in der 14-tägigen Inhalationsstudie an Ratten (Solvay America 1995) bei 18 ml/m³ keine Reizwirkung auftrat, kann ein MAK-Wert aus dem niedrigsten systemischen NOAEL (0,05 mg/kg KG und Tag) einer oralen Studie abgeleitet werden. Die orale Resorption wird mit 100% angenommen. Zur toxikokinetischen Übertragung dieses NOAEL in eine Konzentration in der Luft am Arbeitsplatz werden berücksichtigt: die tägliche Exposition der Tiere im Vergleich zur fünftägigen Exposition pro Woche am Arbeitsplatz (7:5), der dem toxikokinetischen Unterschied zwischen der Ratte und dem Menschen entsprechende speziesspezifische Korrekturfaktor (1:4), die angenommene orale Resorption (100%), das Körpergewicht (70 kg) und das Atemvolumen (10 m³) des Menschen sowie die angenommene 100%ige inhalative Resorption. Damit errechnet sich eine entsprechende Konzentration von 0,12 mg/m³ (0,027 ml/m³). Da die Spermientoxizität zwischen 14 und 28 Tagen deutlich zunahm und der Versuch nur etwa einen halben Spermatogenesezyklus abdeckte, muss eine weitere Zunahme der Effekte mit fortschreitender Zeit einbezogen werden. Da dieser Wert von einem NOAEL aus tierexperimentellen Untersuchungen stammt, kann entsprechend der Vorgehensweise der Kommission (siehe Abschnitt I der MAK- und BAT-Werte Liste) ein MAK-Wert von 0,005 ml/m³ (0,023 mg/m³) abgeleitet werden.

Spitzenbegrenzung. Wegen der systemischen Wirkung wird 3-Chlor-1,2-propandiol der Spitzenbegrenzungskategorie II zugeordnet. Da die Halbwertszeit in den Testes von Ratten mehr als acht Stunden beträgt, wird ein Überschreitungsfaktor von 8 zugeordnet. Die daraus resultierende Spitzenkonzentration von 0,04 ml/m³ dürfte sehr wahrscheinlich nicht reizend wirken, da in einer 14-Tage-Studie bei Ratten bei Gabe von bis 18 ml/m³ keine klinischen Symptome beobachtet wurden.

Fruchtschädigende Wirkung. Entwicklungstoxizitätsstudien liegen bis auf eine Untersuchung, in der nur die Testes der Nachkommen untersucht wurden, nicht vor. In dieser Schlundsondenstudie (El Ramy et al. 2006) mit Gabe von bis zu 25 mg/kg KG und Tag wurden nach In-utero-Exposition vom 11. bis 18. Tag der Trächtigkeit bei Sprague-Dawley-Ratten keine Effekte auf die Entwicklung der Testes berichtet. Eine signifikant reduzierte Körpergewichtsentwicklung der trächtigen Ratten wurde ab 10 mg/kg KG und Tag beobachtet. Da keine validen Daten zur Entwicklungstoxizität vorliegen, erfolgt eine Zuordnung zur Schwangerschaftsgruppe D.

36 3-Chlor-1,2-propandiol

Krebserzeugende Wirkung. In Maus-Fibroblasten erhöhte 3-Chlor-1,2-propandiol die Zelltransformationsrate. Erhöhte Tumorzinidenzen in Nieren und Testes wurden nur bei Ratten nachgewiesen. Den Leydigzell-Tumoren liegen speziesspezifische Wirkungsmechanismen zugrunde, so dass diese Tumoren keine Humanrelevanz haben. Für die Entstehung der Nierentumoren werden Störungen des Energiestoffwechsels und Effekte auf das Immunsystem diskutiert, die zu einer verstärkten chronischen Nephropathie führen können. Die Nieren des Menschen sind wie die der Maus nicht durch eine chronische Nephropathie vorgeschädigt. Somit ist zu vermuten, dass die nierentoxische Wirkung des 3-Chlor-1,2-propandiol beim Menschen nicht zu Tumoren führt. Jedoch ist nicht klar, inwieweit die Störung des Energiehaushaltes und des Immunsystems auch beim Menschen zur Tumorentstehung beiträgt. Auch liegen keine quantitativen Angaben zur Verteilung und zum Stoffwechsel von 3-Chlor-1,2-propandiol beim Menschen vor. Da der Wirkungsmechanismus nicht abschließend geklärt ist, kann eine mögliche kanzerogene Wirkung beim Menschen nicht ausgeschlossen werden. 3-Chlor-1,2-propandiol wird daher in Kanzerogenitäts-Kategorie 3 B eingestuft.

Keimzellmutagene Wirkung. 3-Chlor-1,2-propandiol ist *in vitro* mutagen an Bakterien und Hefezellen, in denen vermutlich bakterielle Enzyme an der Entstehung des genotoxischen Metaboliten Glycidol beteiligt sind, da die Wirkung auch in Abwesenheit metabolischer Aktivierung auftritt. An Säugerzellen *in vitro* ist eine genotoxische Wirkung erst bei höheren, teils zytotoxischen Konzentrationen zu beobachten, bei denen vermutlich eine GSH-Depletion stattfindet, während in den *In-vivo*-Genotoxizitätstests die Entgiftung des Glycidol durch Konjugation mit GSH anscheinend ausreichend möglich ist. So zeigt sich in den vorliegenden *In-vivo*-Genotoxizitätstests im Gegensatz zu den *In-vitro*-Studien keine genotoxische Wirkung, weder an Somazellen noch in jeweils zwei Dominant-Letal-Tests an den Keimzellen von Ratte und Maus. Der genotoxische Metabolit Glycidol wird in Säugerzellen mittels GSH-Konjugation detoxifiziert. Quantitative Angaben zum Metabolismus und zur Entgiftung durch GSH beim Menschen liegen nicht vor. Aufgrund der negativen *In-vivo*-Untersuchungen am Tier kann jedoch davon ausgegangen werden, dass auch beim Menschen eine genotoxische Wirkung nicht im Vordergrund steht. 3-Chlor-1,2-propandiol wird daher nicht in eine Kategorie für Keimzellmutagene eingestuft.

Hautresorption. Es liegen keine experimentellen Daten zur dermalen Aufnahme oder zur Toxizität nach dermalen Applikation von 3-Chlor-1,2-propandiol vor. Die dermalen Aufnahmemengen, die sich aus den Modellberechnungen ergeben (5, 9 und 27 mg/kg KG), liegen deutlich über dem systemischen NOAEL für Spermatotoxizität von 0,05 mg/kg KG und Tag. Deshalb wird 3-Chlor-1,2-propandiol mit „H“ markiert.

Sensibilisierende Wirkung. Zur kontaktsensibilisierenden Wirkung des 3-Chlor-1,2-propandiol beim Menschen liegen keine Befunde vor. Ein modifizierter Bühler-Test mit lediglich zehn Meerschweinchen lieferte ein negatives Ergebnis. Zur atemwegsensibilisierenden Wirkung gibt es keine Angaben. 3-Chlor-1,2-propandiol wird daher weiterhin weder mit „Sh“ noch mit „Sa“ markiert.

7 Literatur

- Ban Y, Asanabe U, Inagaki S, Sasaki M, Nakatsuka T, Matsumoto H (1999) Effects of alpha-chlorohydrin on rat sperm motions in relation to male reproductive functions. *J Toxicol Sci* 24: 407–413
- Bakhiya N, Abraham K, Gürtler R, Appel KE, Lampen A (2011) Toxicological assessment of 3-chloropropane-1,2-diol and glycidol fatty acid esters in food. *Mol Nutr Food Res* 55: 509–521
- BfR (Bundesinstitut für Risikobewertung) (2007) Infant formula and follow-up formula may contain harmful 3-MCPD fatty acid esters. *BfR Opinion No. 047/2007*, 11 December 2007
- Bone W, Jones AR, Morin C, Nieschlag E, Cooper TG (2001) Susceptibility of glycolytic enzyme activity and motility of spermatozoa from rat, mouse, and human to inhibition by proven and putative chlorinated antifertility compounds in vitro. *J Androl* 22: 464–470
- Bone W, Jones AR, Cooper TG (2002) The effect of (R,S)-ornidazole on the fertility of male mice and the excretion and metabolism of 36Cl-(R,S)-ornidazole and 36Cl-(R,S)-alpha-chlorohydrin in male mice and rats. *Int J Androl* 25: 94–99
- Buttar HS, Moffat JH, McMahon A, Foster WG (1997) Sperm motility analysis, sperm chromatin structure assay and serum hormone assessment in alpha-chlorohydrin treated rats. Joint meeting of the teratology society thirty-seventh-annual meeting and tenth international conference of the organization of teratology information services, Palm Beach, Florida, USA, June 21-26, 1997. *Teratology* 55: 68
- Byun JA, Ryu MH, Lee JK (2006) The immunomodulatory effects of 3-monochloro-1,2-propanediol on murine splenocyte and peritoneal macrophage function in vitro. *Toxicol In Vitro* 20: 272–278
- California EPA (California Environmental Protection Agency) (2010) Evidence on the carcinogenicity of 3-monochloropropane-1,2-diol (3-MCPD; α -chlorohydrin), update September 2010, California Environmental Protection Agency, Sacramento, CA, USA
- Cavanagh JB, Nolan CC (1993) The neurotoxicity of alpha-chlorohydrin in rats and mice: II. Lesion topography and factors in selective vulnerability in acute energy deprivation syndromes. *Neuropathol Appl Neurobiol* 19: 471–479
- Cavanagh JB, Nolan CC, Seville MP (1993) The neurotoxicity of alpha-chlorohydrin in rats and mice: I. Evolution of the cellular changes. *Neuropathol Appl Neurobiol* 19: 240–252
- Cho WS, Han BS, Lee H, Kim C, Nam KT, Park K, Choi M, Kim SH, Jeong J, Jang DD (2008 a) Subchronic toxicity study of 3-monochloropropane-1,2-diol administered by drinking water to B6C3F1 mice. *Food Chem Toxicol* 46: 1666–1673
- Cho WS, Han BS, Nam KT, Park K, Choi M, Kim SH, Jeong J, Jang DD (2008 b) Carcinogenicity study of 3-monochloropropane-1,2-diol in Sprague-Dawley rats. *Food Chem Toxicol* 46: 3172–3177
- Crabo B, Applegren LE (1972) Distribution of [^{14}C] α -chlorohydrin in mice and rats. *J Reprod Fertil* 30: 161–163
- Cook JC, Klinefelter GR, Hardisty JF, Sharpe RM, Foster PM (1999) Rodent Leydig cell tumorigenesis: a review of the physiology, pathology, mechanisms, and relevance to humans. *Crit Rev Toxicol* 29: 169–261
- ECHA (European Chemical Agency) (2012), <http://www.echa.europa.eu/>
- El Ramy R, Ould Elhkim M, Poul M, Forest MG, Leduque P, Le Magueresse-Battistoni B (2006) Lack of effect on rat testicular organogenesis after in utero exposure to 3-monochloropropane-1,2-diol (3-MCPD). *Reprod Toxicol* 22: 485–492
- El Ramy R, Ould Elhkim M, Lezmi S, Poul JM (2007) Evaluation of the genotoxic potential of 3-monochloropropane-1,2-diol (3-MCPD) and its metabolites, glycidol and beta-chlorolactic acid, using the single cell gel/comet assay. *Food Chem Toxicol* 45: 41–48
- Epstein SS, Arnold E, Andrea J, Bass W, Bishop Y (1972) Detection of chemical mutagens by the dominant lethal assay in the mouse. *Toxicol Appl Pharmacol* 23: 288–325
- Fiserova-Bergerova V, Pierce JT, Droz PO (1990) Dermal absorption potential of industrial chemicals: criteria for skin notation. *Am J Ind Med* 17: 617–635
- Frei H, Würzler FE (1997) The vicinal chloroalcohols 1,3-dichloro-2-propanol (DC2P), 3-chloro-1,2-propanediol (3CPD) and 2-chloro-1,3-propanediol (2CPD) are not genotoxic in vivo in the wing spot test of *Drosophila melanogaster*. *Mutat Res* 394: 59–68

38 3-Chloro-1,2-propanediol

- Guy RH, Potts RO (1993) Penetration of industrial chemicals across the skin: a predictive model. *Am J Ind Med* 23: 711–719
- Hoyt JA, Fisher LF, Hoffman WP, Swisher DK, Seyler DE (1994) Utilization of a short-term male reproductive toxicity study design to examine effects of alpha-chlorohydrin (3-chloro-1,2-propanediol). *Reprod Toxicol* 8: 237–250
- Izumi Y, Yoshizaki H, Kawamura Y, Matsumoto K, Ooshima Y (2003) Effects of alpha-chlorohydrin on rat in vitro fertilization. *Congenit Anom (Kyoto)* 43: 243
- Jelks KB, Miller MG (2001) alpha-Chlorohydrin inhibits glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase in multiple organs as well as in sperm. *Toxicol Sci* 62: 115–123
- Jelks K, Berger T, Horner C, Miller MG (2001) alpha-chlorohydrin induced changes in sperm fertilizing ability in the rat: association with diminished sperm ATP levels and motility. *Reprod Toxicol* 15: 11–20
- Jeong J, Han BS, Cho WS, Choi M, Ha CS, Lee BS, Kim YB, Son WC, Kim CY (2010) Carcinogenicity study of 3-monochloropropane-1,2-diol (3-MCPD) administered by drinking water to B6C3F1 mice showed no carcinogenic potential. *Arch Toxicol* 84: 719–729
- Jones AR (1975) The metabolism of 3-chloro, 3-bromo and 3-iodopropane-1,2-diol in rats and mice. *Xenobiotica* 5: 155–165
- Jones AR (1998) Chemical interference with sperm metabolic pathways. *J Reprod Fertil, Suppl* 53: 227–234
- Jones P, Jackson H (1976) Antifertility and dominant lethal mutation studies in male rats with dl-alpha-chlorohydrin and an amino-analogue. *Contraception* 13: 639–646
- Jones AR, Davies P, Edwards K, Jackson H (1969) Antifertility effects and metabolism of alpha and epi-chlorohydrins in the rat. *Nature* 224: 83
- Jones AR, Milton DH, Murcott C (1978) The oxidative metabolism of alpha-chlorohydrin in the male rat and the formation of spermatoceles. *Xenobiotica* 8: 573–582
- Kalla NR, Chohan KS (1980) Studies on the mechanism of action of alpha-monochlorohydrin. *Exp Pathol (Jena)* 18: 430–437
- Kaneto M, Kanamori S, Hara K, Kishi K (1999) Characterization of epididymal sperm motion and its correlation with stages of target cells in rats given alpha-chlorohydrin, cyclophosphamide or nitrazepam. *J Toxicol Sci* 24: 187–197
- Kato M, Makino S, Tasaki S, Kato K, Ota T, Furuhashi T (2000) Relationship between sperm motion ability and fertilizability by single dose administration of alpha-chlorohydrin in male rats. *Teratology* 62: 46A
- Kawaguchi T, Kawachi M, Morikawa M, Kazuta H, Shibata K, Ishida M, Kitagawa N, Matsuo A, Kadota T (2004) Key parameters of sperm motion in relation to male fertility in rats given alpha-chlorohydrin or nitrobenzene. *J Toxicol Sci* 29: 217–231
- Kim K, Song C, Park Y, Koh S, Kim J, Kim S, Kim Y, Kim SU, Jung H (2004) 3-monochloropropane-1,2-diol does not cause neurotoxicity in vitro or neurobehavioral deficits in rats. *Neurotoxicology* 25: 377–385
- Kim K (2008) Differential expression of neuronal and inducible nitric oxide synthase in rat brain after subchronic administration of 3-monochloro-1,2-propanediol. *Food Chem Toxicol* 46: 955–960
- Kwak SJ, Kim SS, Choi YW, Rhee GS, Da Lee R, Seok JH, Chae SY, Won YH, Lim KJ, Choi KS, Park KL, Lee BM (2004) Mechanism of antifertility in male rats treated with 3-monochloro-1,2-propanediol (3-MCPD). *J Toxicol Environ Health A* 67: 2001–2011
- Lee JK, Byun JA, Park SH, Kim HS, Park JH, Eom JH, Oh HY (2004) Evaluation of the potential immunotoxicity of 3-monochloro-1,2-propanediol in Balb/c mice. I. Effect on antibody forming cell, mitogen-stimulated lymphocyte proliferation, splenic subset, and natural killer cell activity. *Toxicology* 204: 1–11
- Lee JK, Byun JA, Park SH, Choi HJ, Kim HS, Oh HY (2005) Evaluation of the potential immunotoxicity of 3-monochloro-1,2-propanediol in Balb/c mice II. Effect on thymic subset, delayed-type hypersensitivity, mixed-lymphocyte reaction, and peritoneal macrophage activity. *Toxicology* 211: 187–196
- Li N, Liu Z, Jia X, Cui W, Wang W, Zhang X, Han C, Chen J, Wang M (2003) Study on the toxicological effect of chloropropanols on rats (chin). *Wei Sheng Yan Jiu* 32: 349–352

- Li Y, Liu S, Wang C, Li K, Shan YJ, Wang XJ, Sun CH (2010) Novel biomarkers of 3-chloro-1,2-propanediol exposure by ultra performance liquid chromatography/mass spectrometry based metabolomic analysis of rat urine. *Chem Res Toxicol* 23: 1012–1017
- Lynch BS, Bryant DW, Hook GJ, Nestmann ER, Munro IC (1998) Carcinogenicity of monochloro-1,2-propanediol (a-chlorohydrin, 3-MCPD). *Int J Toxicol* 17: 47–76
- Majeska JB, Matheson DW (1983) Quantitative estimate of mutagenicity of tris-(1,3-dichloro-2-propyl)phosphate (TCPP) and its possible metabolites in *Salmonella*. *Environ Mutagen* 5: 478–479
- Nestlé (1983) Toxicity of 3-chloro-1,2-propanediol in a 4 weeks gavage study on rats. Bericht Nr. LA 70/1082, Nestlé Products Technical Assistance Co. Ltd., Research Department, 23. August 1983, Nestlé S.A., Vevey, Schweiz
- Nestlé (1989 a) Subchronic toxicity of 3-chloro-1,2-propanediol, 90 days administration in drinking water of Fischer F344 rats. Bericht Nr. 1264, Nestlé Research Center, Lausanne, 15. März 1989, Nestlé S.A., Vevey, Schweiz
- Nestlé (1989 b) Evaluation of 3-chloro-1,2-propanediol (3MCPD) in the bone marrow and colonic micronucleus mutagenicity tests in mice. Bericht Nr. SADOCD-1265, Nestlé Research Center, Lausanne, 15. März 1989, Nestlé S.A., Vevey, Schweiz
- Nestlé (1993) Carcinogenicity study on 3-monochloropropane-1,2-diol (3-MCPD) administered in drinking water to Fischer 344 rats. Bericht Nr. RDLRS-RE SR93003, Nestlé Research Center, Lausanne, 25. Januar 1993, Nestlé S.A., Vevey, Schweiz
- Ohkubo T, Hayashi T, Watanabe E, Endo H, Goto S, Endo O, Mizoguchi T, Mori Y (1995) Mutagenicity of chlorohydrins. *Nippon Suisan Gakkai Shi* 61: 596–601
- Painter RB, Howard R (1982) The Hela DNA-synthesis inhibition test as a rapid screen for mutagenic carcinogens. *Mutat Res* 92: 427–437
- Piasecki A, Ruge A, Marquardt H (1990) Malignant transformation of mouse M2-fibroblasts by glycerol chlorohydrines contained in protein hydrolysates and commercial food. *Arzneimittelforschung* 40: 1054–1055
- Plassmann S, Urwyler H (2001) Improved risk assessment by screening sperm parameters. *Toxicol Lett* 119: 157–171
- Prior MJ, Brown AM, Mavroudis G, Lister T, Ray DE (2004) MRI characterisation of a novel rat model of focal astrocyte loss. *MAGMA* 17: 125–132
- Robjohns S, Marshall R, Fellows M, Kowalczyk G (2003) In vivo genotoxicity studies with 3-monochloropropan-1,2-diol. *Mutagenesis* 18: 401–404
- Rossi AM, Migliore L, Lascialfari D, Sbrana I, Loprieno N, Tortoreto M, Bidoli F, Pantarotto C (1983) Genotoxicity, metabolism and blood kinetics of epichlorohydrin in mice. *Mutat Res* 118: 213–226
- Schilter B, Scholz G, Seefelder W (2011) Fatty acid esters of chloropropanols and related compounds in food: toxicological aspects. *Eur J Lipid Sci Technol* 113: 309–313
- Sheline CT, Choi DW (1998) Neuronal death in cultured murine cortical cells is induced by inhibition of GAPDH and triosephosphate isomerase. *Neurobiol Dis* 5: 47–54
- Shell Oil Co (1992) Initial submission: Preliminary studies to assess changes in reproductive tract of the male rat exposed to glycerol-alpha-monochlorohydrin with cover letter dated 032692. NTIS/OTS 0536200. EPA/OTS Doc ID 88-920002006, NTIS, Springfield, VA, USA
- Silhánková L, Smíd F, Cerná M, Davídek J, Velíšek J (1982) Mutagenicity of glycerol chlorohydrines and of their esters with higher fatty acids present in protein hydrolysates. *Mutat Res* 103: 77–81
- Skamarauskas J, Carter W, Fowler M, Madjd A, Lister T, Mavroudis G, Ray DE (2007) The selective neurotoxicity produced by 3-chloropropanediol in the rat is not a result of energy deprivation. *Toxicology* 232: 268–276
- Slott VL, Jeffay SC, Suarez JD, Barbee RR, Perreault SD (1995) Synchronous assessment of sperm motility and fertilizing ability in the hamster following treatment with alpha-chlorohydrin. *J Androl* 16: 523–535
- Slott VL, Jeffay SC, Dyer CJ, Barbee RR, Perreault SD (1997) Sperm motion predicts fertility in male hamsters treated with alpha-chlorohydrin. *J Androl* 18: 708–716
- Solvay America (1995) Initial submission: Letter from Solvay America to USEPA RE: Acute and subacute, and male fertility studies with alphachlorohydrin in rats with attachments dated 06/26/95. NTIS/OTS0557897, EPA/OTS New Doc ID: 88-950000254, NTIS, Springfield, VA, USA

40 3-Chlor-1,2-propandiol

- SRC (Syracuse Research Corporation) (2012) PhysProp database, <http://www.srcinc.com/what-we-do/databaseforms.aspx?id=386>
- Stolzenberg SJ, Hine CH (1979) Mutagenicity of halogenated and oxygenated three-carbon compounds. *J Toxicol Environ Health* 5: 1149–1158
- Stolzenberg SJ, Hine CH (1980) Mutagenicity of 2- and 3-carbon halogenated compounds in the *Salmonella/mammalian-microsome* test. *Environ Mutagen* 2: 59–66
- Toth GP, Wang SR, McCarthy H, Tocco DR, Smith MK (1992) Effects of three male reproductive toxicants on rat cauda epididymal sperm motion. *Reprod Toxicol* 6: 507–515
- USEPA (United States Environmental Protection Agency) (2006) Pesticide fact sheet, alpha-chlorohydrin, December 2006, http://www.epa.gov/pesticides/chem_search/reg_actions/registration/fs_PC-117101_01-Dec-06.pdf
- Van Duuren BL, Goldschmidt BM, Katz C, Seidman I, Paul JS (1974) Carcinogenic activity of alkylating agents. *J Natl Cancer Inst* 53: 695–700
- Weisburger EK, Ulland BM, Nam J, Gart JJ, Weisburger JH (1981) Carcinogenicity tests of certain environmental and industrial chemicals. *J Natl Cancer Inst* 67: 75–88
- WHO (World Health Organisation) (2002) 3-Chloro-1,2-propanediol, WHO Food Additives Series 48, WHO, Genf, 401–432, <http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v48je18.htm>
- Wilschut A, ten Berge WF, Robinson PJ, McKone TE (1995) Estimating skin permeation. The validation of five mathematical skin permeation models. *Chemosphere* 30: 1275–1296
- Woods J, Garside DA (1996) An in vivo and in vitro investigation into the effects of alpha-chlorohydrin on sperm motility and correlation with fertility in the Han Wistar rat. *Reprod Toxicol* 10: 199–207
- Xiao Y, Zhou Y, Luo RC, Zhang Z (2003) Study on the absorption, distribution and excretion of 3-chloro-1,2-propandiol in rats (chin). *Zhonghua Yu Fang Yi Xue Za Zhi* 37: 426–428
- Xie S, Zhu Y, Ma L, Lu Y, Zhou J, Gui Y, Cao L (2010) Genome-wide profiling of gene expression in the epididymis of alpha-chlorohydrin-induced infertile rats using an oligonucleotide microarray. *Reprod Biol Endocrinol* 8: 37–49
- Yamada T, Inoue T, Sato A, Yamagishi K, Sato M (1995) Effects of short-term administration of alpha-chlorohydrin on reproductive toxicity parameters in male Sprague-Dawley rats. *J Toxicol Sci* 20: 195–205
- Yum Y, Kim S, Jang D, Kim S, Hwang M, Cho D (2006) Toxicoproteomics study on 3-MCPD-induced nephrotoxicity in rats. *Toxicol Sci* 90: 92
- Zeiger E, Anderson B, Haworth S, Lawlor T, Mortelmans K (1988) *Salmonella* mutagenicity tests: IV. Results from the testing of 300 chemicals. *Environ Mol Mutagen* 11: 1–158

abgeschlossen am 29.02.2012