

Trichlorbenzol (alle Isomere)

MAK Begründung, Nachtrag

A. Hartwig^{1,*}

MAK Commission^{2,*}

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

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

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

Keywords

1,2,3-Trichlorbenzol;
1,2,4-Trichlorbenzol;
1,3,5-Trichlorbenzol;
Porphyrinurie; maximale
Arbeitsplatzkonzentration;
MAK-Wert; Kanzerogenität;
Mutagenität; Toxizität;
Metabolismus

Abstract

The German Commission for the Investigation of Health Hazards of Chemical Compounds in the Work Area has re-evaluated trichlorobenzene isomers (1,2,3-trichlorobenzene [87-61-6], 1,2,4-trichlorobenzene [120-82-1] and 1,3,5-trichlorobenzene [108-70-3]) considering all toxicological end points. The critical effects of the trichlorobenzenes are adverse effects on the livers of mice and rats and on the kidneys of rats. These effects were more pronounced after exposure to 1,2,4-trichlorobenzene with the rat being the most sensitive species. However, as the isomers all have a similar primary toxicological mode of action and follow similar metabolic pathways, they have been evaluated together. After exposure to 1,2,4-trichlorobenzene, liver toxicity was manifest in rats and mice as increased liver weights and histological changes in the liver were preceded by an induction of metabolic enzymes. The most sensitive end point, a disruption of porphyrin biosynthesis, was observed in a 90-day inhalation study in rats with a NOAEC of 3 ml/m³. On this basis, the maximum concentration at the workplace (MAK value) has been set at 0.5 ml/m³. As the critical effect of the trichlorobenzenes is systemic, Peak Limitation Category II has been assigned with an excursion factor of 2. The trichlorobenzenes are not genotoxic. The neoplasms detected in rats and mice in carcinogenicity studies with 1,2,4-trichlorobenzene are considered to be of no human relevance. In rats, the NOAEC for developmental toxicity was 840 mg/m³ for 1,2,3-trichlorobenzene and 1,3,5-trichlorobenzene and 420 mg/m³ for 1,2,4-trichlorobenzene. The NOAEC for perinatal toxicity was 54 mg/m³ for 1,2,4-trichlorobenzene. As no teratogenicity was observed and the margins between the NOAECs and the MAK value are sufficiently large, the trichlorobenzenes have been assigned to Pregnancy Risk Group C. Data for skin sensitizing effects are limited to experiments performed with 1,2,3-trichlorobenzene that confirmed the induction of sensitizing effects. Therefore, only 1,2,3-trichlorobenzene has been designated with “Sh”. There are no data for sensitization of the respiratory tract. According to skin absorption models, 1,2,4-trichlorobenzene is expected to be taken up via the skin in toxicologically relevant amounts. Therefore, all trichlorobenzenes remain designated with “H”.

Citation Note:

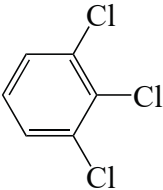
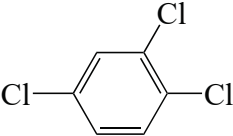
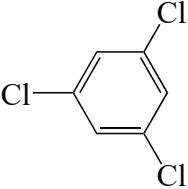
Hartwig A, MAK Commission.
Trichlorbenzol (alle Isomere).
MAK-Begründung, Nachtrag.
MAK Collect Occup Health
Saf. 2022 Sep;7(3):Doc046.
[https://doi.org/10.34865/
mb1200248ismd7_3ad](https://doi.org/10.34865/mb1200248ismd7_3ad)

Manuskript abgeschlossen:
24 Feb 2021

Publikationsdatum:
30 Sep 2022

Lizenz: Dieses Werk ist
lizenziert unter einer [Creative
Commons Namensnennung 4.0
International Lizenz](#).



MAK-Wert (2021)	0,5 ml/m³ (ppm) \approx 3,8 mg/m³
Spitzenbegrenzung (2021)	Kategorie II, Überschreitungsfaktor 2
Hautresorption (1996)	H
Sensibilisierende Wirkung (2021)	1,2,3-Trichlorbenzol: Sh 1,2,4- und 1,3,5-Trichlorbenzol: –
Krebserzeugende Wirkung	–
Fruchtschädigende Wirkung (2021)	Gruppe C
Keimzellmutagene Wirkung	–
BAT-Wert	–
Synonyma	1,2,3-Trichlorbenzol: vic-Trichlorbenzol 1,2,4-Trichlorbenzol: unsym-Trichlorbenzol 1,3,5-Trichlorbenzol: sym-Trichlorbenzol
Chemische Bezeichnung (IUPAC-Name)	1,2,3-Trichlorbenzol 1,2,4-Trichlorbenzol 1,3,5-Trichlorbenzol
CAS-Nr.	1,2,3-Trichlorbenzol: 87-61-6 1,2,4-Trichlorbenzol: 120-82-1 1,3,5-Trichlorbenzol: 108-70-3
Formel	1,2,3-Trichlorbenzol:  1,2,4-Trichlorbenzol:  1,3,5-Trichlorbenzol:  C ₆ H ₃ Cl ₃
Molmasse	181,45 g/mol

Schmelzpunkt	1,2,3-Trichlorbenzol: 53 °C (IFA 2020 a) 1,2,4-Trichlorbenzol: 17 °C (IFA 2020 b) 1,3,5-Trichlorbenzol: 63 °C (IFA 2020 c)
Siedepunkt bei 1013 hPa	1,2,3-Trichlorbenzol: 221 °C (IFA 2020 a) 1,2,4-Trichlorbenzol: 213 °C (IFA 2020 b) 1,3,5-Trichlorbenzol: 209 °C (IFA 2020 c)
Dichte bei 20 °C	1,2,3-Trichlorbenzol: 1,69 g/cm ³ (IFA 2020 a) 1,2,4-Trichlorbenzol: 1,46 g/cm ³ (IFA 2020 b) 1,3,5-Trichlorbenzol: 1,46 g/cm ³ (NCBI 2020 b)
Dampfdruck bei 25 °C	1,2,3-Trichlorbenzol: 0,28 hPa, experimentell (NLM 2020 a) 1,2,4-Trichlorbenzol: 0,61 hPa, experimentell (NLM 2020 b) 1,3,5-Trichlorbenzol: 0,32 hPa, experimentell (NLM 2020 c)
log K _{ow}	1,2,3-Trichlorbenzol: 4,05 (NLM 2020 a) 1,2,4-Trichlorbenzol: 4,02 (NLM 2020 b) 1,3,5-Trichlorbenzol: 4,19 (NLM 2020 c)
Wasserlöslichkeit bei 25 °C	1,2,3-Trichlorbenzol: 18 mg/l (NLM 2020 a) 1,2,4-Trichlorbenzol: 49 mg/l (NLM 2020 b) 1,3,5-Trichlorbenzol: 6,01 mg/l (NLM 2020 c)
1 ml/m³ (ppm) ≅ 7,529 mg/m³	1 mg/m³ ≅ 0,133 ml/m³ (ppm)
Hydrolysestabilität	k. A.
Herstellung	Aus flüssigem Benzol mit Chlorgas in Anwesenheit eines Katalysators (Lewis-Säure, z. B. Eisenchlorid) (ATSDR 2014)
Verwendung	1,2,4-Trichlorbenzol als Lösungsmittel; 1,2,3- und 1,3,5-Trichlorbenzol als Intermediate; 1,2,4-Trichlorbenzol wird außerhalb der Europäischen Union in höheren Mengen hergestellt als die beiden anderen Isomere (ATSDR 2014)

Der Nachtrag basiert unter anderem auf Zusammenfassungen der toxikologischen Daten (ATSDR 2014; EC 2003; US EPA 2009 a, b). Es liegen auch öffentlich verfügbare Registrierungsdaten im Rahmen von REACH (ECHA 2014, 2018 a) vor.

1,2,4-Trichlorbenzol darf in der Europäischen Union als Substanz nicht verwendet werden oder eine Konzentration von 0,1% in Mischungen nicht übersteigen außer als Intermediat oder in geschlossenen Systemen oder bei der Herstellung von 1,3,5-Triamino-2,4,6-trinitrobenzol (ECHA o.J.). Für 1,3,5-Trichlorbenzol liegt keine registrierte Anwendung in Europa vor (ECHA 2018 b).

Es liegt eine Begründung zu allen drei Trichlorbenzolen aus dem Jahr 1990 vor (Henschler 1990). Des Weiteren existiert ein Nachtrag zur Bewertung der Kanzerogenität von 1,2,4-Trichlorbenzol aus dem Jahr 1996 (Greim 1996). Zudem gibt es für 1,2,3- und 1,3,5-Trichlorbenzol Nachträge zur Hautresorption (Greim 1998), Spitzenbegrenzung (Greim 2002 b) und fruchtschädigenden Wirkung (Greim 2007).

Seit dem Jahr 2016 berücksichtigt die Kommission bei Stoffen, deren MAK-Wert auf systemischen Effekten basiert und aus inhalativen Tierversuchen oder Probandenstudien in Ruhe abgeleitet wurde, dass das Atemvolumen am Arbeitsplatz höher als unter diesen experimentellen Bedingungen ist. Dies gilt jedoch nicht für Gase und Dämpfe wenn deren Blut:Luft-Verteilungskoeffizient < 5 ist (siehe MAK- und BAT-Werte-Liste, Abschnitt Ib und Ic; DFG 2020). Der nach der Formel von Buist et al. (2012) errechnete Blut:Luft-Verteilungskoeffizient beträgt für 1,2,3-, 1,2,4- sowie 1,3,5-Trichlorbenzol 224, 270 bzw. 247. Mit diesem Nachtrag wird überprüft, ob aufgrund des höheren Atemvolumens

am Arbeitsplatz der MAK-Wert von 1,2,3- bzw. 1,3,5-Trichlorbenzol geändert werden muss und ob für 1,2,4-Trichlorbenzol ein MAK-Wert erhoben werden kann.

1 Allgemeiner Wirkungscharakter

Kritische Effekte sind die bei subchronischer und chronischer Exposition via Inhalation oder oraler Gabe auftretenden adversen Wirkungen auf die Leber und die Nieren. Es werden zudem Effekte auf die Nebennieren sowie Folgeeffekte auf das Blut und die Schilddrüse beobachtet. 1,2,4-Trichlorbenzol wirkt stärker als die beiden anderen Isomere. Bei Exposition gegen 1,2,4-Trichlorbenzol werden bei Ratten und Mäusen verringerte Körpergewichte und gesteigertes Organgewicht sowie histologische Veränderungen der Leber festgestellt. Erhöhte Nierengewichte werden bei männlichen Ratten beobachtet. Im frühen Stadium der adversen Wirkung der Trichlorbenzole werden oxidative, reduktive und konjugierende Enzyme induziert. Bei Ratten, der gegenüber der Wirkung besonders sensitiven Tierspezies, werden bei Exposition gegen 1,2,4-Trichlorbenzol u. a. Enzyme der Häm-Biosynthese in der Leber, insbesondere die δ -Aminolävulinatsynthase und die Hämoxygenase beeinflusst, was zu einer Störung des Porphyrinstoffwechsels führt. Dieser Effekt, gemessen an erhöhter Ausscheidung von Uroporphyrin bzw. Koproporphyrin, wird bei Ratten ab Konzentrationen von 10 ml 1,2,4-Trichlorbenzol/m³ nach 90 Tagen beobachtet. Diese Wirkung ist der empfindlichste Endpunkt nach inhalativer Exposition. Weitere adaptive und adverse Effekte wie Zellhypertrophien und erhöhte Zellproliferationen, Organgewichtssteigerungen und Nekrosen in Leber und Nieren sowie Körpergewichtsreduktionen bilden sich erst bei höheren Konzentrationen ab 25 ml/m³ aus.

Es liegen in validen Studien keine Belege für eine mutagene oder klastogene Wirkung der drei Trichlorbenzole vor.

Leberadenome und Leberkarzinome entwickeln sich bei dafür besonders suszeptiblen weiblichen und männlichen B6C3F1-Mäusen ab 127 bzw. 100 mg 1,2,4-Trichlorbenzol/kg KG und Tag. Diese sind auf eine tumorpromovierende Wirkung der Substanz und die vorausgehenden lebertoxischen Effekte zurückzuführen. Es werden keine statistisch signifikant erhöhten Tumorinzidenzen bei Ratten festgestellt.

Die Trichlorbenzole wirken leicht bis mäßig reizend an der Haut und am Auge von Kaninchen und Meerschweinchen, wobei die Effekte reversibel sind. Erst bei höheren Konzentrationen oder längerer Einwirkzeit bzw. wiederholter Gabe bilden sich manifeste Schäden.

Es treten keine teratogenen oder entwicklungstoxischen Effekte auf.

Für 1,2,3-Trichlorbenzol weist ein valider „Local Lymph Node Assay“ (LLNA-Test) auf ein hautsensibilisierendes Potenzial hin. Zur hautsensibilisierenden Wirkung von 1,2,4- und 1,3,5-Trichlorbenzol liegen weiterhin keine Befunde bei Menschen oder Tieren oder aus In-vitro-Untersuchungen vor. Es liegen keine Daten zur atemwegssensibilisierenden Wirkung der drei Isomere vor.

2 Wirkungsmechanismus

In Tierversuchen wird eine adverse Wirkung der Trichlorbenzole auf die Leber und Niere festgestellt (siehe [Abschnitt 5](#)). Hierbei steht die Ratte als sensitivste Tierspezies bezüglich der Lebertoxizität im Vordergrund, männliche Tiere erwiesen sich als anfälliger als weibliche Tiere. Enzyminduktionen bzw. die Bildung reaktiver Intermediate bilden die Grundlage der adversen Wirkung, zu der bei Ratten als erster auftretender Effekt die Störung des Porphyrinstoffwechsels zählt (Dow Chemicals Company 1977). In der Gesamtschau ist der Wirkungsmechanismus der Trichlorbenzole komplex und noch nicht vollständig erforscht. Die an den Wirkungen beteiligten Vorgänge und Ursachen sind im Folgenden beschrieben.

Enzymaktivitäten

Trichlorbenzole induzieren Cytochrom P450 (CYP)-Enzyme, Cytochrom-c-Reduktase, Acetanilidhydrolase und -esterase, Procainesterase und Arylesterase, 4-Dimethylaminoantipyrin-N-demethylase und Aldrin-Epoxidase in der Leber. Das 1,2,4-Trichlorbenzol ist der stärkste Induktor der drei Isomere (Henschler 1990). Aktuellere In-vitro-Versuche mit der Leberzelllinie HepaRG weisen ebenfalls auf eine Modulation von CYP hin: Bei Exposition gegen 1,2,4-Trichlorbenzol ergaben sich Modulationen der Genexpression von *CYP1A1*, *CYP2E1*, *CYP3A5* und *CYP7A1* und bei Exposition gegen 1,2,3-Trichlorbenzol waren *CYP1A1* und *CYP1A2* induziert (US EPA 2020 a, b). Die Trichlorbenzole und 1,2,4-Trichlorbenzol in besonderem Maße induzieren oxidative, reduktive sowie konjugierende Enzyme vor allem in der Leber. Dies wird als eine Ursache für die Lebertoxizität der Substanzen angesehen (ATSDR 2014; US EPA 2009 b).

Porphyrinstoffwechsel

Eine Störung des Porphyrinstoffwechsels wird anhand verstärkter Ausscheidung von Zwischenprodukten der Häm-Biosynthese wie Uro- und Koproporphyrin mit dem Urin festgestellt. Dies beruht auf einer Störung der Häm-Biosynthese, die in Leber und Knochenmark stattfindet. Geschwindigkeitsbestimmende Enzyme des Hämstoffwechsels sind δ -Aminolävulinatsynthase und Hämoxygenase. Wird das erstgenannte Enzym induziert, erhöht sich die Hämproduktion und bedingt die Stoffwechselstörung bzw. erhöhte Ausscheidung der Zwischenprodukte. Die Induktion der δ -Aminolävulinatsynthase wurde für 1,2,4-Trichlorbenzol in Wistar-Ratten in vivo nachgewiesen (Ariyoshi et al. 1975 a, b; Kato et al. 1988, 1993; Kato und Kimura 2002). Hierbei kommt dem Metabolit 2,3,5-Trichlorphenylmethylsulfon, welcher aus 1,2,4-Trichlorbenzol gebildet werden kann, eine übergeordnete Rolle zu, wohingegen die Ausgangssubstanz die Hämoxygenase induziert und somit ebenfalls den Hämstoffwechsel stört (Kato et al. 1988, 1993; Kato und Kimura 2002). Die Regulation der δ -Aminolävulinatsynthase in der Leber verläuft über eine Rückkopplungshemmung mit Häm (Besur et al. 2014). Wenn Häm aufgrund der Induktion der Hämoxygenase verstärkt abgebaut wird, kann dies die verstärkte Aktivität der δ -Aminolävulinatsynthase und eine Störung des Porphyrinstoffwechsels weiter begünstigen. Bei Ratten wird bereits bei einer dreimonatigen inhalativen Exposition gegen 10 ml 1,2,4-Trichlorbenzol/m³ eine Störung des Porphyrinstoffwechsels festgestellt, ohne dass andere Effekte auf den Organismus nachgewiesen werden konnten. Somit ist diese Störung der empfindlichste Endpunkt bei Exposition gegen 1,2,4-Trichlorbenzol. Ein Nachweis des vermutlich entscheidenden Metaboliten 2,3,5-Trichlorphenylmethylsulfon liegt für 1,2,3- und 1,3,5-Trichlorbenzol nicht vor. Für 1,2,3- und 1,3,5-Trichlorbenzol war die Induktion der δ -Aminolävulinatsynthase bei Ratten zwar erhöht, jedoch nicht statistisch signifikant (Ariyoshi et al. 1975 a).

Organtoxizität

Neben der Störung des Porphyrinstoffwechsels bewirken die Effekte auf andere Enzyme in der Leber Zellveränderungen und Zellschädigungen sowie Entzündungseffekte des Organs. Somit treten in Folge auch sekundäre toxische Wirkungen wie Anämien und Auswirkungen auf die Schilddrüse aufgrund der Störung des hepatischen Thyroxinstoffwechsels auf (US EPA 2009 b). Zusätzlich liegen Belege aus In-vitro-Studien vor, dass 1,2,4-Trichlorbenzol auch mit Thyroxin an der TTR-Bindestelle (Transthyretin-Bindestelle) kompetieren kann. Im Vergleich zu anderen untersuchten chlorierten Kohlenwasserstoffen, wie Pentachlorphenol, steigt diese Kompetitionsfähigkeit mit dem Grad der Chlorsubstitution (den Besten et al. 1991 b). Adverse Effekte an den Nieren beruhen auf einer zytotoxischen Wirkung, vermutlich einer α 2u-Globulin-Nephropathie, die jedoch nicht humanrelevant ist (siehe [Abschnitt „Zytotoxische und tumorpromovierende Wirkung“](#)).

Arenoxide und Chinone

Arenoxide können im Stoffwechsel aller drei Trichlorbenzolisomere entstehen. Sie sind stark elektrophil und somit sehr reaktiv. Aus diesen werden Chinone und Hydrochinone gebildet, die weiter mit Proteinen und anderen Zellbestandteilen interagieren und deren Funktionalität beeinträchtigen können. Somit werden diese Intermediate als eine weitere mögliche Ursache der adversen Wirkung in der Leber und in anderen Zielorten diskutiert (ATSDR 2014; US EPA 2009 b). Die Bildung von Chinonen durch 1,2,4-Trichlorbenzol und deren Bindung an mikrosomale Proteine

konnte in In-vitro-Studien aufgezeigt werden (den Besten et al. 1991 a; siehe [Abschnitt 5.6](#)). Des Weiteren weisen In-vivo-Versuche mit männlichen, sechs Wochen alten ddY-Mäusen, denen einmalig 1,2,4-Trichlorbenzol in einer Dosis von 1,5 mmol/kg KG intraperitoneal appliziert wurde (entspricht ca. 270 mg/kg KG), auf die Bildung von Chinonen hin. Durch eine Vorbehandlung der Tiere mit 0,5% BHA (Butylhydroxyanisol) im Futter wurde die Lebertoxizität (Aktivität der Alaninaminotransferase im Serum) signifikant reduziert. Da BHA die lebertoxische Wirkung von Chloroform nicht verringerte, schlossen die Autoren, dass im Gegensatz zu den Chloroform-vermittelten Schadeffekten Chinone im Wirkungsmechanismus von 1,2,4-Trichlorbenzol eine Rolle spielen. Diese Annahme wird insbesondere dadurch unterstützt, dass BHA in der Leber Glutathion-S-Transferasen, Epoxidhydrolasen und Glucuronosyl-Transferasen induziert und aktiv als Antioxidans an der Detoxifizierung von Chinonen beteiligt ist (ATSDR 2014; Mizutani und Miyamoto 1999).

Zytotoxische und tumorpromovierende Wirkung

In einer 104-wöchigen Fütterungsstudie entwickelten sich Adenome und Karzinome nur in der Leber eines hierfür suszeptiblen Mausstamms, den B6C3F1-Mäusen, ab einer Dosis von 100 bzw. 127 mg 1,2,4-Trichlorbenzol/kg KG und Tag. Die Tiere in diesen Dosisgruppen zeigten im Verlauf der Studie bereits eindeutige substanzbedingte, adverse Wirkungen auf die Leber wie zentrilobuläre Hepatozytomegalien und erhöhte relative und absolute Lebergewichte beziehungsweise Zellveränderungen. In Kanzerogenitätsstudien mit 1,4-Dichlorbenzol werden ebenfalls nur bei B6C3F1-Mäusen hepatozelluläre Karzinome bei hepatotoxischen Dosierungen festgestellt. Es wird vermutet, dass an der Kanzerogenität von 1,4-Dichlorbenzol Chlorhydrochinone und ihre Glutathion-Konjugate über die Bildung von reaktiven Sauerstoffspezies (ROS) beteiligt sein könnten (Hartwig und MAK Commission 2018). Ein weiteres Beispiel für diesen Vorgang sind auch die im Vergleich zu den Trichlorbenzolen deutlich stärker advers wirkenden chlorierten Biphenyle. Bei diesen Substanzen konnte in Versuchen mit Ratten gezeigt werden, dass die Bildung von Chinonen zu einer Entstehung von Sauerstoffradikalen führt. Aus diesen wird, katalysiert über die Superoxiddismutase, Wasserstoffperoxid gebildet, welches die mitotische Signalkette in Leberzellen beeinflusst und zu einer Proliferation bereits initiiert Tumorzellen führt (Brown et al. 2007). Theoretisch können aus den Chinonen der Trichlorbenzole ebenfalls ROS entstehen. Den Besten et al. (1991 a, b) führen jedoch auf, dass ein Mechanismus des Redoxcyclings für chlorierte Benzole nicht extensiv stattfindet, da in ihren Experimenten keine erhöhte Lipidperoxidation als möglicher Indikator hierfür beobachtet wurde. Auch in vitro führte die Behandlung von humanen Leberzellen mit 1,2,4-Trichlorbenzol zu einer veränderten Genexpression von *NQO1*, was auf die Entstehung von ROS hindeutet (US EPA 2020 b). Zudem wirken Chinone aber auch ohne ROS-vermittelte Effekte zytotoxisch (siehe oben) und können möglicherweise Proliferationen in der Leber initiieren. Es liegt zwar eine Untersuchung mit negativen Resultaten zu einer tumorpromovierenden Wirkung für die Trichlorbenzole vor, diese Studie ist aber angesichts einer nur zweimaligen intraperitonealen Dosisgabe nicht nutzbar, um eine derartige Wirkung auszuschließen (siehe [Abschnitt 5.7.1](#)). Die strukturverwandte Substanz Hexachlorbenzol weist aufgrund des hohen Chlorierungsgrades eine höhere Halbwertszeit im Körper auf als die Trichlorbenzole. Aus diesem Grund sind für Hexachlorbenzol im Tiermodell mit 1,2,4-Trichlorbenzol vergleichbare, jedoch noch stärker ausgeprägte adverse Wirkungen berichtet worden (Störung des Porphyrinstoffwechsels, Lebertoxizität, Entwicklung von Lebertumoren). Auch für Hexachlorbenzol wird ein noch nicht vollständig aufgeklärter komplexer Wirkungsmechanismus für die Kanzerogenese diskutiert. Zu diesem zählen die Induktion von CYP, Effekte auf den Eisenhaushalt, gestörter Porphyrinstoffwechsel und Hinweise auf eine Aktivierung des Ah-Rezeptors (Greim 2002 a; IARC 2001). Der Wirkungsmechanismus der Trichlorbenzole könnte auch in diesem Falle einem vergleichbaren Muster folgen: Neben in vivo nachgewiesenen Aktivierungen von CYP liegen Belege für einen Effekt auf den Eisenhaushalt und -stoffwechsel aus In-vitro-Untersuchungen und Tierversuchen mit 1,2,4-Trichlorbenzol vor, da es die Hämoxigenase induziert bzw. ein entstehender Methylsulfonmetabolit die δ -Aminolävulinatsynthase induziert und somit eine Störung des Porphyrinstoffwechsels verursacht. In vivo wurde für 2,3,7,8-Tetrachlordibenzo-p-dioxin bereits demonstriert, dass eine Interaktion mit dem Ah-Rezeptor in Zusammenhang mit dem Porphyrinstoffwechsel (erhöhte Uroporphyrinbildung) stehen kann (Davies et al. 2008).

Eine Tumorpromotion kann auch auf einer zytotoxischen Wirkung einer Substanz beruhen (Holsapple et al. 2006). Wie bereits eingangs erläutert, besteht die Möglichkeit der Bildung von reaktiven Intermediaten wie Arenoxiden und

Chinonen im Metabolismus der Trichlorbenzole. Solche Substanzen bedingen eine zellschädigende Wirkung durch Bindung (Bolton et al. 2000). Zytotoxizität ist an Säugerzellen nachgewiesen worden, ohne dass sich eine genotoxische Wirkung belegen ließ (siehe [Abschnitt 5.6](#) und [5.8](#)). Die Annahme, dass Trichlorbenzole auf Zytotoxizität beruhende adverse Effekte verursachen, wird auch aufgrund der Befunde an den Nieren männlicher Ratten unterstützt. Diese sind möglicherweise mit der α 2u-Globulin-vermittelten-Nephropathie erklärbar. Tritt diese bei Exposition gegen nicht genotoxische Substanzen (wie die Trichlorbenzole) auf, beruht sie auf Zytotoxizität (Laube et al. 2019) und besitzt keine Humanrelevanz, da das α 2u-Globulin nicht im Menschen vorkommt (den Besten et al. 1994).

Des Weiteren deuten In-vitro-Untersuchungen auf eine Interaktion von 1,2,4-Trichlorbenzol mit dem RXR-Rezeptor hin (US EPA 2020 a). Es ist bekannt, dass eine solche Rezeptorinteraktion zu einer Zellhypertrophie in der Leber von Nagetieren führen kann, welche einer möglichen Tumorentstehung vorausgeht, der aber mechanistisch keine Humanrelevanz zukommt (Hall et al. 2012; Lake et al. 2015). In In-vitro-Untersuchungen entkoppelt 1,2,3-Trichlorbenzol die oxidative Phosphorylierung der Atmungskette. Dieser Effekt kann auch von den beiden anderen Isomeren verursacht werden. Hierbei wurde eine Kaliumausschüttung aus den Mitochondrien der Rattenleber und eine Inhibition der respiratorischen Kontrolle beobachtet (Ogata et al. 1981). Neuere Untersuchungen stellen die Tumorpromotion in der Leber mit einer Störung der oxidativen Phosphorylierung in Zusammenhang (Ashton et al. 2018; Santacatterina et al. 2016).

In der Gesamtschau kann somit unter Berücksichtigung der negativen Genotoxizität und der vorliegenden Befundlage auch hinsichtlich der hohen Spontaninzidenz von Lebertumoren in B6C3F1-Mäusen und einer fehlenden statistischen Signifikanz der Inzidenz von Tumorbefunden in der Ratte (siehe [Abschnitt 5.7](#)) eine tumorpromovierende Wirkung der Trichlorbenzole als Ursache für die Lebertumoren geschlussfolgert werden. Die beobachtete Organtoxizität an Leber und Nieren beruht u. a. auf zytotoxischen Intermediaten und Folgeeffekten wie Enzyminduktionen, welche auch den empfindlichsten Endpunkt, die Störung des Porphyrinstoffwechsels in Ratten, bedingen. Die in Tierversuchen festgestellte Reizwirkung der Trichlorbenzole basiert vermutlich auf der entfettenden Wirkung der Substanzen.

3 Toxikokinetik und Metabolismus

Der Metabolismus der Trichlorbenzole wurde in der Begründung aus dem Jahr 1990 (Henschler 1990) ausführlich dargestellt. Im Folgenden werden die Daten zur Toxikokinetik und zum Metabolismus neu zusammengefasst und aktuelle Studienergebnisse ergänzt.

3.1 Aufnahme, Verteilung und Ausscheidung

3.1.1 Inhalation

Daten zur inhalativen Aufnahme liegen nicht vor, aber es lässt sich eine Aufnahme des Isomers 1,2,4-Trichlorbenzol über die Atemluft schlussfolgern, da in publizierten Inhalationsstudien substanzbedingte, adverse Effekte bei den Tieren festgestellt wurden (Coate et al. 1977; Dow Chemicals Company 1977; Kociba et al. 1981).

3.1.2 Orale Gabe

Nach oraler Gabe von 10 mg ^{14}C -markiertem 1,2,4-Trichlorbenzol/kg KG schieden weibliche Rhesusaffen innerhalb von 24 Stunden 40 % der applizierten Dosis mit dem Urin, jedoch nur etwa 1 % mit den Faeces aus. Männliche Albino-Ratten, denen eine gleich hohe Dosis verabreicht wurde, schieden 84 bzw. 11 % der applizierten Menge mit Urin bzw. Faeces in diesem Zeitraum aus (ATSDR 2014; Henschler 1990).

Fünf Tage nach der Schlundsondengabe von 1,2,3-, 1,2,4- bzw. 1,3,5-Trichlorbenzol (je 500 mg/kg KG) an Chinchilla-Kaninchen hatten die Tiere 78, 42 bzw. 32 % der applizierten Dosis als Trichlorphenole oder Konjugate ausgeschieden (Jondorf et al. 1955). Eine weite Verteilung von 1,3,5-Trichlorbenzol im Körper von Chinchilla-Kaninchen konnte nach oraler Dosisgabe von 500 mg/kg KG nachgewiesen werden: acht Tage nach Applikation wurden 23, 22 bzw. 13 % der

applizierten Dosis in Darm, Karkasse und Faeces sowie jeweils 5 % in Körperfett und Fell gefunden (Parke und Williams 1960).

Sprague-Dawley-Ratten erhielten oral 181,5 mg ¹⁴C-markiertes 1,2,4-Trichlorbenzol/kg KG an sieben aufeinanderfolgenden Tagen und wurden 16 Tage nachbeobachtet. Anfangs wurde die höchste Radioaktivitätsmenge in der Nebenniere detektiert. Elf Tage nach Applikation war hier keine Strahlung mehr nachweisbar. Einen Tag nach der Applikation am 7. Tag war die Radioaktivitätsmenge im Abdominalfett hoch (2033 dpm/g) und betrug 16 Tage nach Applikation etwa 400 dpm/g. Die entsprechenden Radioaktivitätsmengen in der Leber betragen 1075 dpm/g und 317 dpm/g. Mit dem Urin wurden 72 % der applizierten Dosis ausgeschieden, wobei noch 14 Tage nach der letzten Applikation Radioaktivität detektiert wurde. Nach dem 15. Tag wurde keine Radioaktivität mehr in den Faeces detektiert und insgesamt wurden über diesen Weg 4 % der applizierten Dosis ausgeschieden (Smith und Carlson 1980).

Sieben Gruppen zu je vier männlichen Charles-River-Ratten erhielten 10 mg ¹⁴C-markiertes 1,2,4-Trichlorbenzol via Schlundsonde. Jeweils eine Tiergruppe wurde nach 3, 6, 12, 24, 48, 72 bzw. 96 Stunden getötet und untersucht. Urin und Faeces wurden alle 24 Stunden gesammelt und analysiert. Nach drei Stunden wurden die höchsten Gewebekonzentrationen im Fett detektiert. Nach 24 Stunden waren im Verdauungstrakt noch 3,5 % der applizierten Radioaktivität vorhanden und in allen anderen Geweben nur noch 1 %. Es wurden ca. 80–90 % der applizierten Radioaktivität innerhalb von 24 Stunden mit dem Urin und etwa 10–20 % mit den Faeces ausgeschieden. In der gleichen Studie erhielten Gruppen von je zwei weiblichen Rhesusaffen eine einzelne orale Gabe von 10 mg 1,2,4-Trichlorbenzol/kg KG. Untersucht wurde nach 1, 2, 4, 6, 8, 12, 24, 48, 72 und 96 Stunden. Es wurden 56–73 % der applizierten Dosis mit dem Urin ausgeschieden. Die Verteilung in den Geweben war im Fett am höchsten und mit der Verteilung bei Ratten vergleichbar. Die Ausscheidung mit den Faeces betrug weniger als 4 % nach oraler Gabe, wohingegen mit dem Urin nach 24 Stunden 36–40 % und in einem Zeitraum von vier Tagen nach Dosisgabe 56–73 % ausgeschieden wurden (Smith et al. 1985).

In einer weiteren Studie mit ¹⁴C-1,2,4-Trichlorbenzol erhielten fünf männliche Wistar-Ratten eine orale Dosis von 50 mg/kg KG. In dieser Studie wurden zwölf und 24 Stunden nach Gabe hohe Radioaktivitätsmengen in Körperfett (81,33 bzw. 57,15 %) und Haut (15 bzw. 14 %) detektiert. Radioaktivitätsanteile an der applizierten Menge in Muskeln, Dünndarm und Leber betragen nach zwölf bzw. 24 Stunden 8,29 und 4,12 bzw. 4,66 und 3,69 bzw. 1,98 und 2,08 %. Im Laufe von sieben Tagen nahmen die Anteile in den Geweben ab und glichen sich untereinander an. Die Ratten schieden innerhalb von sieben Tagen 83 % der applizierten Menge aus (66 bzw. 17 % mit Urin und Faeces). Mit der Ausatemluft wurden nur 2,1 % ausgeschieden. Die Ausscheidungsmenge war generell drei Tage nach Dosisgabe am höchsten. In der gleichen Studie wurde beobachtet, dass die Radioaktivität in der Galle 45 % der applizierten Dosis entsprach. Die Autoren erklärten die Differenzen der Ausscheidung via Galle und Faeces mit einem enterohepatischen Kreislauf (Tanaka et al. 1986).

¹⁴C-markiertes 1,2,3-, 1,2,4- oder 1,3,5-Trichlorbenzol wurde je fünf männlichen Sprague-Dawley-Ratten (SD-Ratten) in einer Dosis von 10 mg/kg KG per Schlundsonde verabreicht. Bei allen drei Isomeren ließ sich bereits 30 Minuten nach Substanzgabe Radioaktivität in Blut und Geweben nachweisen. Die höchsten Konzentrationen von ¹⁴C-1,2,3-Trichlorbenzol stellten sich nach 24 Stunden im Verdauungstrakt, dem Körperfett, der Leber, der Niere und Blase ein. Sieben Tage nach Dosisgabe war keine Radioaktivität in Gehirn, Muskeln, Hoden und Samenbläschen mehr nachweisbar. Bei ¹⁴C-1,2,4-Trichlorbenzol stellten sich die höchsten Gewebekonzentrationen in Fett, Haut und Muskeln zwölf Stunden nach Dosisgabe ein. Sieben Tage danach war keine Radioaktivität in Gehirn, Milz, Muskeln, Hoden, Samenbläschen oder der Prostata mehr nachweisbar. In allen untersuchten Geweben mit Ausnahme der Nebenniere waren 28 Tage nach Dosisgabe keine Radioaktivitätsmengen über der natürlichen Hintergrundstrahlung mehr messbar. Bei ¹⁴C-1,3,5-Trichlorbenzol stellten sich die höchsten Gewebekonzentrationen 24 Stunden nach Dosisgabe ein. Die Gehalte waren im Körperfett am höchsten und waren geringer in Verdauungstrakt, Speicheldrüse, Niere, Nebenniere und Blase, Leber, Pankreas, Epidermis, Prostata, Haut und Lunge. In den Samenbläschen war die Konzentration am niedrigsten. Während nach Gabe von ¹⁴C-1,2,3- und ¹⁴C-1,2,4-Trichlorbenzol die Radioaktivität in den einzelnen Organen bis zum 7. Tag stetig bis zur Nachweisgrenze abfiel, war sie nach Gabe von ¹⁴C-1,3,5-Trichlorbenzol in allen Geweben höher und auch am 28. bzw. 56. Tag noch in signifikanten Mengen nachweisbar. Der Großteil der Radioaktivität in der Haut, Leber und dem Körperfett beruhte bei allen Isomeren auf der Ausgangssubstanz, wohingegen die Radioaktivität in Muskel und Niere mehrheitlich auf Metaboliten mit höherer Polarität basierte. Innerhalb von 24 Stunden wurden 92 % der applizierten Dosis des 1,2,3-Isomers mit dem Urin und den Faeces ausgeschieden. Die Gesamtausscheidung stieg innerhalb von 48 Stunden auf

95 % der applizierten Dosis an. Hierbei lagen nach 24 bzw. 48 Stunden 56 bzw. 59 % der ausgeschiedenen Radioaktivität im Urin vor. Vergleichbar hohe Mengen wurden bei der Ausscheidung von 1,3,5-Trichlorbenzol gemessen: 82 bzw. 89 % der applizierten Menge lagen nach 24 bzw. 48 Stunden in Urin und Faeces vor. Die mit dem Urin ausgeschiedene Radioaktivität betrug 47 bzw. 50 % der applizierten Dosis nach 24 bzw. 48 Stunden. Die Ausscheidungskinetik wurde mit einem Zwei-Kompartiment-Modell beschrieben, wobei die Halbwertszeiten im ersten Kompartiment 9, 12 bzw. 8 Stunden und die terminalen im zweiten Kompartiment 145, 93 bzw. 68 Stunden für 1,2,3-, 1,2,4- bzw. 1,3,5-Trichlorbenzol betragen. Die Berechnung ist jedoch limitiert, da nicht zu jedem Zeitpunkt der Messung der ausgeschiedenen Radioaktivität auch die Gehalte an Muttersubstanzen bzw. Metaboliten bestimmt wurden (Chu et al. 1987).

Die von Chu et al. (1987) beschriebene höhere Akkumulation von 1,3,5-Trichlorbenzol in Geweben von Ratten im Vergleich zu den anderen Isomeren wurde in weiteren Studien bestätigt. Hierzu wurden jeweils 130 männlichen und weiblichen Sprague-Dawley-Ratten in Gruppen zu jeweils zehn Tieren unterschiedliche Mengen von ¹⁴C-markiertem 1,3,5-, 1,2,4- oder 1,2,3-Trichlorbenzol mit dem Futter (jeweils 0, 10, 100 oder 1000 mg/kg) für 13 Wochen verabreicht. Hierbei war die Akkumulation von 1,3,5-Trichlorbenzol in der höchsten Dosisgruppe höher als die von 1,2,4- oder 1,2,3-Trichlorbenzol. Im Körperfett betragen die Konzentrationen nach Gabe von 1,3,5-Trichlorbenzol ca. 76 mg/kg für männliche Tiere und ca. 49 mg/kg für weibliche Tiere. Diese waren wiederum deutlich höher als die in der Leber verbliebenen Konzentrationen: ca. 4,3 mg/kg für männliche Tiere und ca. 1,9 mg/kg für weibliche Tiere. Generell trat eine dosisabhängige Akkumulation der Isomere im Körperfett in folgender Reihenfolge auf: 1,3,5-Trichlorbenzol > 1,2,4-Trichlorbenzol > 1,2,3-Trichlorbenzol (Côté et al. 1988).

Gallengangskaniulierte SD-Ratten schieden nach oraler Gabe von 5 mg ¹⁴C-markiertem 1,2,4-Trichlorbenzol innerhalb von 24 Stunden mehr als 60 % der applizierten Dosis mit der Galle und 21 % der applizierten Dosis mit dem Urin und 2 % mit den Faeces aus. Tiere ohne Gallengangskatheter schieden innerhalb von 24 Stunden 70 bzw. 9 % der applizierten Radioaktivität mit Urin und Faeces aus. Es wurde nachgewiesen, dass die Substanz einem enterohepatischen Kreislauf unterliegt (Bakke et al. 1992).

3.1.3 Dermale Gabe

Quantitative Informationen zur dermalen Resorption von Trichlorbenzol liegen nicht vor. In Tierstudien wurden systemisch toxische Effekte nach dermalen Applikation von 1,2,4-Trichlorbenzol bzw. eines 1,2,4-Trichlorbenzol-haltigen technischen Trichlorbenzolgemisches nachgewiesen (ATSDR 2014; Brown et al. 1994; Henschler 1990). Für die drei Trichlorbenzolisomere ist aufgrund ihrer ähnlichen physiko-chemischen Eigenschaften (u. a. Molmasse, log K_{OW}, Wasserlöslichkeit) davon auszugehen, dass diese sich in Bezug auf eine Aufnahme über die Haut ähnlich verhalten. Theoretische Modelle deuten auf eine dermale Resorbierbarkeit der Verbindungen hin. Aus einer gesättigten wässrigen Lösung ergeben sich mit den Modellen von Fiserova-Bergerova et al. (1990) bzw. IH SkinPerm (Tibaldi et al. 2014) Fluxe von 287,1 bzw. 6,35 µg/cm² und Stunde für das am besten penetrierende Isomer 1,2,4-Trichlorbenzol. Unter Annahme einer einstündigen Exposition von 2000 cm² Hautoberfläche würde dies Aufnahmemengen von 574,2 bzw. 12,7 mg 1,2,4-Trichlorbenzol entsprechen.

3.1.4 Intravenöse Gabe

Nach intravenöser Dosisgabe von 10 mg ¹⁴C-markiertem 1,2,4-Trichlorbenzol an weibliche Rhesusaffen und männliche Albino-Ratten wurden mit Urin und Faeces innerhalb von 24 Stunden von den Affen 22 bzw. 0 % ausgeschieden, wohingegen die Ratten 78 bzw. 7 % ausschieden (ATSDR 2014; Henschler 1990).

Sieben Gruppen zu je vier männlichen Charles-River-Ratten erhielten 10 mg ¹⁴C-markiertes 1,2,4-Trichlorbenzol intravenös. Jeweils eine Tiergruppe wurde nach 3, 6, 12, 24, 48, 72 bzw. 96 Stunden getötet und untersucht. Mit dem Urin wurden 83–86 % und mit den Faeces 12 % der applizierten Dosis im Lauf von 48 Stunden ausgeschieden. Höchste Radioaktivitätsmengen wurden nach sechs Stunden in Blutplasma, Leber und Nieren gefunden. Im Fettgewebe war die Radioaktivitätsmenge höher und persistenter als in anderen untersuchten Geweben (Leber, Niere). Somit wurde Radioaktivität auch noch nach 96 Stunden im Fett detektiert. Nach zwölf Stunden war die Radioaktivitätsmenge im Darmgewebe am höchsten, was laut der Autoren auf einen enterohepatischen Kreislauf hindeutet. In der gleichen Studie

erhielten Gruppen von je zwei weiblichen Rhesusaffen eine einzelne intravenöse Applikation von 10 mg 1,2,4-Trichlorbenzol/kg KG. Die Untersuchungszeiträume entsprachen 1, 2, 4, 6, 8, 12, 24, 48, 72 bzw. 96 Stunden. Es wurden ca. 38 % der applizierten Dosis mit dem Urin ausgeschieden und davon erfolgte die Ausscheidung von 22 % innerhalb der ersten 24 Stunden. Die Verteilung in den Geweben war erneut im Fett am höchsten und mit der bei Ratten vergleichbar. Es wurden somit nach intravenöser Gabe geringere Mengen und diese auch langsamer ausgeschieden als nach oraler Applikation (siehe [Abschnitt 3.1.2](#)). Dies wurde mit einer bevorzugten Verteilung der lipophilen Substanz im Fettgewebe nach intravenöser Applikation erklärt, da nach oraler Applikation in der Leber eine Umsetzung zu polaren Metaboliten erfolgt. Die Ausscheidung mit den Faeces betrug weniger als 4 % nach intravenöser Gabe (Smith et al. 1985).

3.1.5 Intraperitoneale Gabe

Gruppen von jeweils drei bis vier männlichen Wistar-Ratten erhielten eine einmalige intraperitoneale Dosis von 250 mg 1,2,4-Trichlorbenzol/kg KG (entspricht 1,36 mmol/kg KG). Die Halbwertszeit für 1,2,4-Trichlorbenzol in Blut, Leber und Niere betrug 5,8; 5,2 bzw. 6,2 Stunden. Die detektierten Konzentrationen von 1,2,4-Trichlorbenzol waren im Fettgewebe höher als in Blut, Leber oder Niere (Kato et al. 1993).

3.1.6 Fazit

In der Gesamtbetrachtung der Studiendaten lässt sich eine rasche Aufnahme und systemische Verteilung der Trichlorbenzole im Tiermodell feststellen. Es ist anzumerken, dass eine Aufnahme nach oraler Dosisgabe durch Nutzung lipophiler Vehikel wie Maiskeimöl gesteigert sein kann, da die Trichlorbenzole selbst lipophil sind. Dieses Phänomen wurde bereits für Hexachlorbenzol nachgewiesen (Koss und Koransky 1975). Gewebe mit den höchsten Konzentrationen sind das Körperfett, die Haut, Leber, Niere, Blase und der Verdauungstrakt. Die Akkumulation im Körperfett und in der Leber ist bei den drei Isomeren in folgender Reihenfolge ausgeprägt: 1,3,5-Trichlorbenzol > 1,2,4-Trichlorbenzol > 1,2,3-Trichlorbenzol. Im Fett waren die Gehalte im Durchschnitt eine Zehnerpotenz höher als in der Leber. Die Ausscheidung mit dem Urin beträgt 50–80 % der applizierten Radioaktivität innerhalb von 24 Stunden nach oraler Dosisgabe und lässt sich als Hauptweg der Exkretion aller Isomere feststellen. Der Ausscheidung mit den Faeces kommt eine untergeordnete Rolle zu. Die Ausscheidungskinetik nach oraler Gabe wurde mit einem Zwei-Kompartiment-Modell beschrieben, wobei die nicht einwandfrei bestimmten Halbwertszeiten im ersten Kompartiment 9, 12 bzw. 8 Stunden und im zweiten Kompartiment 145, 93 bzw. 68 Stunden für 1,2,3-, 1,2,4- und 1,3,5-Trichlorbenzol betragen. Die Halbwertszeiten für 1,2,4-Trichlorbenzol in Blut, Leber und Niere von Ratten nach intraperitonealer Gabe betragen 5,8; 5,2 bzw. 6,2 Stunden. Es konnte zudem ein enterohepatischer Kreislauf in Studien mit dem 1,2,4-Isomer nachgewiesen werden.

3.2 Metabolismus

Die Metabolismusschemata der Trichlorbenzole sind ergänzend zur Begründung aus dem Jahr 1990 (Henschler 1990) zusammenfassend in [Abbildung 1](#), [Abbildung 2](#) und [Abbildung 3](#) dargestellt.

3.2.1 In-vitro-Untersuchungen

Aus In-vitro-Untersuchungen mit humanen Mikrosomen ist bekannt, dass von den Enzymen des oxidativen Stoffwechsels CYP1A1, CYP1A2, CYP3A4, CYP2E1 und CYP2D6 die höchste Umsatzaktivität bei 1,2,4-Trichlorbenzol von CYP2E1 ausgeht. Gemäß dieser Studie wird 1,2,4-Trichlorbenzol bei Inkubation mit Mikrosomen aus 22 menschlichen Lebern, vornehmlich unter Beteiligung von CYP2E1, zu 2,4,5-, 2,3,5- und 2,3,4-Trichlorphenol über Arenoxide als Zwischenstufe umgewandelt. Die Bildung von 2,3,6-Trichlorphenol wurde auf die Beteiligung von CYP3A4 zurückgeführt (Bogaards et al. 1995).

1,2,4-Trichlorbenzol wurde mit Lebermikrosomen männlicher Ratten inkubiert, welche zuvor mit Dexamethason behandelt wurden. Es wurde neben der Bildung von verschiedenen Trichlorphenolen auch eine Bildung von Trichlorhydrochinonen nachgewiesen. Letztere banden an die mikrosomalen Proteine und die Konversion als auch die Proteinbindung der Metaboliten wurden durch CYP katalysiert. Folglich konnten diese enzymatischen Reaktionen durch

Entzug von NADPH und den Einsatz des Inhibitors Metyrapon inhibiert werden. Zudem wurde die Proteinbindung durch Glutathionzugabe nahezu vollständig verhindert und es wurden wasserlösliche Metaboliten gebildet. Aufgrund der Induktion mittels der Dexamethasongabe wurde vornehmlich 2,3,6-Trichlorphenol gebildet. Ohne vorherige Dexamethasongabe wurde vornehmlich 2,4,5-Trichlorphenol gebildet. 2,4,6-Trichlorphenol wurde in geringerer Menge gebildet, 2,3,4- und 2,3,5-Trichlorphenol konnten nur in Spurenkonzentrationen gefunden werden (den Besten et al. 1991 a). Die Bildung der Chinone wurde auf eine weitere Oxidation der phenolischen Intermediate zurückgeführt (den Besten et al. 1991 a, b).

3.2.2 In-vivo-Untersuchungen

Die beschriebenen Daten aus Tierversuchen beruhen auf Untersuchungen zum Metabolismus nach oraler, intraperitonealer bzw. intravenöser Aufnahme. Eine oxidative Bildung von Zwischenstufen (Arenoxiden), die zu phenolischen Metaboliten umgewandelt und folgend konjugiert werden, ist bei allen Isomeren plausibel.

Produkte der Verstoffwechslung aller drei Trichlorbenzolisomere in Chinchilla-Kaninchen waren nach einmaliger oraler Dosisgabe von 500 mg/kg KG vornehmlich 2,3,4-Trichlorphenol sowie 3,4,5-Trichlorphenol und 3,4,5-Trichlorcatechol. Nach fünf Tagen lagen 62 % der applizierten Radioaktivität im Urin in der Form konjugierter Metaboliten vor, 4 % als freie Trichlorphenole. 1,2,4-Trichlorbenzol wurde vornehmlich zu 2,4,5- und 2,3,5-Trichlorphenol umgewandelt, und 38 % der Dosis lagen als Konjugate vor, 1,5 % als freie Trichlorphenole. 1,3,5-Trichlorbenzol wurde gemäß dieser Studie nur zu 2,4,6-Trichlorphenol umgewandelt und nur 23 % der Dosis lag konjugiert im Urin vor, 0,5 % als freies Trichlorphenol (Jondorf et al. 1955). In einer weiteren Studie an Kaninchen mit 1,3,5-Trichlorbenzol wurde 2,4,6-Trichlorphenol in den ersten vier Tagen nach Applikation (500 mg/kg KG per Schlundsonde) im Urin ausgeschieden und bis zum neunten Tag nach Applikation lag auch 4-Chlorphenol als Metabolit dort vor (Parke und Williams 1960).

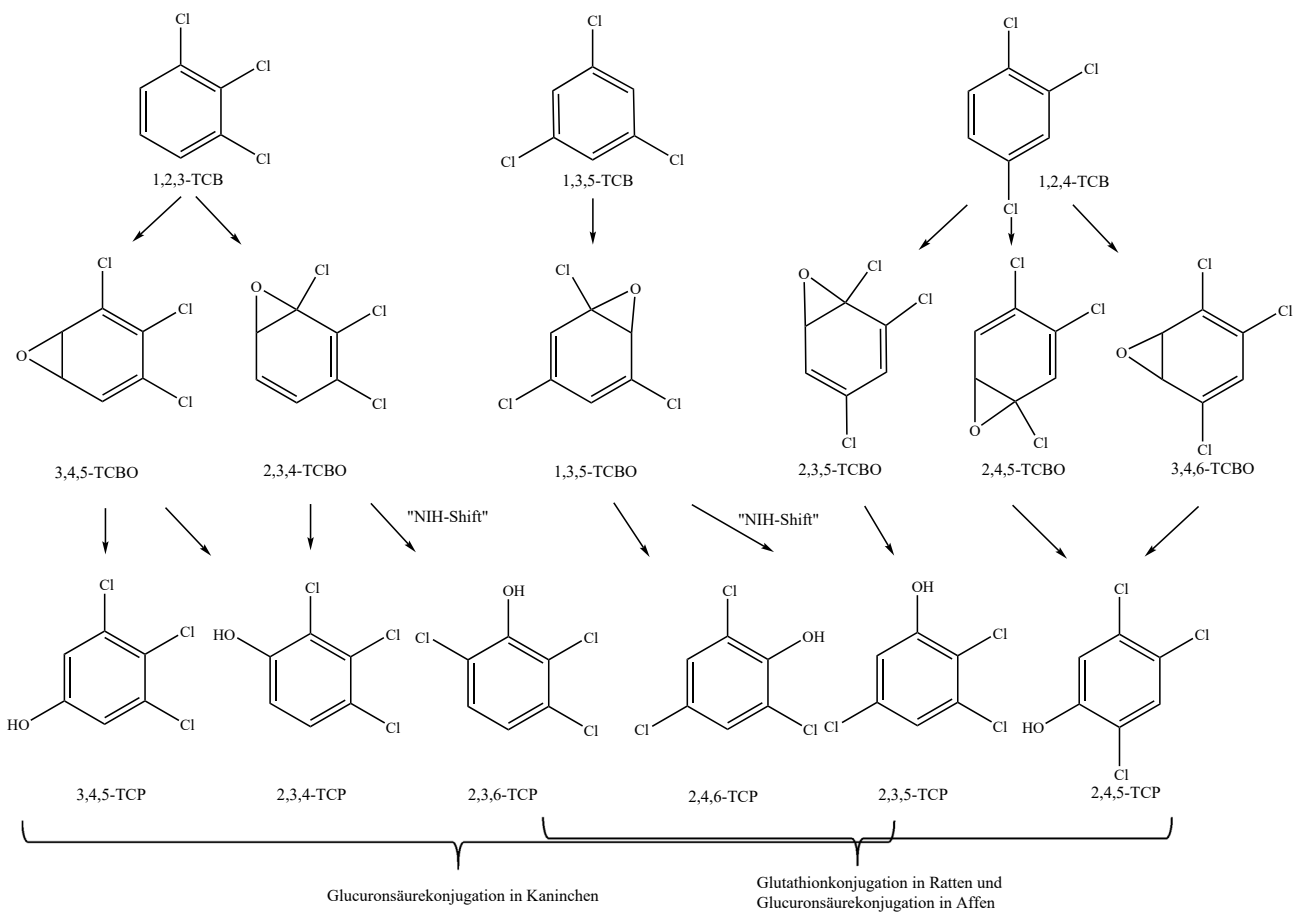
Nach einmaliger intraperitonealer Dosis von 300 mg 1,2,3-Trichlorbenzol/kg KG wurden bei männlichen Kaninchen folgende Metaboliten im Urin identifiziert: 2,3,4-, 2,3,6- sowie 3,4,5-Trichlorphenol. Nach einer gleich hohen Dosis von 1,2,4-Trichlorbenzol wurden 2,3,5- und 2,4,5-Trichlorphenol als Metaboliten im Urin identifiziert und nach Gabe von 1,3,5-Trichlorbenzol 2,3,5- und 2,4,6-Trichlorphenol detektiert. Hierbei wurde aus 1,2,4-Trichlorbenzol ca. 4-mal mehr 2,3,5-Trichlorphenol gebildet als nach der Gabe von 1,3,5-Trichlorbenzol (Kohli et al. 1976). Alle Metaboliten wurden chromatographisch getrennt und auch massenspektrometrisch identifiziert. Da der Urin bei Extraktion angesäuert wurde, können die detektierten Metaboliten vormals als Konjugate vorgelegen haben.

Speziesunterschiede im Metabolismus wurden sowohl nach oraler als auch intravenöser Dosisgabe von 10 mg ¹⁴C-markiertem 1,2,4-Trichlorbenzol/kg KG an weibliche Rhesusaffen und männliche Albino-Ratten nachgewiesen. Beim Affen wurde als Hauptmetabolit im Urin ein isomeres Paar von 3,4,6-Trichlor-3,5-cyclohexadien-1,2-diol-Glucuronid (48–61 % der im Urin ausgeschiedenen Radioaktivität) neben 2,4,5- und 2,3,5-Trichlorphenol-Glucuronid (14–37 % der im Urin ausgeschiedenen Radioaktivität) und freien Trichlorphenolen (1–37 % der im Urin ausgeschiedenen Radioaktivität) innerhalb von 24 Stunden gefunden. Bei der Ratte waren nach oraler und i.v. Applikation die beiden 2,4,5- und 2,3,5-Isomere des N-Acetyl-S-(trichlorphenyl)-L-cystein die Hauptmetaboliten (60–62 % der im Urin ausgeschiedenen Radioaktivität). Ebenso wurden 2,4,5- und 2,3,5-Trichlorthiophenol (etwa 28 % der im Urin ausgeschiedenen Radioaktivität nach i.v. und 33 % nach oraler Verabreichung) sowie 2,4,5- und 2,3,5-Trichlorphenol (10 % i.v., 1 % oral) im Urin nachgewiesen. Die Daten lassen darauf schließen, dass in der Ratte Glutathion und im Rhesusaffen Glucuronsäure die vornehmlichen Konjugationspartner der Metaboliten sind (ATSDR 2014; Henschler 1990). Nach der Konjugation mit Glutathion erfolgt ein weiterer Abbau zu Thioethern und Umwandlungen zu Methylsulfoxiden und Methylsulfonen.

Auch nach der einmaligen oralen Dosis von 50 mg 1,2,4-Trichlorbenzol/kg KG wurden im Urin der Ratte vor allem konjugierte Metaboliten (90 %) gefunden. Es wurden 2,4,5- und 2,3,5-Trichlorphenol in freier und gebundener Form nachgewiesen, neben geringen Mengen 5- und 6-Sulphydryl-, Methylthio-, Methylsulfoxid- und Methylsulfon-Derivaten des 1,2,4-Trichlorbenzols. Kleine Mengen unverändertes 1,2,4-Trichlorbenzol sowie o-, m- und p-Dichlorbenzol (wahrscheinlich durch Darmbakterien dechloriert) wurden in der Atemluft gefunden. In den Faeces wurde unverändertes 1,2,4-Trichlorbenzol nachgewiesen (Tanaka et al. 1986). In-vitro-Versuche zeigten bereits, dass Darmbakterien 1,2,4-Trichlorbenzol zu Di- und Monochlorbenzolen abbauen können (Tsuchiya und Yamaha 1984).

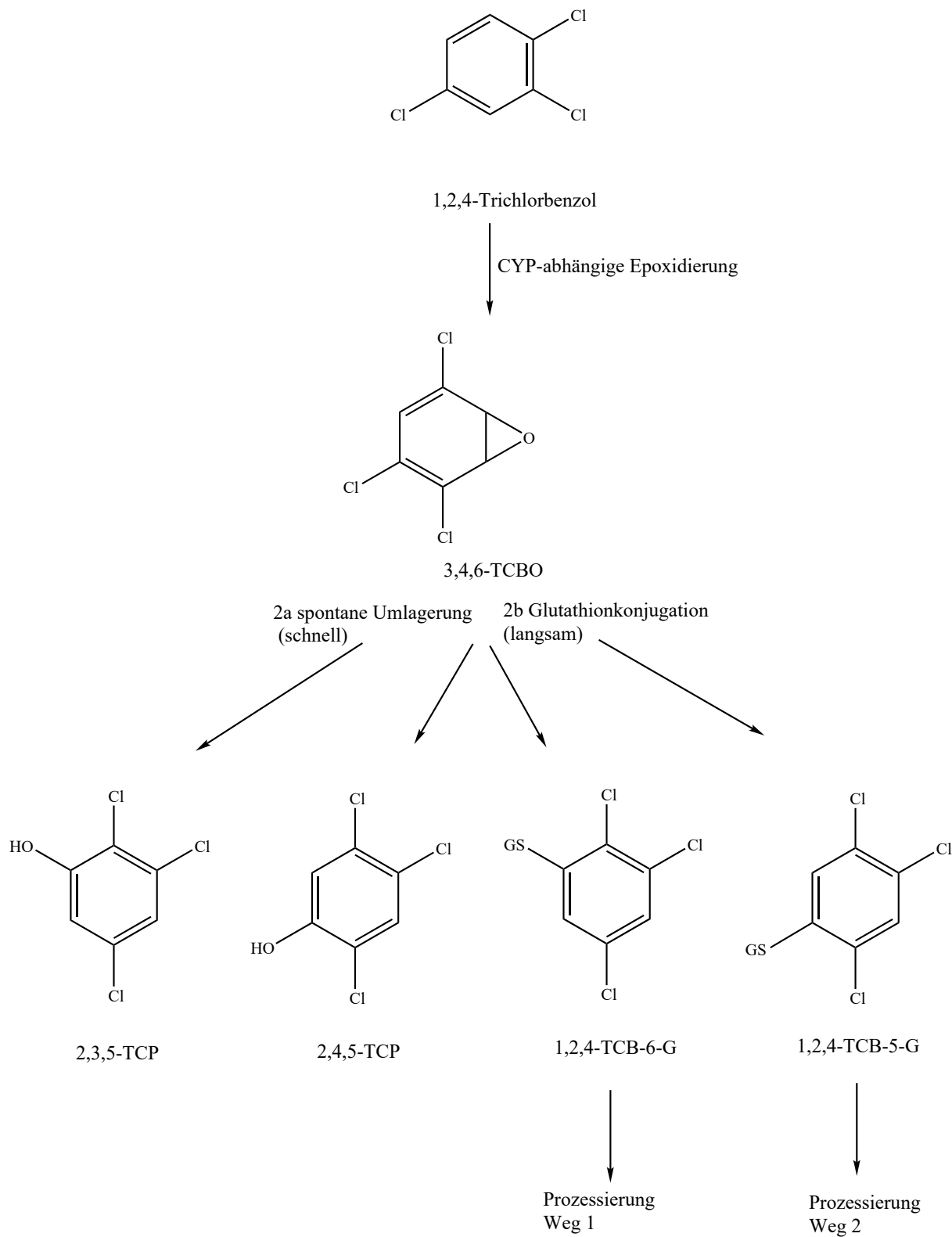
Nach intraperitonealer Verabreichung von 1,3,5-Trichlorbenzol an Mäuse wurden im Fettgewebe dichlorierte Mercapto-, Methylthio-, Methylsulfinyl- und Methylsulfonyl-Metaboliten gefunden, im Urin Mercapto-, Methylsulfid-, Methylsulfoxid-, Methylsulfon- sowie o-Hydroxymercapto-, o-Hydroxymethylsulfid-, -sulfoxid- und -sulfon-Metaboliten. Als Mechanismus der Dechlorierung wird der Ersatz eines Chlor- durch ein Schwefelatom postuliert (Mio und Sumino 1985).

In den Ausscheidungsprodukten von mit Gallenkatheter versehenen SD-Ratten wurden folgende Metaboliten nach Exposition gegen 5 mg 1,2,4-Trichlorbenzol identifiziert, die ebenfalls auf eine Glutathionkonjugation nach vorheriger Bildung phenolischer Metaboliten hindeuten: S-(Trichlorphenyl)-N-(acetyl)cystein war der Hauptmetabolit, wohingegen S-(Dichlorhydroxyphenyl)-N-(acetyl)cystein, ebenfalls eine Mercaptursäure, Trichlorthiophenol und Trichlorphenol in geringerer Menge ausgeschieden wurden. In der Galle lag mehr Trichlorthiophenol als Metabolit vor als im Urin. Trichlorthiophenole wurden wahrscheinlich durch die Darmflora im enterohepatischen Kreislauf gebildet (Bakke et al. 1992).



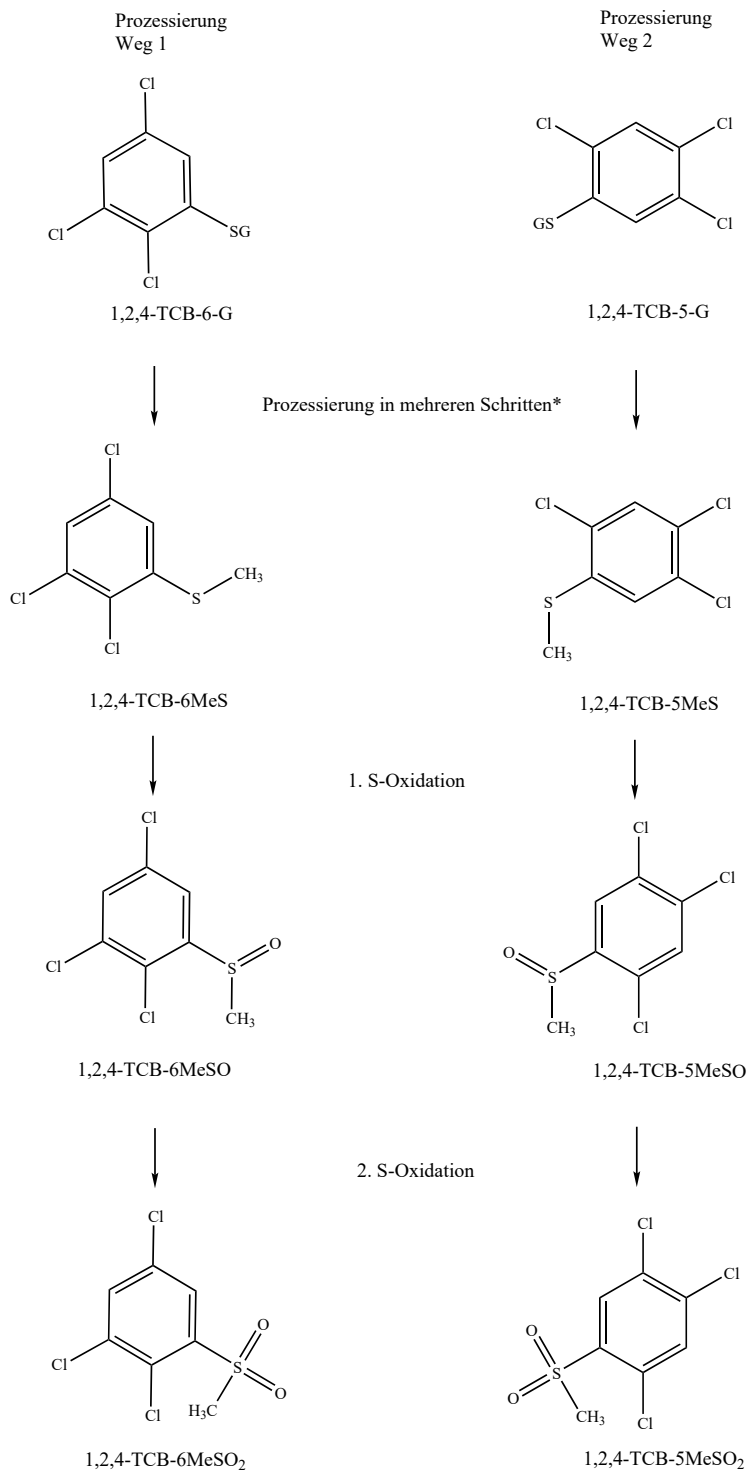
TCB: Trichlorbenzol; TCBO: Trichlorbenzolepoxid; TCP: Trichlorphenol

Abb. 1 Postuliertes Metabolismusschema von 1,2,3-, 1,2,4- und 1,3,5-Trichlorbenzol (nach ATSDR 2014)



TCBO: Trichlorbenzolepoxid; TCP: Trichlorphenol; TCB-G: Trichlorbenzol-Glutathion-Addukt

Abb. 2 Postuliertes Metabolismusschema von 1,2,4-Trichlorbenzol nach i.p. Verabreichung an Ratten (nach Kato et al. 1993 und Bakke et al. 1992)



*Mehrschrittprozessierung: Stufenweise Abbau der Glutathionfunktion über

- Glutamat-Abspaltung,
- Glycin-Abspaltung,
- Cysteinabspaltung unter Erhalt der Thiolgruppe,
- S-Methylierung

TCB: Trichlorbenzol; TCB-G: Trichlorbenzol-Glutathion-Addukt; TCB-MeS: Trichlorphenylmethylsulfid; TCB-MeSO: Trichlorphenylmethylsulfoxid; TCB-MeSO₂: Trichlorphenylmethylsulfon

Abb. 3 Postuliertes Metabolismusschema der Prozessierung von 1,2,4-Trichlorbenzol nach Glutathionkonjugation in Ratten (nach Kato et al. 1993 und Bakke et al. 1992)

Dies wurde in einer späteren Untersuchung bestätigt, da nach Vorbehandlung von Ratten mit einem Antibiotikum die Bildung von 2,3,5-Trichlorphenylmethylsulfon deutlich reduziert war. In der Studie wurde jeweils drei bis vier männlichen Wistar-Ratten an fünf aufeinanderfolgenden Tagen eine Dosis von 400 mg 1,2,4-Trichlorbenzol/kg KG oral verabreicht. In alkalisierten Urinproben wurden folgende Metaboliten detektiert und identifiziert: 2,3,5- und 2,4,5-Trichlorphenylmethylsulfid, 2,3,5- und 2,4,5-Trichlorphenylmethylsulfoxid sowie 2,3,5- und 2,4,5-Trichlorphenylmethylsulfon. Weitere Tiergruppen erhielten die Substanz intraperitoneal in einer einmaligen Dosis von 250 mg/kg KG (entspricht 1,36 mmol/kg KG). In Körperfett, Leber, Niere und Blut wurden kleinere Mengen der Metaboliten 2,3,5- und 2,4,5-Trichlorphenylmethylsulfon detektiert, wobei das erst genannte auch noch 120 Stunden nach Dosisgabe in diesen Organen detektierbar war. Dies wird mit der hohen Lipophilie des Metaboliten und einer kontinuierlichen Neubildung aufgrund einer Metabolisierung von im Körperfett verbliebenem 1,2,4-Trichlorbenzol erklärt. Es wurde somit für das 1,2,4-Isomer nachgewiesen, dass nach der Konjugation mit Glutathion ein weiterer Abbau zu Thioethern und Umwandlungen zu Methylsulfoxiden und Methylsulfonen erfolgen kann. Dies verläuft über einen stufenweisen Abbau des Glutathionylrests über Glutamat-Abspaltung, Glycin-Abspaltung, Cysteinabspaltung unter Erhalt der Thiolgruppe und eine S-Methylierung mit folgender Schwefeloxidation (Kato et al. 1993).

In Versuchen mit Wistar-Ratten wurden die Tiere entweder mit Buthioninsulfoximin (zweimalige subkutane Injektion in Kochsalzlösung mit einem Zeitintervall von sechs Stunden) vorbehandelt oder verblieben ohne Vorbehandlung. Anschließend erhielten die Tiere eine Injektion von 1,2,4-Trichlorbenzol oder der Metaboliten 2,3,5- bzw. 2,4,5-Trichlorphenylmethylsulfon. Es wurde festgestellt, dass in vorbehandelten Ratten geringere Konzentrationen der Methylsulfonmetaboliten in der Leber vorlagen als in nicht vorbehandelten Tieren. Da Buthioninsulfoximin-Vorbehandlung zu einer Reduktion des Glutathiongehalts in der Leber führt, unterstützen diese Resultate die Annahme, dass die Bildung von Methylsulfonmetaboliten aus den Trichlorbenzolen nach einer vorherigen Konjugation mit Glutathion erfolgt. Zudem wurde in den Versuchen festgestellt, dass 1,2,4-Trichlorbenzol die Hämoxygenase, aber nicht die δ -Aminolävulinatsynthase in den vorbehandelten Tieren induzierte, wohingegen nach Applikation von 2,3,5-Trichlorphenylmethylsulfon die δ -Aminolävulinatsynthase aktiviert wurde. Dies lässt den Schluss zu, dass 2,3,5-Trichlorphenylmethylsulfon maßgeblich an der Induktion der δ -Aminolävulinatsynthase beteiligt ist, wohingegen die Hämoxygenase vornehmlich durch 1,2,4-Trichlorbenzol aktiviert wird (Kato und Kimura 2002).

3.2.3 Fazit

Für das 1,2,4-Isomer wurde nachgewiesen, dass es hauptsächlich durch CYP2E1 oxidiert wird. Aus allen drei Trichlorbenzolisomeren werden nach initialer Bildung von Arenoxiden polare phenolische Zwischenstufen gebildet. Die phenolischen Intermediate, die sich je nach metabolisiertem Isomer unterscheiden können, werden in Phase II des Metabolismus mit Glutathion, Glucuronsäure oder Sulfat speziesabhängig konjugiert. Für das 1,2,4-Isomer wurde bei der Ratte nachgewiesen, dass nach der Konjugation mit Glutathion ein weiterer Abbau zu Thioethern und Umwandlungen zu Methylsulfoxiden und Methylsulfonen (2,3,5- und 2,4,5-Trichlorphenylmethylsulfon) erfolgen können. Ein Nachweis des vermutlich entscheidenden Metaboliten 2,3,5-Trichlorphenylmethylsulfon liegt für 1,2,3- und 1,3,5-Trichlorbenzol nicht vor. Bei letzterem Stoff treten im Metabolismus der Maus ebenfalls schwefelhaltige Metaboliten wie Methylsulfone auf, es erfolgt jedoch bei der Maus eine Dechlorierung zu Dichlorverbindungen durch Glutathionkonjugation an einer Chlorposition.

4 Erfahrungen beim Menschen

Die Geruchsschwelle für 1,2,4-Trichlorbenzol liegt zwischen 1,4 und 3 ml/m³ (EC 2003). Es liegen unveröffentlichte Berichte bzw. eine persönliche Mitteilung vor, die von leichten Augen- und Atemwegsreizungen von Industriearbeitern berichten, die bei Exposition gegen 3–5 ml 1,2,4-Trichlorbenzol/m³ (23–37 mg 1,2,4-Trichlorbenzol/m³) auftraten (EC 2003; Henschler 1990). Von einer blutschädigenden Wirkung nach Inhalation von Trichlorbenzol (Isomer nicht spezifiziert) wurde in der Begründung aus dem Jahr 1990 bereits berichtet (Henschler 1990). Zudem litt ein männlicher Erwachsener, der mehrere Stunden lang Trichlorbenzol (k. w. A.) bei Reparaturarbeiten inhalierte nachfolgend an einer massiven Hämoptyse. Weiterhin kam es bei Produktionsarbeitern nach Exposition gegen Trichlorbenzol (k. w. A.) zu

Chlorakne (ATSDR 2014). In keinen der genannten Studien bzw. Unfallberichten liegen Informationen zur Charakterisierung des Isomers, der Expositionskonzentration oder detaillierte Daten zu den exponierten Personen vor. Sie sind somit nur sehr eingeschränkt für eine Bewertung geeignet.

Eine für Hexachlorbenzol berichtete adverse Wirkung auf den Menschen besteht in einer ausgeprägten Lebertoxizität und der Verursachung von Porphyrie (Peters et al. 1987). Auch für Hexachlorbenzol wird eine Störung des Porphyrinstoffwechsels im Tierversuch beobachtet (Greim 2002 a). Diese tritt auch bei Exposition gegen Trichlorbenzole bei Ratten auf. Somit ist auch bei einer Exposition gegen höhere Dosen von Trichlorbenzolen eine derartige Wirkung auf den Menschen zu vermuten (ATSDR 2014). Studien dazu sind jedoch nicht bekannt.

5 Tierexperimentelle Befunde und In-vitro-Untersuchungen

5.1 Akute Toxizität

Informationen zur akuten Toxizität und LD₅₀-Werte für verschiedene Tierspezies sind in der Begründung aus dem Jahr 1990 zusammengefasst. Insgesamt liefert die Datenlage Hinweise dafür, dass 1,2,4-Trichlorbenzol toxischer wirkt als 1,2,3- bzw. 1,3,5-Trichlorbenzol und die akute toxische Wirkung aller Trichlorbenzole vor allem Leber und Nieren sowie die Nebennieren und Schleimhäute betrifft (Henschler 1990). Die LD₅₀-Werte liegen bei oraler Exposition gegen 1,2,3-Trichlorbenzol bei 1830 mg/kg KG für die Ratte sowie bei 1390 mg/kg KG für die Maus bei intraperitonealer Injektion. Für das 1,2,4-Isomer liegen die oralen LD₅₀-Werte in einem Bereich von 756–880 mg/kg KG für die Ratte bzw. 300–766 mg/kg KG für die Maus. Nach intraperitonealer Gabe liegen diese bei 1223 mg/kg KG für die Maus und nach perkutaner Applikation bei 6139 mg/kg KG für die Ratte. Für das 1,3,5-Trichlorbenzol liegt der LD₅₀-Wert bei oraler Aufnahme in einem Bereich von 1800–2800 mg/kg KG für die Ratte und bei 3550–3402 mg/kg KG für die Maus. Nach intraperitonealer Injektion beträgt er 2260 mg/kg KG für die Maus (Henschler 1990). Die Angaben zur akuten Toxizität bei Gabe von Lösungsvermittlern wie Lutrol oder Chremophor sind nicht erneut aufgeführt. Für das 1,3,5-Trichlorbenzol liegen ebenso Angaben einer oralen LD₅₀ der Ratte von 800 mg/kg KG vor (NCBI 2020 b).

Ratten (k. w. A.) wurden nur über den Kopf für eine Stunde gegen 1,3,5-Trichlorbenzol-gesättigten Dampf mit einer Konzentration von 1209 ml/m³ exponiert. Es kam bei je acht männlichen und weiblichen Ratten weder während der Exposition noch in der zweiwöchigen Nachbeobachtungszeit zu Todesfällen. Lediglich leichte Reizungen der Augenpartien und verringerte Körpergewichtszunahme während der Nachbeobachtungszeit wurden als substanzbedingt angesehen (Jorgenson et al. 1976).

Gruppen von drei männlichen 10–14 Wochen alten Wistar-Ratten erhielten eine einmalige intraperitoneale Injektion von 1, 2 oder 4 mmol 1,2,4-Trichlorbenzol/kg KG (gelöst in Erdnussöl). Dies entspricht 181,5; 362,9 bzw. 725,8 mg 1,2,4-Trichlorbenzol/kg KG. Kontrolltiere erhielten Injektionen reinen Erdnussöls. Nach regelmäßiger Untersuchung von Blut (24, 48 und 72 Stunden nach Applikation), Körpergewichten und Auffälligkeiten (täglich) wurden die Tiere 72 Stunden nach Applikation getötet, Leber und Nieren gewogen und histopathologisch untersucht. Zudem wurden je vier männlichen Ratten einmalig 181,5 oder 362,9 mg 1,2,4-Trichlorbenzol/kg KG intraperitoneal injiziert. Diese Tiere wurden erst nach 216 Stunden (neun Tagen) getötet und untersucht. Zwischenzeitlich wurden Blutparameter (alle 24 Stunden) und Körpergewichte täglich erhoben. Leber und Nieren wurden histopathologisch untersucht. Zudem wurde je drei männlichen Ratten eine Dosis von 725,8 mg 1,2,4-Trichlorbenzol/kg KG einmalig intraperitoneal injiziert. Die Tiere wurden 0, 2, 5, 10, 24 oder 48 Stunden nach Applikation getötet, ihre Leber und Nieren homogenisiert und der Glutathiongehalt gemessen. Nicht exponierte Kontrolltiere wurden ebenfalls in dieser Weise untersucht. Zudem erhielten drei männliche Ratten 181,5 mg 1,2,4-Trichlorbenzol/kg KG und wurden ebenso wie Kontrolltiere 0 und 8 Stunden nach Applikation gleichfalls auf den Glutathiongehalt der Leber und Nieren untersucht. Alle exponierten Tiere wiesen 72 Stunden nach Applikation erniedrigte Körpergewichte und erhöhte Lebergewichte auf. Dieser Effekt war auch neun Tage nach Applikation noch statistisch signifikant. Die Aktivität der Alaninaminotransferase im Plasma der exponierten Ratten war dosisabhängig erhöht. Zwei Stunden nach Injektion war der Glutathiongehalt der Leber exponierter Tiere erniedrigt. Dieser Effekt verstärkte sich bis zu fünf Stunden nach Applikation. Nach 72 Stunden wurden in den Lebergeweben

zentrilobuläre Hypertrophien und Zelldegenerationen, Nekrosen und Zellproliferationen in den mittleren und hohen Dosisgruppen festgestellt. Es wurden Nierenschädigungen (tubuläre Degeneration, Dilatationen) bei Exposition gegen 725,8 mg/kg KG und Nephrosen bei Exposition gegen 362,9 mg 1,2,4-Trichlorbenzol/kg KG festgestellt. Nach 72 Stunden wurden in den Epithelzellen der proximalen Tubuli Proteintröpfchen detektiert. Zudem wurden statistisch signifikant geringere Thyroxingehalte im Blutplasma der exponierten Tiere bis 24 Stunden nach Exposition festgestellt. In der höchsten Dosisgruppe von 725,8 mg/kg KG trat der Effekt bereits nach fünf Stunden auf (den Besten et al. 1991 b).

5.2 Subakute, subchronische und chronische Toxizität

5.2.1 Inhalative Aufnahme

Daten zu Effekten nach inhalativer Aufnahme sind in der Begründung aus dem Jahr 1990 dargestellt (Henschler 1990). Im Folgenden werden die Studien neu zusammengefasst und um weitere Studienergebnisse ergänzt.

In einer Studie wurden vier männliche und vier weibliche Alderley-Park-Ratten für sechs Stunden am Tag gegen 20 ml 1,2,4-Trichlorbenzol/m³ 20 Tage bzw. jeweils zwei männliche und weibliche Ratten gegen 70 oder 200 ml 1,2,4-Trichlorbenzol/m³ 15 Tage lang exponiert. Das verwendete 1,2,4-Trichlorbenzol war bis zu 20 % mit 1,2,3-Trichlorbenzol verunreinigt. Die Exposition gegen 70 oder 200 ml/m³ führte zu Lethargie, verringerten Körpergewichtszunahmen und Tränenfluss, aber nicht zu histologischen Veränderungen in Lunge, Herz, Darm, Nebenniere, Milz oder Thymusdrüse (Gage 1970).

Eine Exposition von Cynomolgus-Affen (neun männliche Tiere je Gruppe), Sprague-Dawley-Ratten (30 männliche Tiere je Gruppe) und Kaninchen (Neuseeländer-Kaninchen, 16 männliche Tiere je Gruppe) für sieben Stunden pro Tag an fünf Tagen je Woche für einen Zeitraum von 26 Wochen erfolgte gegen 0, 25 oder 100 ml 1,2,4-Trichlorbenzol/m³. Die Reinheit der Testsubstanz betrug 99 %. Die Exposition führte zu leichten histopathologischen Veränderungen in der Leber und den Nieren der Ratten nach vier bzw. 13 Wochen, aber nicht nach 26 Wochen Exposition. Es wurden in allen exponierten Ratten zunehmende Hepatozytomegalien mit konzentrationsabhängigem Schweregrad festgestellt, aber keine Wirkungsverstärkung mit der Zeit beobachtet. Zudem traten in diesen Tieren nicht konzentrationsabhängige Vakuolisierungen der Hepatozyten und eine erhöhte Inzidenz von Granulomen nach vier Wochen auf. In den Nieren der Ratten zeigten sich hyaline Degenerationen der inneren Kortextzone, die jedoch nur ab der 13. Woche bei der höchsten Konzentration verstärkt auftraten. Die anderen untersuchten Tierspezies zeigten keine toxischen Effekte. Am Atemtrakt der drei Spezies wurde bei der histopathologischen Untersuchung keine reizende Wirkung festgestellt. Ergebnisse der Lungenfunktionstests der exponierten Affen waren vergleichbar mit denen der Kontrolltiere. Ebenso wurden keine verhaltenstoxischen Effekte beobachtet (Coate et al. 1977).

In einer Inhalationsstudie wurden 20 männliche Sprague-Dawley-Ratten, zwei männliche Beagle-Hunde und vier männliche Neuseeländer-Kaninchen gegen 0, 30 oder 100 ml 1,2,4-Trichlorbenzol/m³ exponiert. Die Reinheit der Testsubstanz betrug mehr als 99 %. Die Exposition erfolgte für sieben Stunden pro Tag an fünf Tagen in der Woche, 44 Tage lang. Es wurden bei Ratten um ca. 11 % erhöhte relative und absolute Lebergewichte und bei den Hunden um ca. 27–30 % erhöhte relative und absolute Lebergewichte jeweils in der höchsten Konzentrationsgruppe festgestellt. Bei den Ratten wurden in dieser Konzentrationsgruppe auch um ca. 8 % erhöhte relative und absolute Nierengewichte beobachtet. Nach 15 und 30 Tagen wurde der Urin der Tiere untersucht und es wurden bei Ratten bei Exposition gegen 30 bzw. 100 ml/m³ erhöhte Koproporphyrin- und Uroporphyringehalte gemessen. Es wurde keine Wirkungsverstärkung dieses Effekts mit der Zeit festgestellt. Der Effekt wurde auf Enzyminduktionen in der Leber zurückgeführt. Es konnten keine weiteren substanzbasierten Effekte auf andere Organe, inklusive dem Atemtrakt bzw. der Nasenschleimhaut, und auf hämatologische und biochemische Parameter bei Ratten, Kaninchen und Hunden festgestellt werden (Kociba et al. 1981).

Diese Resultate wurden in einer weiteren Studie überprüft, welche der Kommission im Jahr 1990 nicht vollständig zur Bewertung vorlag. In dieser wurden jeweils zehn männliche und 26 weibliche Sprague-Dawley-Ratten gegen 0, 3 oder 10 ml 1,2,4-Trichlorbenzol/m³ für sechs Stunden am Tag, fünf Tage pro Woche, drei Monate lang exponiert (65–66 Expositionen insgesamt). Die Reinheit der Testsubstanz betrug mehr als 99 %. Zwischentötungen von vier bis

fünf weiblichen Tieren aus jeder Konzentrationsgruppe wurden nach zwei Wochen, ein, zwei und drei Monate unter Exposition sowie zwei und vier Monate nach Expositionsende durchgeführt und der Porphyringehalt in der Leber untersucht. Urin wurde zu gleichen Zeitintervallen gesammelt und analysiert (Koproporphyrin-, Uroporphyrin- und Kreatiningehalt). Nach Versuchsende wurden alle Tiere getötet und Gehirn, Nieren, Leber und Lunge makroskopisch untersucht. Als einziger substanzbasierter Effekt wurden nach Expositionsende statistisch signifikant zunehmende Porphyringehalte im Urin der Tiere gemessen, welche gegen 10 ml/m^3 exponiert waren. Dieser Effekt trat bereits nach zwei Wochen auf und verstärkte sich nicht weiter innerhalb der dreimonatigen Expositionszeit. Da vier Monate nach Expositionsende keine erhöhten Porphyringehalte mehr im Urin der Tiere gemessen wurden, wurde der Effekt als reversibel bezeichnet. Alle untersuchten Organe der Tiere verblieben bei Nekropsie ohne Befund. Die Autoren sahen im Vergleich zu bisherigen Studiendaten zur inhalativen bzw. oralen Exposition gegen 1,2,4-Trichlorbenzol, insbesondere zu den Daten der Studie von Kociba et al. (1981), die Störung des Porphyrinstoffwechsels als den zeitlich frühesten und empfindlichsten Effekt in der adversen Wirkfolge an. Dieser Effekt wurde nur bei Ratten untersucht. Die weiteren toxischen Wirkungen von 1,2,4-Trichlorbenzol im Tiermodell (Leberenzyminduktion, Gewebeschäden, Leberhypertrophie und erhöhtes Lebergewicht) treten erst später bzw. bei höheren Konzentrationen auf. Die Autoren leiteten eine NOAEC für die empfindlichste Spezies (Ratte) von $3 \text{ ml } 1,2,4\text{-Trichlorbenzol/m}^3$ ab. Die LOAEC betrug $10 \text{ ml } 1,2,4\text{-Trichlorbenzol/m}^3$ (Dow Chemicals Company 1977; US EPA 2009 b). Die Befunde zur Störung des Porphyrinstoffwechsels sind in [Tabelle 1](#) dargestellt.

Tab. 1 Porphyrinausscheidung im 24-Stunden-Urin von Sprague-Dawley-Ratten nach 3-monatiger inhalativer Exposition gegen 1,2,4-Trichlorbenzol (Dow Chemicals Company 1977; US EPA 2009 b)

Parameter	Geschlecht	Konzentration (ml/m^3)		
		0	3	10
Koproporphyrinausscheidung (μg)	♂	$6,1 \pm 3,4$	$8,5 \pm 5,4$	$11,4 \pm 5,9^*$
	♀	$5,3 \pm 3,4$	$2,4 \pm 0,5$	$3,1 \pm 1,0$
Uroporphyrinausscheidung (μg)	♂	$1,3 \pm 1,0$	$2,2 \pm 1,7$	$4,1 \pm 2,4^*$
	♀	$0,6 \pm 0,3$	$0,7 \pm 0,1$	$1,0 \pm 0,2^*$
Koproporphyrinausscheidung ($\mu\text{g/mg}$ Kreatinin)	♂	$0,58 \pm 0,33$	$0,78 \pm 0,42$	$1,0 \pm 0,5$
	♀	$0,67 \pm 1,23$	$0,35 \pm 0,14$	$0,32 \pm 0,11$
Uroporphyrinausscheidung ($\mu\text{g/mg}$ Kreatinin)	♂	$0,11 \pm 0,05$	$0,17 \pm 0,09$	$0,31 \pm 0,12^*$
	♀	$0,07 \pm 0,04$	$0,10 \pm 0,04$	$0,10 \pm 0,02$

* $p < 0,05$

In einer Inhalationsstudie wurden je Konzentrationsgruppe 20 männliche und 20 weibliche CD-Ratten für sechs Stunden am Tag, fünf Tage in der Woche für bis zu 15 Wochen gegen 0, 10, 100 bzw. $1000 \text{ mg } 1,3,5\text{-Trichlorbenzol/m}^3$ exponiert. Die Reinheit der Testsubstanz betrug mehr als 99%. Die Tiere wurden nach vier (je 5 pro Geschlecht und Konzentration) und nach 13 Wochen Exposition (je 15 pro Geschlecht und Konzentration) untersucht. Es wurden laut histopathologischer Untersuchung keine adversen Effekte auf die Organe inklusive des Atemtrakts bei Exposition gegen 10 bzw. $100 \text{ mg } 1,3,5\text{-Trichlorbenzol/m}^3$ festgestellt. Bei Exposition gegen 1000 mg/m^3 wurde bei männlichen Ratten ein nicht statistisch signifikant erhöhtes relatives Lebergewicht nach vier Wochen festgestellt. Der Urin wurde nur bei fünf Tieren pro Geschlecht und Konzentration untersucht. Es wurden statistisch nicht signifikant erhöhte Gehalte von Koproporphyrin und Uroporphyrin im Urin bei Tieren der höchsten Konzentrationsgruppe nach 13 Wochen gemessen und die Autoren weisen bezüglich der Schwankungen der Messergebnisse auf die Instabilität der Porphyrine im Urin hin. Bei drei Ratten der höchsten Konzentrationsgruppe traten als reversibel charakterisierte Plattenepithel-Metaplasien und fokale Hyperplasien im respiratorischen Epithel auf. Diese wurden laut Autoren entweder auf eine reizende Wirkung oder auf den Stress der Tiere während der Versuche zurückgeführt (Sasmore et al. 1983). Wegen der vermuteten Instabilität der Porphyrine ist die Ableitung einer NOAEC schwierig.

5.2.2 Orale Aufnahme

Daten zu Effekten nach oraler Aufnahme sind in der Begründung aus dem Jahr 1990 dargestellt. Diese sind bei Ratten bei Exposition gegen das 1,2,3-Isomer Nierengewichtserhöhungen, histologische Leber- und Schilddrüsenveränderungen (u. a. Degeneration von Leberzellen) und eine erhöhte Koproporphyrin-Ausscheidung mit dem Urin bei hohen Dosen (250–500 mg/kg KG). Bei Ratten bei Exposition gegen das 1,2,4-Isomer sind die Erhöhung von Organgewichten (Leber und Niere), Enzyminduktionen in der Leber, sowie bei hohen Dosen (250–500 mg/kg KG) Nekrosen und fettige Veränderungen der Leber und eine erhöhte Koproporphyrin-Ausscheidung im Urin als Effekte berichtet worden. Es wurden generell Körpergewichtsreduktionen im Tiermodell bei Exposition gegen die Trichlorbenzole festgestellt (Henschler 1990).

In einer Fütterungsstudie wurde Gruppen von jeweils zehn männlichen und zehn weiblichen SD-Ratten 1,2,3-Trichlorbenzol, 1,2,4-Trichlorbenzol oder 1,3,5-Trichlorbenzol für 13 Wochen verabreicht. Die Gehalte betragen jeweils 0, 1, 10, 100 bzw. 1000 mg des jeweiligen Isomers/kg Futter. Dies entspricht Dosisbereichen der Isomere von 0; 0,08; 0,78–0,81; 7,6–7,8 bzw. 78–82 mg/kg KG und Tag für männliche und 0; 0,11–0,13; 1,3–1,5; 12–17 bzw. 101–146 mg/kg KG und Tag für die weiblichen Tiere. Bei 1000 mg/kg Futter traten bei den männlichen Tieren, unabhängig davon gegen welches der drei Isomere exponiert wurde, erhöhte Lebergewichte und moderate histologische Veränderungen der Leber und Schilddrüse auf, beim 1,3,5-Isomer auch in den Nieren. Die Autoren berichten einen NOAEL für alle drei Isomere von 100 mg/kg Futter (ca. 7 mg/kg KG und Tag) (Côté et al. 1988). Aufgrund der in der Gesamtschau unzureichenden Befundberichterung, insbesondere einer fehlenden quantitativen Auswertung der histologischen Befunde, und der fehlenden Untersuchung des empfindlichsten Endpunkts (Porphyrinstoffwechselstörung) wird diese Studie nicht zu einer Grenzwertableitung herangezogen.

Im Folgenden werden die Daten zur Toxizität nach oraler Aufnahme um weitere Studienergebnisse ergänzt und in [Tabelle 2](#) zusammengefasst.

In einer 13-Wochen-Fütterungsstudie wurden F344-Ratten (je zehn Tiere pro Geschlecht und Dosis) gegen 1,2,4-Trichlorbenzol exponiert. Die Dosen betragen 0; 14,6; 45,6 oder 133,7 mg/kg KG und Tag für männliche Tiere bzw. 0; 17,0; 52,5 oder 150,6 mg/kg KG und Tag für weibliche Tiere. Statistisch signifikant erhöhte Blutplättchenanzahlen wurden in der hohen Dosisgruppe der männlichen Ratten festgestellt. In den hohen Dosisgruppen waren die Blut-Harnstoff-Stickstoffwerte bei männlichen und weiblichen Tieren erhöht. Gesamtproteingehalt, Albumin und Calciumgehalte waren zudem bei den männlichen Tieren bei dieser Dosis erhöht. Die Aktivität der Aspartataminotransferase war bei allen exponierten männlichen Tieren erniedrigt. Es wurden zudem statistisch signifikant erhöhte relative und absolute Lebergewichte bei allen exponierten männlichen Tieren und bei weiblichen Tieren ab 52,5 mg/kg KG und Tag festgestellt. In der hohen Dosisgruppe der männlichen Tiere wurden auch statistisch signifikant erhöhte relative und absolute Nierengewichte gemessen. Es wurden in den Nieren ab 45,6 mg/kg KG und Tag erweiterte Tubuli, granuläre Nierenzylinder, hyaline Tröpfchen, interstitielle Nephritis und papilläre mineralische Depositionen beobachtet. Die Niereneffekte wurden bei den weiblichen Tieren nicht festgestellt. In der Leber trat zentrilobuläre Hepatozytenhypertrophie ab 45,6 mg/kg KG und Tag (männliche Tiere) bzw. bei 150,6 mg/kg KG und Tag (weibliche Tiere) auf (CMA 1989).

In einer 13-Wochen-Studie wurden Gruppen von je zehn männlichen und weiblichen B6C3F1-Mäusen gegen 1,2,4-Trichlorbenzol im Futter exponiert. Die Dosen betragen 0, 67, 850 oder 1222 mg/kg KG und Tag für männliche Tiere bzw. 0, 86, 1183 oder 1345 mg/kg KG und Tag für weibliche Tiere. Das Körpergewicht der Tiere war bei der hohen Dosis am Ende der Studiendauer gegenüber der Kontrollgruppe statistisch signifikant reduziert (um 9% bei den männlichen und um 8% bei den weiblichen Tieren). Bei Exposition gegen die niedrige Dosis war die Körpergewichtszunahme bei den männlichen Tieren um 27% erniedrigt. Bei Exposition gegen die hohe Dosis war diese bei den männlichen Tieren um 40% und bei den weiblichen Tieren um 33% reduziert. Bei männlichen Tieren traten in der Leber ab 850 mg/kg KG und Tag sowie bei weiblichen Tieren ab 1183 mg/kg KG und Tag hepatozelluläre Zytomegalie, Karyomegalie, hepatozelluläre Atrophie und Zelldegenerationen auf. Ebenso wurde eine Zunahme des relativen und absoluten Lebergewichts in diesen Tiergruppen festgestellt. Es wurden höhere Gesamtproteingehalte bei Exposition gegen 850 bzw. 1222 mg/kg KG und Tag bei den männlichen Tieren und bei Exposition gegen 1345 mg/kg KG und Tag

bei den weiblichen Tieren festgestellt. Weitere Befunde in diesen Dosisgruppen waren erhöhte Albumin- und Globulin-gehalte sowie erhöhte Aktivitäten der Alaninaminotransferase und der Sorbitdehydrogenase (CMA 1989).

In Fütterungsstudien zur Untersuchung einer möglichen krebserzeugenden Wirkung von 1,2,4-Trichlorbenzol, die in [Abschnitt 5.7.2](#) beschrieben sind, wurden B6C3F1-Mäuse bzw. F344-Ratten exponiert. Es wurden gesteigerte Lebergewichte bei Ratten bei 66,5 bzw. 81,4 mg/kg KG und Tag (männliche bzw. weibliche Tiere) festgestellt. Es wurden Hepatozytenhypertrophie, fokale Zystendegeneration und diffuse fettige Leberveränderungen in exponierten Tieren beobachtet. In den Nieren traten Papillenmineralisationen, Hyperplasien des Übergangsepithels und Nephropathie bei 66,5 mg/kg KG und Tag bei den männlichen Tieren auf. Zudem waren die Körpergewichte aller exponierten Tiere erniedrigt (CMA 1994 b). Bei Mäusen wurden gesteigerte Lebergewichte ab 21 bzw. 26 mg/kg KG und Tag (männliche bzw. weibliche Tiere) beobachtet. Ab 100 bzw. 127 mg/kg KG und Tag wurde zudem zentrilobuläre Hepatozytomegalie festgestellt. Zudem waren die Körpergewichte der exponierten Tiere erniedrigt. Es wurden weiterhin Leberadenome und Leberkarzinome festgestellt (CMA 1994 a). Die neoplastischen Befunde sind in [Abschnitt 5.7](#) dargestellt.

Tab. 2 Wirkung von 1,2,4-Trichlorbenzol nach wiederholter oraler Aufnahme

Spezies, Stamm, Anzahl pro Gruppe	Exposition	Befunde	Literatur
Ratte, F344, je 10 ♀, ♂	13 Wochen, 1,2,4-Trichlorbenzol im Futter: ♂: 0; 14,6; 45,6; 133,7 mg/kg KG und Tag, ♀: 0; 17,0; 52,5; 150,6 mg/kg KG und Tag, Reinheit: >98 %	ab 14,6 mg/kg KG (♂): Aspartataminotransferaseaktivität ↓, relatives und absolutes Lebergewicht ↑, ab 45,6 mg/kg KG (♂): erweiterte Tubuli, granuläre Nierenzylinder, hyaline Tröpfchen, interstitielle Nephritis und papilläre mineralische Depositionen, zentrilobuläre Hepatozytenhypertrophie, ab 52,5 mg/kg KG (♀): relatives und absolutes Lebergewicht ↑, bei 133,7 mg/kg KG (♂): Blutplättchenanzahl ↑, Blut-Harnstoff-Stickstoffwerte ↑, Gesamtprotein, Albumin, Calciumgehalt ↑, relatives und absolutes Nierengewicht ↑, bei 150,6 mg/kg KG (♀): zentrilobuläre Hepatozytenhypertrophie	CMA 1989
Ratte, F344, je 50 ♀, ♂	104 Wochen, 1,2,4-Trichlorbenzol im Futter: ♂: 0; 5,6; 19,4; 66,5 mg/kg KG und Tag, ♀: 0; 6,9; 23,5; 81,4 mg/kg KG und Tag, Reinheit: 98,9 %	bei 66,5 (♂) bzw. 81,4 (♀) mg/kg KG: absolutes und relatives Lebergewicht ↑, Leber: diffuse, fettige Veränderungen, zentrilobuläre Hepatozytomegalie, fokale Zystendegeneration, Niere: Hyperplasie des Übergangsepithels, papilläre Mineralisation	CMA 1994 b
Maus, B6C3F1, je 10 ♀, ♂	13 Wochen, 1,2,4-Trichlorbenzol im Futter: ♂: 0, 67, 850, 1222 mg/kg KG und Tag, ♀: 0, 86, 1183, 1345 mg/kg KG und Tag, Reinheit: >98 %	ab 850 (♂) bzw. 1183 (♀) mg/kg KG: Leber: hepatozelluläre Zytomegalie, Karyomegalie, hepatozelluläre Atrophie und Zelldegenerationen, relatives und absolutes Lebergewicht ↑, Gesamtproteingehalt ↑, Sorbitdehydrogenaseaktivität ↑, ab 1222 (♂) bzw. 1345 (♀) mg/kg KG: Körpergewicht ↓, Körpergewichtszunahme ↓, Albumingehalt ↑, Globulingehalt ↓, Alaninaminotransferaseaktivität ↑	CMA 1989
Maus, B6C3F1, je 50 ♀, ♂	104 Wochen, 1,2,4-Trichlorbenzol im Futter: ♂: 0, 21, 100, 520 mg/kg KG und Tag, ♀: 0, 26, 127, 573 mg/kg KG und Tag, Reinheit: 98,9 %	ab 21 (♂) bzw. 26 (♀) mg/kg KG: relatives und absolutes Lebergewicht ↑, Lebervergrößerungen, Schwellungen im Abdomen, ab 100 (♂) bzw. 127 (♀) mg/kg KG: Leber: Zellveränderungen, zentrilobuläre Hepatozytomegalie, Leberadenome und Leberkarzinome (siehe Abschnitt 5.7)	CMA 1994 a

5.2.3 Dermale Aufnahme

Die Daten zur Wirkung nach dermalen Aufnahme sind der Begründung aus dem Jahr 1990 (Henschler 1990) zu entnehmen. Eine Studie zur Untersuchung der kanzerogenen Wirkung wird im Detail in [Abschnitt 5.7.2](#) dargestellt.

5.2.4 Fazit

Neben Effekten auf Leber und Nieren von Ratten ist die Störung des Porphyrinstoffwechsels als der empfindlichste Endpunkt nach Inhalation anzusehen und kann für die Ableitung eines Arbeitsplatzgrenzwerts genutzt werden (siehe [Abschnitt 6](#)). Lokale Effekte auf den Atemtrakt oder die Nase wurden bei keiner Tierart nach Inhalation festgestellt. Insbesondere Leber- und Nierenschädigungen sind bei Ratten bzw. Mäusen nach oraler Gabe beobachtet worden.

5.3 Wirkung auf Haut und Schleimhäute

Daten zu Effekten auf Haut, Schleimhäute bzw. das Auge sind in der Begründung aus dem Jahr 1990 und dem Nachtrag von 2002 dargestellt (Greim 2002 b; Henschler 1990). Im Folgenden werden hierzu Studiendaten neu zusammengefasst bzw. ergänzt.

5.3.1 Haut

Drei Neuseeländer-Kaninchen wurde vier Stunden lang semiokklusiv 500 mg in Wasser angeteigtes 1,2,3-Trichlorbenzol (k. A. zur Reinheit) auf die rasierte Flankenhaut appliziert. Eine Stunde, 24, 48, 72 Stunden bzw. sieben Tage nach Ende der Behandlung erfolgte die Ablesung und die Auswertung anhand der Draize-Skala. Die mittleren Reizindizes für Rötung (24, 48, 72 Stunden) lagen für zwei der Tiere bei 0,3, das dritte Tier hatte einen Index von 0 (ECHA 2014; Henschler 1990).

Nach wiederholter Auftragung von unverdünntem 1,2,3-Trichlorbenzol auf die intakte Bauchhaut von Kaninchen wurden Hautrötung und leichte Hautablösung beobachtet. Bei Auftragung auf abradierete Haut wurde von moderaten Hautrötungen, leichten Ödemen und Spuren von Hautnekrosen berichtet (k. w. A.; ATSDR 2014).

Die 24-stündige Applikation von 0,05 ml einer 75- oder 95%igen Lösung von 1,2,4-Trichlorbenzol auf die rasierte Schulterhaut von Meerschweinchen führte zur Ausbildung von mäßigen bis schweren Irritationen bei älteren Tieren, bei jüngeren zu maximal leichten Irritationen (k. w. A.; ATSDR 2014; EC 2003).

Nach wiederholter okklusiver Applikation von 1 ml unverdünntem 1,2,4-Trichlorbenzol auf die rasierte Haut von jeweils vier männlichen und vier weiblichen Kaninchen (Applikation für sechs Stunden an drei aufeinanderfolgenden Tagen) wurden sieben Tage nach erster Applikation Spongiosen, Akanthosen und Parakeratosen beobachtet. Die gleichen Befunde wurden nach dreiwöchiger offener Behandlung von je fünf weiblichen und männlichen Meerschweinchen sowie einem weiblichen und einem männlichen Kaninchen beobachtet. Dazu wurden 0,5 bzw. 1 ml unverdünntes 1,2,4-Trichlorbenzol sechs Stunden pro Tag an fünf Tagen pro Woche appliziert (Brown et al. 1969).

Kaninchen, denen wiederholt unverdünnte Substanz (24 oder 97 mg/kg KG) oder 0,2 ml einer 25%igen 1,2,4-Trichlorbenzollösung in Petrolether offen auf die ventrale Ohrenhaut aufgetragen wurde (dreimal pro Woche, 13 Wochen), reagierten mit mäßigen bis schweren Hautirritationen, wie leichten bis schweren Erythemen, starker Schuppenbildung und Abschuppung, Verkrustungen mit leichter Vergrößerung der Follikel, Haarausfall und Narbenbildungen. Kaninchen, denen 0,2 ml einer 0,5%igen Lösung von 1,2,4-Trichlorbenzol in Petrolether (4,8 mg/kg KG) aufgetragen wurde, zeigten eine leichte Hautrötung sowie leichte Schuppenbildung und Abschuppung der Haut. Kontrolltiere, denen nur das Lösungsmittel aufgetragen wurde, blieben ohne Befund (Powers et al. 1975).

Zudem wurden in einer Studie Kaninchen Dosen von 0, 30, 150 oder 450 mg technisches 1,2,4-Trichlorbenzol/kg KG (ca. 70 % 1,2,4- und 30 % 1,2,3-Trichlorbenzol) an fünf aufeinanderfolgenden Tagen in der Woche für vier Wochen offen auf die rasierte Rückenhaut (etwa 100 cm²) aufgetragen. Alle exponierten Tiere zeigten am Applikationsort dosisabhängige stärkere und großflächigere rissige, schorfige, verdickte Haut, glanzlos nachwachsendes Fell und unterschiedliche Grade von Erythemen, Erosionen und Geschwüren. Eine Erhöhung der Dosis verstärkte die Effekte. Mikroskopisch

wurden in den Hautproben Veränderungen, einschließlich Entzündungen, fokale Erosion und Geschwüre sowie Ansammlung von Entzündungszellen mit unterschiedlichem Exsudationsgrad beobachtet. Einige Kaninchen zeigten ein leichtes oberflächliches Ödem mit leichter Fibrose (Rao et al. 1982).

In einer Studie zur kanzerogenen Wirkung von 1,2,4-Trichlorbenzol an Mäusen wurden nach dermalen Applikation (0,03 ml einer 30%igen Lösung, zweimal pro Woche, zwei Jahre; siehe [Abschnitt 5.7.2](#)) Hautverdickungen und Keratosen der Epidermis und Entzündungen festgestellt (Henschler 1990; Yamamoto et al. 1982).

1,2,4-Trichlorbenzol führt nach einmaliger Gabe nur zu leichten, nach wiederholter Applikation zu deutlichen Entzündungen und ist daher mit der Markierung Xi; R38 als irritierend an der Haut eingestuft worden (EC 2003).

In einer Studie mit 1,3,5-Trichlorbenzol wurden 500 mg (k. w. A.) auf die geschorene intakte oder abradierte Rückenhaut von je sechs Kaninchen aufgetragen. Die Stellen wurden okklusiv abgedeckt und nach 24 Stunden wurden bei allen exponierten Tieren Erytheme und Ödeme beobachtet. Bei drei Tieren waren die Rötungen auch 72 Stunden nach Applikation noch ausgeprägt (Jorgenson et al. 1976). In einem weiteren okklusiven Patch-Test an intakter oder skarifizierter Flankenhaut von je sechs Albino-Himalaya-Kaninchen wurden leichte Reizwirkungen an der Haut (Reizindex 2,4 nach FDA-Richtlinien) sowie Hautveränderungen (schuppig, trocken etc.) beobachtet (Henschler 1990).

5.3.2 Auge

Je drei Kaninchen wurden 100 mg 1,2,3-Trichlorbenzol in den Bindehautsack appliziert. Die Augen wurden 24 Stunden nach Applikation gespült und die Befundung erfolgte eine Stunde, 24, 48, 72 Stunden und sieben Tage nach Behandlungsende. Zwei von drei Tieren zeigten leichte Corneatrübung (mittlere Reizindizes 24, 48 und 72 h: 0,7; 0; 0,7) und mäßige bis starke Rötung (1,3; 0,7; 1,3) und Schwellung der Konjunktiven (0,3; 0; 0,7) mit Ausfluss (0; 0,3; 0,7). Alle Effekte waren 72 Stunden nach der Applikation abgeklungen (ECHA 2014; Henschler 1990).

In einer Studie wurde eine 10%ige Lösung von 1,2,3-Trichlorbenzol in Propylenglykol auf die Augen von Kaninchen aufgetropft und diese nachfolgend mit Wasser ausgewaschen. Dies führte zu akuten Schmerzen und Verletzungen der Hornhaut, die innerhalb von 24 Stunden ausheilten, wohingegen die ebenfalls aufgetretene Irritation der Bindehaut erst nach 48 Stunden nicht mehr bemerkbar war. Im Vergleich dazu führte ein Auslassen des Waschschrittes ebenfalls zu akuten Schmerzen und Irritationen der Bindehaut aber nicht zu Verletzungen der Hornhaut, wobei die Irritationen bei diesen Tieren jedoch erst nach 48 Stunden abgeheilt waren (k. w. A.; ATSDR 2014; EC 2003).

Reines 1,2,4-Trichlorbenzol führte am Kaninchenaugen zu Konjunktivitis, Chemosis und Absonderungen sowie starkem schmerzhaften Anschwellen der Lider, bei dem die Konjunktiven für mindestens 48 Stunden entzündet waren. Die Cornea war nicht beeinträchtigt (Henschler 1990).

In einer Studie wurden je 100 mg 1,3,5-Trichlorbenzol in den Bindehautsack von insgesamt neun Kaninchen eingebracht. Bei jeweils drei Tieren wurde die Substanz 30 Sekunden oder fünf Minuten nach Applikation aus dem Auge ausgewaschen. Die Untersuchung erfolgte eine Stunde, 4, 24, 48, 72 und 96 Stunden nach Applikation. Tiere, deren Augen ausgewaschen wurden, zeigten keine Verletzung der Hornhaut, wohingegen leichte Verletzungen bei der Tiergruppe ohne Auswaschung festgestellt wurden. Die Verletzungen waren nach drei Tagen abgeheilt. Auch Effekte auf die Iris, die vereinzelt auftraten, waren nach vier Tagen abgeheilt. Bei allen exponierten Tieren wurden Bindehauteffekte beobachtet, die verschieden stark ausgeprägt waren. Hierzu zählten Rötungen, Ödeme und Ausfluss. Die Effekte auf die Konjunktiven der Tiere, welche bereits 30 Sekunden nach Applikation eine Augenwaschung erhielten, waren nach 24 Stunden abgeheilt, wohingegen die Tiere, welche erst nach fünf Minuten einen Waschschritt erhielten, erst nach drei Tagen keine Effekte mehr zeigten. Eine Abheilung ohne Waschung erfolgte erst nach sieben Tagen (Jorgenson et al. 1976).

5.3.3 Fazit

Die Trichlorbenzole wirken leicht bis mäßig reizend an der Haut und am Auge von Kaninchen und Meerschweinchen, wobei die Effekte reversibel sind. Erst bei höherer Konzentration oder längerer Einwirkzeit bzw. wiederholter Gabe bilden sich manifeste Schäden. Diese beruhen vermutlich auf der entfettenden Wirkung der Substanzen.

5.4 Allergene Wirkung

5.4.1 Hautsensibilisierende Wirkung

Die Trichlorbenzole wurden zuletzt im Jahr 1990 hinsichtlich der hautsensibilisierenden Wirkung bewertet. Die Bewertung beruhte für 1,2,4- und 1,3,5-Trichlorbenzol auf negativen Ergebnissen am Meerschweinchen, jedoch wurden lediglich 0,1%ige Zubereitungen geprüft. Zu 1,2,4- und 1,3,5-Trichlorbenzol liegen keine neuen Tierversuche vor.

Inzwischen wurde 1,2,3-Trichlorbenzol in einem modifizierten „Local Lymph Node Assay“ (LLNA-IMDS, „integrated method for the discrimination of skin reactions“ nach Vohr) untersucht (ECHA 2014). Dieses Verfahren nutzt zur Ermittlung des sensibilisierenden Potenzials neben der Proliferation der Lymphknotenzellen auch die Gewichtszunahme der Lymphknoten. Weiterhin wird das irritative Potenzial einer Substanz durch Messung der Ohrdicke und Masse bestimmt. Die Interpretation aller Parameter ermöglicht eine Differenzierung zwischen sensibilisierendem und irritativem Potenzial einer Testsubstanz (Vohr et al. 2000).

Der LLNA-IMDS wurde an 24 weiblichen NMRI-Mäusen (Hsd Win:NMRI) durchgeführt, wobei sechs Tiere pro Behandlungsgruppe (2, 10 und 50 % 1,2,3-Trichlorbenzol in Aceton/Olivenöl (4:1)) und sechs Tiere als Kontrolle eingesetzt wurden. Hinsichtlich der Zellproliferation wurden Stimulationsindices (SI) von 0,94; 1,20 und 1,73 bestimmt. Die etablierten Grenzwerte für Positivität (Index $\geq 1,4$ gegenüber den Kontrollen bzw. $>1,5$ (Basketter et al. 2012)) wurden bei der höchsten Dosisgruppe (50 %) überschritten. Für den EC-1,4-Wert (die Konzentration, bei der eine 1,4-fache Zellproliferation erreicht würde) wurde ein Wert von 25,09 % 1,2,3-Trichlorbenzol abgeschätzt. Die Indices für die Ohrschwellung und Masse zeigten keine signifikanten Abweichungen von den Kontrollwerten. Damit ist das positive Testergebnis des LLNA hinsichtlich der Zellproliferation offenbar nicht durch irritative Effekte von 1,2,3-Trichlorbenzol beeinträchtigt.

5.4.2 Atemwegssensibilisierende Wirkung

Hierzu liegen keine Daten vor.

5.5 Reproduktionstoxizität

Daten zur Fertilität und Entwicklungstoxizität der Trichlorbenzole sind in der Begründung aus dem Jahr 1990 und im Nachtrag 2007 beschrieben worden (Greim 2007; Henschler 1990). Die Ergebnisse werden im Folgenden zusammengefasst und aktuelle Daten ergänzend beschrieben.

5.5.1 Fertilität

In einer Multigenerationenstudie erhielten 100 gravide Ratten (k. A. zum Stamm, nur zum Züchter) bis zur Geburt der F0-Generation kommerzielles Futter ad libitum sowie unbehandeltes Trinkwasser, danach 0, 25, 100 oder 400 mg 1,2,4-Trichlorbenzol/l Trinkwasser. Dies entsprach für die F0-Generation Dosierungen von 2,5; 8,9 und 33 mg/kg KG und Tag für die männlichen bzw. 3,7; 14,8 und 53,6 mg/kg KG und Tag für die weiblichen Tiere. Eine 5. Gruppe erhielt 0,125 % Tween 20 im Trinkwasser, das als Lösungsvermittler diente, da 1,2,4-Trichlorbenzol in den gegebenen Konzentrationen wasserunlöslich ist. Die Tiere wurden fortlaufend bis zum Ablauf der Säugezeit der F2-Generation behandelt. Jede Generation beinhaltete 17–23 Nachkommen und es wurden Fertilität, Nachkommengröße und Geschlecht, Körpergewichte und Viabilität untersucht. Die Tiere der F0- und F2-Generation wurden nach dem Tod sowie einzelne Tiere im Alter von 27 und 95 Tagen untersucht. Tiere der F1-Generation wurden nach dem Tod oder im Alter von 95 Tagen

untersucht. Zu jedem genannten Zeitpunkt wurde von je zehn Tieren pro Gruppe das Blut untersucht (Glukosegehalt, Harnstoff, Blutharnstoff-Stickstoff, Kreatiningehalt, Elektrolytgehalt, Harnsäure, Calcium, Phosphat, Cholesterin, Triglyceride, Bilirubin, Aktivitäten von alkalischer Phosphatase, Alaninaminotransferase, Laktatdehydrogenase, Kreatinphosphokinase, Gesamtproteingehalt, Globulin und Albuminkonzentrationen). Folgende Organgewichte wurden bestimmt: Leber, Nieren, Nebennieren, Uterus, Lunge, Herz und Ovarien. Leber und Nieren der Kontrollgruppe und Hochdosisgruppe der F1-Generation wurden zudem histologisch untersucht. Die Fertilität der Tiere wurde nicht beeinträchtigt. In keiner Generation zeigten sich Effekte auf das Blut oder die untersuchten Organe mit Ausnahme einer Zunahme des Gewichts und der Größe der Nebennieren von männlichen und weiblichen Tieren der Hochdosisgruppe in der F0- und F1-Generation im Alter von 95 Tagen. Diese Befunde werden von den Autoren als substanzbedingte Effekte angesehen (ATSDR 2014; Henschler 1990; Robinson et al. 1981; US EPA 2020 b). Daraus lässt sich ein NOAEL für Fertilität von 33 mg/kg KG und Tag für die männlichen und von 53,6 mg/kg KG und Tag für die weiblichen Tiere sowie ein NOAEL für Parentaltoxizität (behandelte F1-Generation) von 8,9 mg/kg KG und Tag für die männlichen und von 14,8 mg/kg KG und Tag für die weiblichen Tiere ableiten.

Es wurden keine Effekte auf die Reproduktionsorgane von SD-Ratten, Neuseeländer-Kaninchen oder Beagle-Hunden bei Exposition gegen 1,2,4-Trichlorbenzol in Inhalationsstudien bis zu einer Konzentration von 100 ml/m³ (760 mg 1,2,4-Trichlorbenzol/m³) festgestellt (Henschler 1990; Kociba et al. 1981). Ebenso liegen negative Befunde an den Reproduktionsorganen von CD-Ratten nach Exposition gegen eine maximale Konzentration von 1000 mg 1,3,5-Trichlorbenzol/m³ vor (Henschler 1990; Sasmore et al. 1983). Für 1,2,3-Trichlorbenzol liegen keine Daten zur Fertilität aus Inhalationsstudien vor. Die negativen Befunde an den Reproduktionsorganen wurden in Studien mit oraler Dosisgabe an SD-Ratten für alle drei Trichlorbenzolisomere bestätigt. Die Tiere waren gegen 1,2,4-Trichlorbenzol (82 mg/kg KG für männliche Tiere, 101 mg/kg KG für weibliche Tiere) bzw. gegen 1,2,3-Trichlorbenzol (78 mg/kg KG für männliche Tiere, 113 mg/kg KG für weibliche Tiere) bzw. gegen 1,3,5-Trichlorbenzol (82 mg/kg KG für männliche Tiere, 146 mg/kg KG für weibliche Tiere) exponiert (Côté et al. 1988; Henschler 1990). Auch bei F344-Ratten wurden in einer Fütterungsstudie mit maximaler Dosis von 150,6 mg 1,2,4-Trichlorbenzol/kg KG und Tag für eine Dauer von 14 Tagen keine Effekte auf die Reproduktionsorgane festgestellt (ATSDR 2014). Ausbleibende Effekte auf die Reproduktionsorgane sind auch in Studien mit männlichen und weiblichen B6C3F1-Mäusen bis zu Dosen von 1222 bzw. 1345 mg 1,2,4-Trichlorbenzol/kg KG und Tag und einem Expositionszeitraum von 13 Wochen berichtet worden (ATSDR 2014). Zudem wurden auch keine Effekte auf diese Zielorgane in zwei 2-Jahre-Fütterungsstudien mit F344-Ratten und B6C3F1-Mäusen beobachtet (CMA 1994 a, b). Diese Studien sind in [Abschnitt 5.2](#) und [Abschnitt 5.7](#) beschrieben.

5.5.2 Entwicklungstoxizität

Gruppen von trächtigen Sprague-Dawley-Ratten (mindestens sechs Tiere pro Gruppe) erhielten vom 9. bis 13. Tag der Gestation 0, 36, 120, 360 oder 1200 mg 1,2,4-Trichlorbenzol/kg KG und Tag in Maiskeimöl gelöst und wurden am 14. Tag getötet. Die Lebern der Muttertiere wurden gewogen und histologisch untersucht. Leberhomogenate wurden auf ihren Enzymgehalt hin untersucht. Der Uterus von Tieren der Kontrollgruppe und der Dosisgruppe 360 mg/kg KG und Tag wurde auf Implantationen und Resorptionen untersucht. Lebende Feten wurden oberflächlich untersucht (Größe, Herzschlag, Somitogenese). Während des Versuchs verendeten 2/9 der 360- und 6/6 Tieren der 1200-mg/kg-Gruppe. Die Körpergewichtsentwicklung der Tiere der 360-mg/kg-Gruppe war statistisch signifikant erniedrigt. Unbeeinflusst blieben die maternalen Lebergewichte, die mikrosomalen Proteingehalte der Lebern und das relative Lebergewicht. In der 360-mg/kg-Gruppe war bei den Muttertieren die NADPH-Cytochrom-c-Reduktase-Aktivität erhöht, bei 120 und 360 mg/kg KG und Tag waren der hepatische CYP-Gehalt signifikant erhöht und eine Reihe weiterer Leberenzyme induziert. Bei 1/9 Ratten wurde hepatozelluläre Hypertrophie in der 120-mg/kg-Gruppe und moderate Hypertrophie bei 7/8 Ratten der 360-mg/kg-Gruppe festgestellt. Erhöhte Resorptionsraten, vermehrte Letalität oder eine teratogene Wirkung wurden nicht beobachtet. Lediglich in der 360-mg/kg-Gruppe war die Entwicklung der Feten deutlich retardiert. Dies beinhaltete Befunde zu einer reduzierten Kopf- und Scheitel-Steißlänge, einer reduzierten Anzahl an Somiten und einem erniedrigten Proteingehalt (Henschler 1990; Kitchin und Ebron 1983). In der aktuellen OECD-Prüfrichtlinie 414 wird empfohlen, genügend Muttertiere einzusetzen, damit es bei der Nekropsie etwa 20 Tiere mit Implantationsstellen gibt. Mit nur sechs Tieren pro Gruppe ist die Tierzahl im Vergleich dazu sehr gering. Die Organogenese bei

Ratten (5. bis 15. Gestationstag) ist bei der Behandlung nicht ganz abgedeckt. Es erfolgte nur, wie oben beschrieben, eine oberflächliche Untersuchung der Feten mittels eines Stereomikroskops. Eine Untersuchung der externen sowie viszeralen und skelettalen Veränderungen wurde nicht vorgenommen. Aufgrund der erheblichen Mängel ist die Studie nicht zur Bewertung der entwicklungstoxischen Wirkung von 1,2,4-Trichlorbenzol geeignet.

Gruppen von jeweils 13 bis 14 Sprague-Dawley-Ratten erhielten vom 6. bis 15. Tag der Gestation 0, 150, 300 oder 600 mg 1,2,3- oder 1,3,5-Trichlorbenzol/kg KG und Tag mit der Magensonde. Zudem wurden gleichermaßen Tiere gegen 0, 75, 150 oder 300 mg 1,2,4-Trichlorbenzol/kg KG und Tag exponiert. Die Dosis von 75 mg/kg KG wurde mit in die Untersuchung eingeschlossen, da sich in Vorexperimenten eine höhere Toxizität des 1,2,4-Isomers für die Muttertiere nachweisen ließ. Am 22. Gestationstag wurden die Tiere getötet und untersucht. Absolute und relative Lebergewichte waren statistisch signifikant in der hohen Dosisgruppe bei Exposition gegen 1,2,4-, 1,2,3- bzw. 1,3,5-Trichlorbenzol erhöht, wohingegen keine Effekte an anderen Organen festgestellt wurden. Bei Exposition gegen 1,2,4-Trichlorbenzol war die Oxidaseaktivität der Muttertiere der 150- und der 300-mg/kg-Gruppe erhöht. Der Hämoglobingehalt und Hämatokritwert im Blut der Muttertiere war bei dieser Dosis bei Exposition gegen 1,2,4-, 1,2,3- bzw. 1,3,5-Trichlorbenzol erniedrigt. Bei Exposition gegen 1,2,4-Trichlorbenzol war in den Schilddrüsen der Feten der höchsten Dosisgruppe die Follikelgröße reduziert und es wurden leichte hepatische Läsionen (periportale, zytoplasmatische Eosinophilie und leichte Anisokaryose der Zellkerne) bei 300 mg/kg KG und Tag festgestellt. Es wurden keine Effekte auf Ovarien oder Uterus der Tiere festgestellt. Insgesamt wurden keine dosisabhängigen embryotoxischen oder teratogenen Effekte beobachtet. Nur bei 300 mg 1,3,5-Trichlorbenzol/kg KG war die Resorptionsrate signifikant erhöht, was auf einem Tier mit zwölf Resorptionsstellen beruhte. Da in keiner anderen Dosisgruppe eine erhöhte Resorptionsrate beobachtet wurde, ist dies laut der Autoren nicht als substanzbedingter Effekt anzusehen (Black et al. 1988; Greim 2007; Henschler 1990; US EPA 2009 b). Effekte auf die Augen der Feten können als zweifelhaft angesehen werden, da eine unzureichende Konservierung der Analyseproben vorlag und die Ergebnisse unzureichend berichtet wurden (EC 2003). Aus der Studie lassen sich als NOAEL für Entwicklungstoxizität 300 mg 1,2,4-Trichlorbenzol/kg KG und Tag sowie 600 mg 1,2,3- bzw. 1,3,5-Trichlorbenzol/kg KG und Tag, die jeweils höchsten Dosierungen, ableiten. Teratogenität wurde mit keinem der drei Isomere beobachtet. Die Studie aus dem Jahr 1988 entspricht nicht heutigen Prüfrichtlinien, erfüllt aber im Wesentlichen den Untersuchungsumfang (externe Untersuchung aller Feten, skelettale Untersuchung von 2/3 der Feten und viszerale Untersuchung von 1/3 der Feten). Auch die Tierzahl ist nicht so hoch wie die aktuelle OECD-Prüfrichtlinie empfiehlt. Jedoch sind alle drei Isomere untersucht, was die Zahl untersuchter Feten erhöht und vor dem Hintergrund einer ähnlichen Metabolisierung der Isomere wird die Studie zur Bewertung der entwicklungstoxischen Wirkung als ausreichend angesehen.

In der bereits beschriebenen Multigenerationenstudie an Ratten wurden bis zur höchsten Dosis von 53,6 mg 1,2,4-Trichlorbenzol/kg KG und Tag in keiner Generation Effekte auf Körpergewicht der Neugeborenen, Wurfgröße und Überleben festgestellt (ATSDR 2014; Henschler 1990; Robinson et al. 1981; US EPA 2009 b; siehe Abschnitt 5.5.1). Daher liegt der NOAEL für perinatale Toxizität bei 53,6 mg/kg KG und Tag, der höchsten Dosis.

Mehrere Publikationen berichten über die Entwicklung einer teratologischen Screeningmethode, wobei 25 trächtige CD-1-Mäuse 0 oder 130 mg 1,2,4-Trichlorbenzol/kg KG und Tag an den Gestationstagen 8–12 per Schlundsonde erhielten. Das Überleben der Muttertiere, Körpergewichte, Trächtigkeitsraten, Uterus sowie lebende und tote Feten wurden untersucht. Es wurden keine substanzbasierten Effekte bei den exponierten Tieren festgestellt (US EPA 2020 b). Screeningstudien sind zur Bewertung der Entwicklungstoxizität nicht geeignet, da keine vollständige Untersuchung der Teratogenität durchgeführt wird.

5.6 Genotoxizität

Untersuchungen zur Genotoxizität der Trichlorbenzolisomere wurden in der Begründung aus dem Jahr 1990 (Henschler 1990) und in einem Nachtrag zu 1,2,4-Trichlorbenzol dargestellt (Greim 1996). Im Folgenden werden die Daten zur Genotoxizität neu zusammengefasst und aktuelle Studienergebnisse ergänzt.

5.6.1 In vitro

5.6.1.1 Bakterien und Hefen

Untersuchungen zur genotoxischen Wirkung in vitro sind in [Tabelle 3](#) für alle drei Isomere zusammengefasst.

In einem umu-Test auf eine Induktion der SOS-Antwort in *Salmonella typhimurium* TA1535 mit Plasmid pSK1002, ergab sich kein Hinweis auf eine DNA-schädigende Wirkung der Isomere 1,2,3- und 1,3,5-Trichlorbenzol (Ono et al. 1992). Ebenfalls deuten Indikatortests (Tests auf differenzielle Abtötung) mit *Escherichia coli* W3110/ p3478 oder *Bacillus subtilis* H17/M45 auf keine DNA-schädigende Wirkung von 1,3,5-Trichlorbenzol hin (Jorgenson et al. 1976). Hinweise auf eine DNA-schädigende Wirkung wurden im umu-Test mit *Salmonella typhimurium* TA1535 nach Inkubation mit 0,1 mg 1,2,4-Trichlorbenzol/ml festgestellt. Der Effekt trat mit zunehmender Länge der Inkubationszeit verstärkt auf, aber nicht bei 4-stündiger Inkubation in einem weiteren umu-Test (Ono et al. 1991, 1992). Ein Test auf differenzielle Abtötung mit *Bacillus subtilis* H17/M45 deutete ebenfalls auf eine mögliche genotoxische Wirkung von 1,2,4-Trichlorbenzol hin (Matsui et al. 1989). Diese Ergebnisse sind in der Gesamtschau jedoch als nicht konsistent zu betrachten, da die Hinweise auf die genotoxische Wirkung einmal nur ohne metabolische Aktivierung (umu-Test) beziehungsweise nur mit metabolischer Aktivierung (Test auf differenzielle Abtötung) beobachtet wurden. Zudem ist der Test in der Studie von Matsui et al. (1989) ungenügend dokumentiert, da beispielsweise der S9-Mix nicht identifiziert und beschrieben wurde.

In Mutagenitätstests mit *Escherichia coli* WP2 wurde keine Mutagenität von 1,3,5-Trichlorbenzol nachgewiesen (Jorgenson et al. 1976). In *Salmonella*-Mutagenitätstests wurde für keines der drei Isomere eine mutagene Wirkung festgestellt. Untersucht wurden die Stämme TA92, TA94, TA98, TA100, TA1535, TA1537 (Haworth et al. 1983; Henschler 1990; Miyata et al. 1981; Schoeny et al. 1979). Auch in der bisherigen Begründung und den Nachträgen noch nicht enthaltene Studien bestätigen ein negatives Resultat im *Salmonella*-Mutagenitätstest von 1,2,3- und 1,2,4-Trichlorbenzol in den Stämmen TA97 und TA100 (Kubo et al. 2002) sowie zusätzlich in den Stämmen TA1535, TA1537 und TA1538 bei Exposition gegen 1,2,4-Trichlorbenzol (Ethyl Corporation 1975).

Es wurde beobachtet, dass 1,2,4-Trichlorbenzol keine mitotische Rekombination in D3-Hefezellen induziert (Ethyl Corporation 1975), wohingegen 1,3,5-Trichlorbenzol in diesen Zellen die mitotische Rekombinationsrate erhöhte, jedoch nicht konzentrationsabhängig (Jorgenson et al. 1976).

5.6.1.2 Säugerzellen

Indikatortests zur DNA-Reparatur in Rattenhepatozyten ergaben keine Hinweise auf eine genotoxische Wirkung von 1,2,4-Trichlorbenzol (Henschler 1990; Shimada et al. 1983; Williams et al. 1989).

In Nieren- und Ovarienzellen des Chinesischen Hamsters wurden keine Chromosomenaberrationen bei Exposition gegen 1,2,3-Trichlorbenzol festgestellt (Henschler 1990; Ishidate et al. 1988; McElroy et al. 2003). Ebenso wurden keine Chromosomenaberrationen in Lungen- oder Ovarienzellen des Chinesischen Hamsters nach Exposition gegen 1,2,4- oder 1,3,5-Trichlorbenzol induziert (Henschler 1990; Ishidate et al. 1988).

Radioaktiv markiertes 1,2,4-Trichlorbenzol (0,1 mM) wurde mit mikrosomalem Protein (0,5 bzw. 1 mg Protein) aus der Rattenleber inkubiert. Es erfolgte ein Umsatz zu Trichlorphenolen und Trichlorhydrochinonen und es waren nach Inkubation 9,4 bzw. 17 % der applizierten Radioaktivität kovalent an die Proteine gebunden. Nach Zusatz von 1 mg Kalbsthymus-DNA waren 0,5 % der applizierten Radioaktivität kovalent an die DNA gebunden. Eine Lipidperoxidation erfolgte nicht. Dies wurde laut der Autoren als Beleg dafür angesehen, dass vermutlich kein extensives Redoxcycling nach Chinonbildung bei chlorierten Benzolen stattfindet (den Besten et al. 1991 a). In dieser Studie wurde jedoch nicht beschrieben, inwiefern die DNA vor der Untersuchung aufgereinigt wurde. Somit kann nicht ausgeschlossen werden, dass die gebundene Radioaktivität auf Proteinverunreinigungen in der DNA-Probe zurückzuführen war. Es ist also nicht auszuschließen, dass radioaktiv markierte Abbauprodukte (z. B. Chinone) zuvor bereits an Proteine gebunden hatten.

Tab. 3 Genotoxizität von 1,2,3-, 1,2,4- und 1,3,5-Trichlorbenzol in vitro

Endpunkt	Testsystem	Konzentration [µg/Platte] ^{a)}	wirksame Konzentration [µg/Platte] ^{a)}	Zytotoxizität [µg/Platte] ^{a)}	Ergebnis		Literatur
					-m. A.	+m. A.	
1,2,3-TCB							
Indikatorrest Bakterien, DNA-Schäden	S. typhimurium TA1535 mit Plasmid pSK1002, umu-Test auf SOS- Reparatur	0,1 mg/ml, 4 h		n. a.	-	-	Ono et al. 1992
1,2,4-TCB							
Indikatorrest Bakterien, DNA-Schäden	S. typhimurium TA1535 mit Plasmid pSK1002, umu-Test auf SOS- Reparatur	0,1 mg/ml, 4 h bzw. 2–20 h	0,1 mg/ml	n. a.	- nach 4 h + nach 2 h ++ nach 4–20 h	-	Ono et al. 1991, 1992
Indikatorrest Bakterien, differenzielle Abtötung	B. subtilis H17 (arg ⁻ , trp ⁻ , recE ⁺) B. subtilis M45 (arg ⁻ , trp ⁻ , recE ⁻)	n. a.	138 µg/ml		-	+	Matsui et al. 1989
1,3,5-TCB							
Indikatorrest Bakterien, DNA-Schäden	S. typhimurium TA1535 mit Plasmid pSK1002, umu-Test auf SOS-Reparatur	0,1 mg/ml, 4 h		n. a.	-	-	Ono et al. 1992
Indikatorrest Bakterien, differenzielle Abtötung	E. coli W3110 E. coli p3478 (polA ⁻) B. subtilis H17 B. subtilis M45 (rec ⁻)	100, 500, 1000 100, 500, 1000		- -	- -	n. g. n. g.	Jorgenson et al. 1976
1,3,5-TCB							
Genmutation E. coli	E. coli WP2	5–5000		n. a.	-	-	Jorgenson et al. 1976
1,2,3-TCB							
Genmutation S. typhimurium	S. typhimurium TA98	3,3–333,3		ab 100 (-m. A.)	-	-	Haworth et al. 1983
	S. typhimurium TA100	3,3–333,3		ab 100 (-m. A.)	-	-	
	S. typhimurium TA1535	3,3–333,3		ab 100 (-m. A.)	-	-	
	S. typhimurium TA1537	3,3–333,3		ab 100 (-m. A.)	-	-	
	S. typhimurium TA92	30–3000		ab 100 (-m. A.), bei 3000 (+m. A.)	-	-	Miyata et al. 1981
	S. typhimurium TA94	30–3000		ab 100 (-m. A.), bei 3000 (+m. A.)	-	-	
	S. typhimurium TA98	30–3000		ab 100 (-m. A.), bei 3000 (+m. A.)	-	-	Kubo et al. 2002
	S. typhimurium TA100	30–3000		ab 100 (-m. A.), ab 1000 (+m. A.)	-	-	
	S. typhimurium TA1535	30–3000		ab 100 (-m. A.), bei 3000 (+m. A.)	-	-	
	S. typhimurium TA1537	30–3000		ab 100 (-m. A.), ab 1000 (+m. A.)	-	-	
	S. typhimurium TA98	0,01; 1 mM		n. a.	-	-	Kubo et al. 2002
	S. typhimurium TA100	0,01; 1 mM		n. a.	-	-	

Tab. 3 (Fortsetzung)

Endpunkt	Testsystem	Konzentration [µg/Platte] ^{a)}	wirksame Konzentration [µg/Platte] ^{a)}	Zytotoxizität [µg/Platte] ^{a)}	Ergebnis		Literatur
					-m. A.	+m. A.	
1,2,4-TCB							
Genmutation S. typhimurium	S. typhimurium TA98	3,3–333,3		ab 100 (-m. A.)	-	-	Haworth et al. 1983
	S. typhimurium TA100	3,3–333,3		ab 100 (-m. A.)	-	-	
	S. typhimurium TA1535	3,3–333,3		ab 100 (-m. A.)	-	-	
	S. typhimurium TA1537	3,3–333,3		ab 100 (-m. A.)	-	-	
	S. typhimurium TA92	30–3000		ab 100 (-m. A.), bei 3000 (+m. A.)	-	-	Miyata et al. 1981
	S. typhimurium TA94	30–3000		ab 100 (-m. A.), bei 3000 (+m. A.)	-	-	
	S. typhimurium TA98	30–3000		ab 100 (-m. A.), bei 3000 (+m. A.)	-	-	
	S. typhimurium TA100	30–3000		ab 100 (-m. A.), bei 3000 (+m. A.)	-	-	
	S. typhimurium TA1535	30–3000		ab 100 (-m. A.), ab 1000 (+m. A.)	-	-	
	S. typhimurium TA1537	30–3000		ab 100 (-m. A.), bei 3000 (+m. A.)	-	-	
	S. typhimurium TA98	102–140 000		ab 1599	-	-	Schoeny et al. 1979
	S. typhimurium TA100	102–140 000		ab 1599	-	-	
	S. typhimurium TA1535	102–140 000		ab 1599	-	-	
	S. typhimurium TA1537	102–140 000		ab 1599	-	-	
	S. typhimurium TA98	in 5-facher Dosie- rung entsprechend Prüfrichtlinien dosiert (k. w. A.)		n. a.	-	-	Henschler 1990
	S. typhimurium TA100	s. o.		n. a.	-	-	
	S. typhimurium TA1535	s. o.		n. a.	-	-	
	S. typhimurium TA1537	s. o.		n. a.	-	-	
	S. typhimurium TA1538	s. o.		n. a.	-	-	
	S. typhimurium TA98	0,01; 1 mM		n. a.	-	-	Kubo et al. 2002
	S. typhimurium TA100	0,01; 1 mM		n. a.	-	-	
	S. typhimurium TA198	1, 10, 100, 500, 750, 1000, 5000		ab 1000	-	-	Ethyl Corporation 1975
	S. typhimurium TA100	1, 10, 100, 500, 750, 1000, 5000		ab 1000 (-m. A.)	-	-	
	S. typhimurium TA1535	1, 10, 100, 500, 750, 1000, 5000		ab 500 (-m. A.)	-	-	
	S. typhimurium TA1537	1, 10, 100, 500, 750, 1000, 5000		ab 1000	-	-	
	S. typhimurium TA1538	1, 10, 100, 500, 750, 1000, 5000		ab 500	-	-	

Tab. 3 (Fortsetzung)

Endpunkt	Testsystem	Konzentration [µg/Platte] ^{a)}	wirksame Konzentration [µg/Platte] ^{a)}	Zytotoxizität [µg/Platte] ^{a)}	Ergebnis		Literatur
					-m. A.	+m. A.	
1,3,5-TCB							
Genmutation S. typhimurium	S. typhimurium TA198	33,3–3333,3		n. a.	–	–	Haworth et al. 1983
	S. typhimurium TA100	33,3–3333,3		n. a.	–	–	
	S. typhimurium TA1535	33,3–3333,3		n. a.	–	–	
	S. typhimurium TA1537	33,3–3333,3		n. a.	–	–	
	S. typhimurium TA92	30–3000		–	–	–	Miyata et al. 1981
	S. typhimurium TA94	30–3000		–	–	–	
	S. typhimurium TA98	30–3000		–	–	–	
	S. typhimurium TA100	30–3000		–	–	–	
	S. typhimurium TA1535	30–3000		–	–	–	Henschler 1990
	S. typhimurium TA1537	30–3000		–	–	–	
	S. typhimurium TA98	100–10 000		bei 10 000	–	–	
	S. typhimurium TA100	100–10 000		bei 10 000	–	–	
	S. typhimurium TA2637	100–10 000		bei 10 000	–	–	Jorgenson et al. 1976
	S. typhimurium TA98	5–5000		n. a.	–	–	
	S. typhimurium TA100	5–5000		n. a.	–	–	
	S. typhimurium TA1535	5–5000		n. a.	–	–	
S. typhimurium TA1537	5–5000		n. a.	–	–		
S. typhimurium TA1538	5–5000		n. a.	–	–		
1,3,5-TCB							
Genmutation Hefe	Mitotische Rekombination S. cerevisiae D3	0,05–5%	n. a.	n. a.	(+) >3-fache Rate, nicht konzentrations- abh.	(+) >3-fache Rate, nicht konzentrations- abh.	Jorgenson et al. 1976
1,2,4-TCB							
Genmutation Hefe	Mitotische Rekombination S. cerevisiae D3	0,02; 0,002 % (k. w. A.)		bei 0,02 %	–	–	Ethyl Corporation 1975
1,2,4-TCB							
Indikator-test Säugerzellen	DNA-Reparatur Rattenhepatozyten	0,05–1 mM		n. a.	–	n. g.	Henschler 1990
	DNA-Reparatur F344-Ratten- hepatozyten	0,081 mM		–	–	n. g.	Williams et al. 1989
	DNA-Reparatur F344-Ratten- hepatozyten, ♂	10 ⁻⁵ –1 %		ab 0,01 %	–	n. g.	Shimada et al. 1983

Tab. 3 (Fortsetzung)

Endpunkt	Testsystem	Konzentration [µg/Platte] ^{a)}	wirksame Konzentration [µg/Platte] ^{a)}	Zytotoxizität [µg/Platte] ^{a)}	Ergebnis		Literatur
					-m. A.	+m. A.	
1,2,3-TCB							
Chromosomen- aberrationen	Chin. Hamsterzellen BHK21 (Niere)	0,0157–0,125 mg/ml; 24 h		n. a.	-	-	Henschler 1990
Chromosomen- aberrationen	Chin. Hamsterzellen CHL (Lunge)	62,5 µg/ml, 48 h		n. a.	-	n. g.	Ishidate et al. 1988
	Chin. Hamsterzellen CHL (Lunge)	Sekundärauswer- tung publizierter Daten; n. a.: Negativ- und Posi- tivkontrolle, Kon- zentrationsbereich, 3 h ± m. A. u. Substanz, danach 21 h	Chromosomen- aberrationen untersucht: „gaps, breaks, exchanges“; als negativ deklariert wenn <5 % aberrante Zellen	Zellproliferation im getesteten Bereich nicht mehr als 50 % reduziert	-	-	McElroy et al. 2003
	Chin. Hamsterzellen CHO (Ovarien)	s. o.	s. o.	s. o.	-	-	
1,2,4-TCB							
Chromosomen- aberrationen	Chin. Hamsterzellen CHO (Ovarien)	0,0313–0,125 mg/ ml, 24 h		n. a.	-	n. g.	Henschler 1990
Chromosomen- aberrationen	Chin. Hamsterzellen CHL (Lunge)	62,5 µg/ml, 48 h		n. a.	-	n. g.	Ishidate et al. 1988
1,3,5-TCB							
Chromosomen- aberrationen	Chin. Hamsterzellen CHO (Ovarien)	0,0157–0,0625 mg/ ml; 24 h		n. a.	-	n. g.	Henschler 1990
Chromosomen- aberrationen	Chin. Hamsterzellen CHL (Lunge)	62,5 µg/ml, 48 h		n. a.	-	n. g.	Ishidate et al. 1988

-: negatives Resultat; +: positives Resultat; -m. A.: ohne metabolische Aktivierung; +m. A.: mit metabolischer Aktivierung; n. a.: nicht angeben; n. g.: nicht getestet; TCB: Trichlorbenzol

^{a)} wenn nicht anders angegeben bezieht sich die Angabe auf [µg/Platte]

5.6.2 In vivo

Untersuchungen zur genotoxischen Wirkung in vivo sind in [Tabelle 4](#) für alle drei Isomere zusammengefasst.

5.6.2.1 Drosophila

Im SLRL-Test (X-chromosomal-gebundene rezessive Letalmutationen) – einem Keimzelltest mit *Drosophila melanogaster* – wurden negative Resultate bei Exposition gegen 1,3,5-Trichlorbenzol erhalten (Zimmering et al. 1985).

5.6.2.2 Tests auf Klastogenität

Mikronukleustests mit NMRI-Mäusen ergaben positive Resultate für alle drei Isomere im Knochenmark nach intraperitonealer Gabe (Mohtashamipur et al. 1987). Je fünf männliche Mäuse wurden mit 0, 105, 210, 315 oder 420 mg/kg KG des jeweiligen Isomers intraperitoneal zweimal im Abstand von 24 Stunden behandelt. Sechs Stunden nach letzter Verabreichung (30 Stunden nach erster Injektion) war die Anzahl der Mikronuklei in den polychromatischen Zellen bei allen Dosen gegenüber der Kontrolle erhöht. Es wurden 1000 polychromatische Erythrozyten ausgezählt. Die Studie weist aber deutliche methodische Mängel auf: es wurde keine mitlaufende Kontrolle, sondern nur eine zeitversetzte Kontrollgruppe für sechs untersuchte Substanzen mitgeführt, die Streubreite historischer Kontrollen wurde nicht

angegeben und Tests auf Zytotoxizität wurden nicht berichtet. In weiteren Mikronukleustests am Knochenmark von je drei Swiss-CD1-Mäusen führte eine intraperitoneale Behandlung mit je 500 mg 1,2,3- oder 1,2,4-Trichlorbenzol bzw. 650 mg 1,3,5-Trichlorbenzol/kg KG (Dosisgabe zweimalig mit 24 Stunden Abstand) zu einer erhöhten Mikronukleuszahl. Das Verhältnis der polychromatischen zu den normochromatischen Erythrozyten war bei den behandelten Tieren im Vergleich zur Kontrolle nicht verändert (Parrini et al. 1990). Insgesamt betrachtet sind die Ergebnisse beider Mikronukleustests nur als bedingt valide anzusehen. In der Studie von Parrini et al. (1990) wurden zu wenige Tiere eingesetzt und die Studie von Mohtashamipur et al. (1987) weist die oben beschriebenen methodischen Mängel auf. Das nach OECD-Prüfrichtlinie 487 vorgeschlagene Zeitintervall von 24 h wurde bei beiden Studien nicht eingehalten. Ein weiterer Mikronukleustest wurde durchgeführt, um die Ergebnisse von Mohtashamipur et al. (1987) zu überprüfen. Hierbei wurde die Substanz oral in Dosen von 0, 100, 330 oder 1000 mg/kg KG einmal verabreicht. Die Untersuchung wurde an Knochenmarkszellen von jeweils 18 weiblichen und 18 männlichen NMRI-Mäusen je Dosis durchgeführt. Nach 24 und 48 Stunden ergab der Test ein negatives Resultat. Bei 72 Stunden wurde im Vergleich zu einer laut Autoren ungewöhnlich niedrigen Kontrolle (0,01 %) eine statistisch signifikante Erhöhung gemessen. Diese wurde aber im Vergleich zu Werten historischer Kontrollen (0,07 %) als negatives Resultat bewertet (CCR Cytotest Cell Research 1990).

Tab. 4 Genotoxizität von 1,2,3-, 1,2,4- und 1,3,5-Trichlorbenzol in vivo

Testsystem	Dosis	Resultat	Anmerkungen	Literatur	
1,3,5-TCB					
SLRL X-chromosomal- gebundene rezessive Letal- mutationen	Drosophila melanogaster	5000 u. 40 000 mg/l im Futter	-	Zimmering et al. 1985	
1,2,3-TCB					
Mikronukleus- test	Maus (NMRI), 5 ♂ pro Dosis, Knochenmark	0, 125, 250, 375, 500 mg/ kg KG, 2× intraperito- neal in Maiskeimöl im Abstand von 24 h, Untersuchung 6 h nach letzter Dosisgabe	(+)	schwach positiv (Erythrozyten d. Femur-Knochen- marks), Kontrollgruppe nur für einen Behand- lungszeitpunkt (nicht alle Tiere am gleichen Versuchstag behandelt), keine Angaben zur Zyto- toxizität, Auswertung von 1000 PCE	Mohtashamipur et al. 1987
	Maus (Swiss- CD1), 3 ♂ pro Dosis, Kno- chenmark	0, 500 mg/kg KG, 2× intraperitoneal in Olivenöl im Abstand von 24 h, Untersuchung 6 h nach letzter Dosis- gabe; Positivkontrolle mit Benzol (2× 528 mg/ kg KG, Applikation wie bei 1,2,3-TCB)	+	Kontrolle: 1,16/3000 PCE; Proben mit Lösungs- mittel: 1,88/3000 PCE; Proben mit 1,2,3-TCB: 3,22/3000 PCE; Positivkontrolle Benzol: 5,13/3000 PCE PCE/NCE Verhältnis bei 1,2,3-TCB behandelten Tieren nicht verändert, hierfür 1000 PCE untersucht	Parrini et al. 1990
1,2,4-TCB					
Mikronukleus- test	Maus (NMRI), 5 ♂ pro Dosis, Knochenmark	0, 105, 210, 315, 420 mg/ kg KG, 2× intraperito- neal in Maiskeimöl im Abstand von 24 h, Untersuchung 6 h nach letzter Dosisgabe	(+)	schwach positiv (Erythrozyten d. Femur- Knochenmarks), Kontrollgruppe nur für einen Behandlungszeitpunkt (nicht alle Tiere am gleichen Versuchstag behandelt), keine Angaben zur Zytotoxizität, Auswertung von 1000 PCE	Mohtashamipur et al. 1987

Tab. 4 (Fortsetzung)

Testsystem	Dosis	Resultat	Anmerkungen	Literatur	
Maus (Swiss-CD1), 3 ♂ pro Dosis, Knochenmark	0, 500 mg/kg KG, 2× intraperitoneal in Olivenöl im Abstand von 24 h, Untersuchung 6 h nach letzter Dosisgabe; Positivkontrolle mit Benzol (2× 528 mg/kg KG, Applikation wie bei 1,2,4-TCB)	+	Kontrolle: 1,16/3000 PCE; Proben mit Lösungsmittel: 1,88/3000 PCE; Proben mit 1,2,4-TCB: 3,66/3000 PCE; Positivkontrolle Benzol: 5,13/3000 PCE PCE/NCE Verhältnis bei 1,2,4-TCB behandelten Tieren nicht verändert, hierfür 1000 PCE untersucht	Parrini et al. 1990	
Maus (NMRI), je 18 Tiere je Geschlecht und Dosis, Knochenmark	0, 100, 330, 1000 mg/kg KG, oral in Polyethylenglykol, Untersuchung nach 24, 48, 72 h	-	PCE/NCE Verhältnis nur leicht verringert; bei 24 und 48 h negatives Ergebnis, nur nach 72 h Rate der Dosisgruppen 1000 mg/kg KG statistisch signifikant zur mitlaufenden Kontrolle erhöht (0,07 gegenüber 0,01 %), 0,01 % jedoch ungewöhnlich niedrig für Kontrolle laut Autoren. Historische Kontrollen bei 0,073 % (Bereich: 0,04–0,12 %), deshalb als negativ gewertet	CCR Cytotest Cell Research 1990	
1,3,5-TCB					
Mikronukleustest	Maus (NMRI), 5 ♂ pro Dosis, Knochenmark	0; 215,5; 425; 637,5; 850 mg/kg KG, 2× intraperitoneal in Maiskeimöl im Abstand von 24 h, Untersuchung 6 h nach letzter Dosisgabe	(+)	schwach positiv (Erythrozyten d. Femur-Knochenmarks), Kontrollgruppe nur für einen Behandlungszeitpunkt (nicht alle Tiere am gleichen Versuchstag behandelt), keine Angaben zur Zytotoxizität, Auswertung von 1000 PCE	Mohtashampur et al. 1987
	Maus (Swiss-CD1), 3 ♂ pro Dosis, Knochenmark	0, 650 mg/kg KG, 2× intraperitoneal in Olivenöl im Abstand von 24 h, Untersuchung 6 h nach letzter Dosisgabe; Positivkontrolle mit Benzol (2× 528 mg/kg KG, Applikation wie bei 1,3,5-TCB)	+	Kontrolle: 1,16/3000 PCE; Proben mit Lösungsmittel: 1,88/3000 PCE; Proben mit 1,3,5-TCB: 2,42/3000 PCE; Positivkontrolle Benzol: 5,13/3000 PCE, PCE/NCE Verhältnis bei 1,3,5-TCB behandelten Tieren nicht verändert, hierfür 1000 PCE untersucht	Parrini et al. 1990

-: negatives Resultat; +: positives Resultat; (+): schwach positives Resultat; NCE: normochromatische Erythrozyten; PCE: polychromatische Erythrozyten; TCB: Trichlorbenzol

5.6.3 Fazit

In Gesamtbetrachtung der Ergebnisse lässt sich schlussfolgern, dass keine Belege für eine Mutagenität der Trichlorbenzole in Bakterien *in vitro* festgestellt wurden. In Säugerzellen liegen negative Resultate zur Genotoxizität und Klastogenität *in vitro* vor. Positiv waren lediglich Befunde einer Bindung an mikrosomale Proteine nach Inkubation mit dem 1,2,4-Isomer und einer schwachen DNA-Bindung im zellfreien System unter Zugabe von Kalbsthymus-DNA. Es ist jedoch nicht nachgewiesen, ob eine tatsächliche Bindung an DNA vorliegt oder diese Detektion auf eine Proteinbindung zurückzuführen ist. Ein positiver Befund in einem Indikatorstest *in vitro* ohne metabolische Aktivierung (umu-Test) wurde nur unter zytotoxischen Bedingungen erhalten. Ein Test auf differenzielle Abtötung an *B. subtilis* war positiv mit metabolischer Aktivierung. Alle weiteren Versuche zur Genotoxizität *in vitro*, insbesondere in Säugerzellen, verliefen negativ. In-vivo-Untersuchungen erbrachten negative Resultate für eine Genotoxizität in *Drosophila*. Für alle drei Isomere liegen positive Befunde in nicht validen Mikronukleustests in NMRI- bzw. Swiss-CD1-Mäusen vor. Beide Studien sind mit mehreren methodischen Mängeln behaftet und aus heutiger Sicht nicht uneingeschränkt für eine Bewertung nutzbar. In Hinblick dessen ist es besonders hervorzuheben, dass in einem validen Mikronukleustest mit oraler Dosisgabe an NMRI-Mäusen ein negatives Resultat erzielt wurde. Es ist somit nicht von einer klastogenen Wirkung der Trichlorbenzole *in vivo* anhand valider Studien auszugehen. Diese Schlussfolgerung wird auch dadurch

gestützt, dass in vitro ebenfalls keine positiven Befunde zur Klastogenität vorliegen. Somit sind die Trichlorbenzole in der Gesamtschau als nicht genotoxisch zu bewerten.

5.7 Kanzerogenität

Die vorliegenden Daten zur kanzerogenen Wirkung der Trichlorbenzole wurden bereits in der Begründung aus dem Jahr 1990 und dem Nachtrag aus dem Jahr 1996 dargestellt (Greim 1996; Henschler 1990). Im Folgenden wird die Datengrundlage neu bewertet, zusammengefasst und um aktuelle Studienergebnisse ergänzt.

5.7.1 Kurzzeitstudien

Rattenleberepithelzellen (ARL) wurde in einem In-Vitro-Versuch zur Untersuchung der Zelltransformation dreimalig gegen 1,46; 14,6; 146,34 oder 1463,4 µg 1,2,4-Trichlorbenzol/ml für 0, 2 oder 4 Stunden exponiert und nach 5, 9 oder 12 Stunden Postexpositionsintervall untersucht. Es ergab sich ein positives Resultat zwölf Stunden nach der Exposition (Shimada et al. 1983). Die beobachteten Zelltransformationen traten jedoch nur bei einer gleichzeitigen Zytotoxizität der Substanz auf. Eine Bewertung einer kanzerogenen Wirkung ist basierend auf dieser Studie nicht möglich.

1,2,3-, 1,2,4- und 1,3,5-Trichlorbenzol wurden jeweils auf eine mögliche tumorpromovierende Wirkung im „Rattenleber-Foci-Bioassay“ untersucht. Hierbei wurde eine mögliche Zunahme der Gamma-Glutamyltranspeptidase-positiven Foci (GGT-Foci) in der Rattenleber nach Initiation mit Diethylnitrosamin untersucht. Dazu erhielten 7, 9 bzw. 10 männliche und 2, 7 bzw. 10 weibliche Sprague-Dawley-Ratten eine und fünf Wochen nach Initiation mit 0,5 mmol Diethylnitrosamin/kg KG 1,2,3-, 1,2,4- oder 1,3,5-Trichlorbenzol einmalig in einer Dosis von 1,0 mmol/kg KG (181 mg/kg KG) intraperitoneal verabreicht. Die Tiere wurden zwei Wochen nach der letzten Dosisgabe getötet und untersucht. Keines der Isomere erhöhte die Inzidenz der GGT-Foci in der Leber der Tiere (EC 2003; Henschler 1990; Herren-Freund und Pereira 1986). Die Studie ist aufgrund ihrer Durchführung nicht geeignet, eine tumorpromovierende Wirkung der Trichlorbenzole zu überprüfen bzw. zu widerlegen, da nur zwei intraperitoneale Dosisgaben erfolgt sind und diese Anzahl zu gering ist, um eine mögliche Promotion zu bewirken. Diese Anzahl ist auch insbesondere im Zusammenhang mit der Halbwertszeit der Trichlorbenzole im Körper nicht ausreichend.

5.7.2 Langzeitstudien

5.7.2.1 Orale Aufnahme

Die Daten zur kanzerogenen Wirkung nach oraler Aufnahme sind in [Tabelle 5](#) aufgeführt.

In einer 104-wöchigen Fütterungsstudie wurde 1,2,4-Trichlorbenzol (98,9 % Reinheit) an je 50 F344-Ratten pro Geschlecht und Dosisgruppe verabreicht. Die Studie wurde nach OECD-Prüfrichtlinie 451 durchgeführt. Die Dosen betragen 0, 150, 350 und 1200 mg/kg Futter. Dies entsprach einer täglichen Aufnahme von 0; 5,6; 19,4 oder 66,5 mg 1,2,4-Trichlorbenzol/kg KG für männliche Tiere und 0; 6,9; 23,5 oder 81,4 mg 1,2,4-Trichlorbenzol/kg KG für die weiblichen Tiere. Die höchste Dosis wurde als maximal tolerierbare Dosis (MTD) bezeichnet. Es wurden neben der kanzerogenen Wirkung auch Mortalität, Körpergewichte, Nahrungsaufnahme, hämatologische Parameter und Organengewichte untersucht. Es erfolgte eine umfassende pathologische und histopathologische Untersuchung. Nur in der hohen Dosisgruppe wurden bei den Tieren adverse nicht-neoplastische Wirkungen festgestellt ([Abschnitt 5.2.2](#)). In der höchsten Dosisgruppe überlebten 60 % der männlichen und 72 % der weiblichen Tiere. In allen Gruppen traten mononukleäre Leukämie und Karzinome in der Hypophyse und der Zymbaldrüse (histologische Untersuchung nur bei Befund) der Tiere auf und bedingten die Mortalität in allen Dosisgruppen. Die neoplastischen Befunde wurden als nicht substanzbedingt und in ihrer Inzidenz nicht statistisch signifikant gegenüber der Kontrolle erhöht bewertet (ATSDR 2014; CMA 1994 a; EC 2003; Greim 1996; US EPA 2009 b). Mononukleäre Leukämie und Hypophysentumoren entwickeln sich auch spontan in dem hierfür suszeptiblen Rattenstamm F344 (Maronpot et al. 2016). Dies erklärt die Inzidenz dieser Tumoren bei allen untersuchten Tieren inklusive der Kontrollen. Die Tumoren der Zymbaldrüse haben eine geringe Spontaninzidenz bei F344-Ratten. Deshalb wurden diese in einer Folgestudie erneut histopathologisch untersucht. Es ergaben sich

keine Hinweise auf eine statistisch signifikant erhöhte Entwicklung dieser Tumoren in den exponierten Gruppen im Vergleich zur Kontrollgruppe. Ein Trendtest war negativ und ein Signifikanztest nach Fisher ergab einen Wert von $p = 0,056$ (Moore 2000 beschrieben in EC (2003)). Es ist hervorzuheben, dass der Mensch keine Zymbaldrüse besitzt und Tumoren in diesem Organ im Nagetiermodell bei Exposition gegen eine nicht genotoxische Substanz keine Humanrelevanz besitzen (Cohen 2004; Laube et al. 2019).

In einer weiteren 104-Wochen-Fütterungsstudie wurde 1,2,4-Trichlorbenzol (98,9 % Reinheit) an je 50 B6C3F1-Mäuse pro Geschlecht und Dosis verabreicht. Die Studiendurchführung entspricht der OECD-Prüfrichtlinie 451. Die Gehalte betragen 0, 150, 700 und 3200 mg/kg Futter. Dies entsprach einer täglichen Aufnahme von 0, 21, 100 oder 520 mg 1,2,4-Trichlorbenzol/kg KG für männliche Tiere und 0, 26, 127 oder 573 mg 1,2,4-Trichlorbenzol/kg KG für die weiblichen Tiere. Die höchste Dosis wurde als MTD bezeichnet. Es wurden neben der kanzerogenen Wirkung auch Mortalität, Körpergewichte, Futteraufnahme, hämatologische Parameter und Organgewichte untersucht. Es erfolgte eine umfassende pathologische und histopathologische Untersuchung. In den Dosisgruppen traten adverse nicht-neoplastische Wirkungen auf (Abschnitt 5.2.2). Bei 520 bzw. 573 mg/kg KG und Tag überlebten im Vergleich zu den anderen Gruppen statistisch signifikant weniger Tiere nach 104 Wochen. Ebenso waren die Körpergewichte und Körpergewichtszunahmen der Tiere beider Geschlechter statistisch signifikant geringer. Es traten bei 100 % der männlichen und 92 % der weiblichen Tiere Leberkarzinome auf, bei 4 % der männlichen und 15 % der weiblichen Tiere Leberadenome und es wurde eine zentrilobuläre Hepatozytomegalie bei 40 % bzw. 16 % der männlichen und weiblichen Tiere festgestellt. Nach Exposition gegen 100 bzw. 127 mg/kg KG und Tag entwickelten sich Leberkarzinome bei 54 % bzw. 56 % der männlichen und weiblichen Tiere, Leberadenome bei je 32 % der männlichen und weiblichen Mäuse und eine zentrilobuläre Hepatozytomegalie trat bei 54 % der männlichen und 2 % der weiblichen Tiere auf. Bei 21 bzw. 26 mg/kg KG und Tag wurde im Vergleich zur Kontrollgruppe keine statistisch signifikant erhöhte Entwicklung von Adenomen oder Karzinomen festgestellt. Es traten in der niedrigen Dosisgruppe bei 14 % der männlichen und bei 8 % der weiblichen Tiere Leberadenome und bei 10 % bzw. 2 % der Tiere Leberkarzinome auf. Es wurde keine erhöhte zentrilobuläre Hepatozytomegalie festgestellt. Es ist aber hervorzuheben, dass auch in der Kontrollgruppe Leberadenome bei 8 % der männlichen und bei 6 % der weiblichen Tiere sowie Leberkarzinome bei 16 % der männlichen und bei 2 % der weiblichen Tiere auftraten. Bei keinem der Tiere entwickelten sich Tumore in anderen Organen oder Geweben als der Leber. Die Leberkarzinome entwickelten sich dosisabhängig mit der Schwere der beobachteten adversen Lebereffekte und in der höchsten Dosisgruppe mit einer sehr hohen Inzidenz. Sie wurden bei 100 % der männlichen und 92 % der weiblichen Tiere festgestellt. In der niedrigen Dosisgruppe wurden zwar erhöhte Lebergewichte, aber keine erhöhten Tumorinzidenzen beobachtet (CMA 1994 a; Greim 1996). Limitierungen der Studie sind die hohe Mortalität der hohen Dosisgruppen mit nur 10 % überlebenden männlichen Tieren und keinen überlebenden weiblichen Tieren. Nach Angabe der Autoren war das frühzeitige Verenden der Tiere auf die Tumoren in der Leber zurückzuführen. Des Weiteren ist die Nutzung des B6C3F1-Mausstammes als kritisch zu bewerten, da dieser Stamm häufig Lebertumoren bei Einwirkung von lebertoxischen Substanzen ausbildet und diese Neoplasien generell häufiger in diesem Stamm auftreten (Laube et al. 2019; Maronpot 2009). Eine lebertoxische Wirkung der Trichlorbenzole ist in Abschnitt 2 und 5.2 beschrieben und kann in engem Zusammenhang mit der Tumorentwicklung stehen.

Tab. 5 Studien zur Kanzerogenität von 1,2,4-Trichlorbenzol nach oraler Aufnahme

Autor:	CMA 1994 b
Stoff:	1,2,4-Trichlorbenzol (98,9 % rein)
Spezies:	Ratte , F344, je 50 ♂, ♀
Applikation:	im Futter
Dosis:	0, 100, 350 oder 1200 mg/kg Futter ♂: 0; 5,6; 19,4; 66,5 mg/kg KG und Tag ♀: 0; 6,9; 23,5; 81,4 mg/kg KG und Tag
Dauer:	104 Wochen
Toxizität:	Mortalität ↑, weitere adverse Effekte siehe Abschnitt 5.2.2

Tab. 5 (Fortsetzung)

		Dosis (mg/kg KG und Tag)			
		0	5,6 bzw. 6,9 ^{a)}	19,4 bzw. 23,5 ^{a)}	66,5 bzw. 81,4
Überlebende	♂	41/50 (82 %)	39/49 (80 %)	42/50 (84 %)	30/50 (60 %)
	♀	38/50 (76 %)	37/49 (76 %)	36/50 (72 %)	36/50 (72 %)
Neoplasien:					
Blut:					
mononukleäre Leukämie	♂	15/50 (30 %)	13/49 (27 %)	18/50 (36 %)	21/50 (42 %)
	♀	10/50 (20 %)	10/49 (20 %)	13/50 (26 %)	10/50 (20 %)
Zymbaldrüse:					
Adenome und Karzinome	♂	1/50 (2 %)	0/49	1/50 (2 %)	4/50 (8 %)
	♀	0/50	2/49 (4 %) ^{b)}	0/50	2/50 (4 %)
beide Geschlechter kombiniert	♂♀	1/100 (1 %)	2/98 (3 %)	1/100 (1 %)	6/100 (6 %)
Hypophyse:					
Adenome und Karzinome	♂	19/50 (38 %)	13/49 (27 %)	8/50 (16 %)	12/50 (24 %)
	♀	19/50 (38 %)	22/49 (45 %)	19/50 (38 %)	21/50 (42 %)
Autor:		CMA 1994 a			
Stoff:		1,2,4-Trichlorbenzol (98,9% rein)			
Spezies:		Maus, B6C3F1, je 50 ♂, ♀			
Applikation:		im Futter			
Dosis:		0, 150, 700 oder 3200 mg/kg Futter			
		♂: 0, 21, 100, 520 mg/kg KG und Tag			
		♀: 0, 26, 127, 573 mg/kg KG und Tag			
Dauer:		104 Wochen			
Toxizität:		Mortalität ↑, weitere adverse Effekte siehe Abschnitt 5.2.2			
		Dosis (mg/kg KG und Tag)			
		0	21 bzw. 26	100 bzw. 127	520 bzw. 573
Überlebende	♂	45/50 (90 %)	44/49 (90 %)	41/50 (82 %)	5/50 (10 %)
	♀	39/50 (78 %)	37/49 (76 %)	42/50 (84 %)	0/50 (0 %)
Tumoren und Präneoplasien					
Leber:					
Leberadenome	♂	4/50 (8 %)	7/50 (14 %)*	16/50 (32 %)*	2/50 (4 %)
	♀	3/50 (6 %)	4/50 (8 %)	16/50 (32 %)*	8/50 (16 %)*
Leberkarzinome	♂	8/50 (16 %)	5/50 (10 %)	27/50 (54 %)*	50/50 (100 %)*
	♀	1/50 (2 %)	1/50 (2 %)	28/50 (56 %)*	46/50 (92 %)*
zentrilobuläre Hepatozytomegalie	♂	0/50	0/50	27/50 (54 %)*	20/50 (40 %)*
	♀	0/50	0/50	1/50 (2 %)	8/50 (16 %)*

a) histologische Untersuchung nur bei Befund, in Hochdosisgruppe alle Tiere histologisch untersucht

b) einer der Tumoren wurde als Adenom charakterisiert, alle weiteren Tumoren der Zymbaldrüse waren Karzinome, bei der histopathologischen Nachuntersuchung wurden alle als Karzinome bewertet (EC 2003) und ein weiteres Karzinom bei einem weiblichen Tier gefunden (Gesamtinzidenz 3/100)

*p < 0,05

5.7.2.2 Dermale Aufnahme

Es wurden 75 Slc:ddY-Mäusen je Geschlecht und Dosisgruppe 0,03 ml einer 30- bzw. 60%igen Lösung von 1,2,4-Trichlorbenzol in Aceton zweimal wöchentlich auf die Rückenhaut für eine Dauer von 104 Wochen aufgetragen. Dies entsprach ca. 250 bzw. 500 mg/kg KG und Tag. Kontrollgruppen wurden gegen Aceton exponiert. Gänzlich unbehandelte Tiere

wurden nicht untersucht. Es waren sehr hohe Mortalitätsraten in allen Tiergruppen, inklusive der Kontrollgruppen, zu verzeichnen. Somit lag der Anteil überlebender exponierter Tiere in der 83. Woche unter 10 % für die männlichen und unter 15 % für die weiblichen Tiere. Die Todesursachen wurden auf Respirationstraktinfekte, Amyloidosen der Leber, Milz und Niere und auf Tumorbildungen in Lunge, Niere, Magen, Blase, Mamma und Haut zurückgeführt. Histopathologische Untersuchungen ergaben, dass Tiere der hohen Dosisgruppe mehr Befunde aufwiesen als die anderen Gruppen, jedoch wurde die untersuchte Tierzahl nicht angegeben. Ebenso fehlen Zeitangaben zur Tumorentwicklung. Tumoren traten bei den exponierten Tieren und in den Kontrollgruppen auf und wurden als spontan und nicht substanzbedingt charakterisiert. Auch hier fehlen Angaben, ob die Tumoren in verschiedenen Tieren gefunden wurden oder ob sich auch mehrere Tumoren in einzelnen Tieren bildeten. Die Hauttumore wurden als Plattenepithelkarzinome, Papillome und Fibrome charakterisiert (Henschler 1990; US EPA 2009 b; Yamamoto et al. 1982). Aufgrund der methodischen Mängel, hohen Mortalitätsraten und unzureichend berichteten Befunde ist diese Studie nicht zur Bewertung heranzuziehen.

5.7.3 Fazit

In der Gesamtschau lässt sich festhalten, dass keine verwertbaren Daten zur Untersuchung der kanzerogenen Wirkung von 1,2,3- bzw. 1,3,5-Trichlorbenzol aus Langzeitstudien vorliegen. Ein In-vitro-Zelltransformationstest mit 1,2,4-Trichlorbenzol an Rattenleberepithelzellen ergab ein positives Resultat nur bei zytotoxischer Konzentration und ist somit nicht zur Bewertung nutzbar. Eine tumorpromovierende Wirkung konnte anhand von Rattenleber-Foci-Untersuchungen mit 1,2,4-Trichlorbenzol aufgrund der Versuchsdurchführung nicht ausgeschlossen werden. Eine unzureichend berichtete und methodisch nicht mängelfrei durchgeführte Studie zur kanzerogenen Wirkung von 1,2,4-Trichlorbenzol nach dermalen Applikation lässt keine Rückschlüsse auf eine mögliche derartige Wirkung zu. In Fütterungsstudien mit 1,2,4-Trichlorbenzol an F344-Ratten und B6C3F1-Mäusen entwickelten sich benigne und maligne Lebertumoren in den Mäusen bei 100 bzw. 127 mg/kg KG und Tag mit statistisch signifikant erhöhter Inzidenz. In der Fütterungsstudie mit F344-Ratten traten in diesem Tierstamm selten vorkommende Zymbaldrüsentumoren auf, jedoch in nicht statistisch signifikant erhöhten Inzidenzen. Weitere Neoplasien ohne statistisch erhöhte Signifikanz waren mononukleäre Leukämien und Tumoren der Hypophyse. In der Gesamtbetrachtung ist eine Humanrelevanz der Tumorbefunde bei Ratte und Maus nicht zu begründen, da Leberadenome und -karzinome nur bei einer Spezies in erhöhter Inzidenz in einem dafür besonders suszeptiblen Mausstamm auftreten und keine Tumorbefunde in anderen Organen festgestellt wurden. Zudem sind auch die in Ratten selten vorkommenden Tumoren der Zymbaldrüse bei Exposition gegen nicht genotoxische Substanzen, wie die Trichlorbenzole, als nicht humanrelevant anzusehen. Eine fehlende Humanrelevanz wird dadurch unterstützt, dass die beobachteten mononukleären Leukämien in den F344-Ratten eine hohe Spontaninzidenz in diesem Stamm aufweisen und auch die Anzahl der Tumoren der Hypophyse bei exponierten Tieren nicht statistisch signifikant höher war als in der Kontrollgruppe.

5.8 Sonstige Wirkungen

Untersuchungen mit V79-Lungenfibroblasten des Chinesischen Hamsters ergaben deutliche Nachweise, dass alle drei Isomere eine stark zytotoxische Wirkung auf diese Zellen aufweisen. Gemäß der NRU-Inhibition (Neutralrotaufnahmetest) waren 1,2,3-, 1,2,4- und 1,3,5-Trichlorbenzol zytotoxisch in Konzentrationen von 0,1; 0,1 bzw. 1 mg/ml. Gemäß dem Test auf Koloniebildungsfähigkeit (CFA-Test) waren 1,2,3-, 1,2,4- und 1,3,5-Trichlorbenzol zytotoxisch in Konzentrationen von 0,24 (0,04 mg/ml), 0,23 (0,04 mg/ml) bzw. >4,1 mM (0,74 mg/ml). Mittels Durchflusszytometrie (FACScan) erwiesen sich 1,2,3-, 1,2,4- und 1,3,5-Trichlorbenzol zytotoxisch in Konzentrationen von 0,01; 0,01 bzw. 0,1 mg/ml (Fratello et al. 1997). Weiterhin bestätigen Untersuchungen eine zytotoxische Wirkung in Ovarienzellen des Chinesischen Hamsters bei Inkubation mit 0,5 mg 1,2,4-Trichlorbenzol/ml (Garrett und Lewtas 1983). Zudem liegen weitere Belege für eine Zytotoxizität von 1,2,4-Trichlorbenzol in alveolaren Makrophagen von Kaninchen, Embryonalzellen des Syrischen Goldhamsters sowie in Fibroblasten von neonatalen Balb-3T3-Mäusen und Menschen vor (Garrett et al. 1983). In der Gesamtschau bestätigen diese Studien eine hohe Zytotoxizität der Isomere in Säugerzellen, die auch bereits in Versuchen mit Bakterien und Hefezellen beobachtet wurde.

6 Bewertung

Kritische Effekte der Trichlorbenzole sind die adverse Wirkung auf die Leber von Mäusen und Ratten und die Nieren von Ratten im Tierversuch. Ratten sind als die sensitivste Spezies anzusehen.

MAK-Wert. Die Isomere 1,2,3-, 1,2,4- und 1,3,5-Trichlorbenzol werden ähnlich metabolisiert. Eine initiale Bildung von Arenoxiden, welche in polare phenolische Zwischenstufen umgewandelt werden, findet im Metabolismus aller drei Isomere statt. Verschiedene Phase-I-Enzyme der Leber werden zum Teil von allen drei Isomeren induziert, am stärksten jedoch durch 1,2,4-Trichlorbenzol. Zielorgane sind bei allen drei Isomeren vor allem Leber und Niere. 1,2,4-Trichlorbenzol weist, gemäß der limitierten Datenlage zur akuten Toxizität und Belegen aus einer Studie zur Entwicklungstoxizität (Black et al. 1988), eine höhere toxische Wirkung auf als die beiden anderen Isomere. Die porphyrinogene Wirkung ist beim 1,2,4-Isomer am höchsten, was mit dessen stärkster Induktion der δ -Aminolävulinsäuresynthase im Vergleich zu den anderen Isomeren in Übereinstimmung ist. Zudem liegt die überwiegende Anzahl an Studien zur Bewertung nur mit dem 1,2,4-Isomer vor. Aufgrund der beschriebenen Analogie im Metabolismus und auf Basis der vorliegenden Daten werden alle drei Isomere gemeinsam bewertet. Diesem Vorgehen liegt eine Sicherheitsabschätzung zu Grunde, die einen MAK-Wert für alle drei Isomere anhand einer NOAEC des am stärksten toxisch wirkenden Isomers (1,2,4-Trichlorbenzol) beinhaltet. Es wird insbesondere so verfahren, da die Datenlage für eine eigenständige Grenzwertableitung von 1,2,3- bzw. 1,3,5-Trichlorbenzol nicht ausreicht.

In einer 90-Tage-Inhalationsstudie an Ratten wird bei 10 ml 1,2,4-Trichlorbenzol/m³ als alleiniger substanzbedingter adverser Effekt eine erhöhte Ausscheidung von Uroporphyrin und Koproporphyrin (Störung des Porphyrinstoffwechsels) festgestellt. Die NOAEC liegt bei 3 ml/m³. Dies geht laut der Autoren anderen adversen Wirkungen der Substanz, welche in Studien mit inhalativer oder oraler Dosisgabe festgestellt werden, zeitlich voraus (Dow Chemicals Company 1977). In einer Vorgängerstudie mit Ratten und vergleichbarem Versuchsaufbau traten neben der Störung des Porphyrinstoffwechsels keine weiteren substanzbedingten histopathologischen Effekte bei Exposition gegen 30 ml 1,2,4-Trichlorbenzol/m³ auf (Kociba et al. 1981). Somit ist zu schlussfolgern, dass die bei Exposition gegen 10 ml 1,2,4-Trichlorbenzol/m³ auftretende Stoffwechselstörung bezüglich des Porphyrins nicht nur eine zeitlich früh auftretende adverse Wirkung darstellt, sondern zugleich auch dem empfindlichsten Endpunkt der systemischen toxischen Wirkung der Substanz in Ratten entspricht. Es wird daher basierend auf der NOAEC von 3 ml/m³ ein MAK-Wert abgeleitet. Hierbei wird das erhöhte Atemvolumen am Arbeitsplatz (1:2) und die Übertragung der Tierversuchsdaten auf den Menschen (1:2) berücksichtigt. Eine Wirkungsverstärkung bei chronischer Exposition für diesen Endpunkt ist aufgrund der erhobenen Versuchsdaten aus der Inhalationsstudie von Kociba et al. (1981) nicht festzustellen. Ebenso ergeben sich keine Belege für eine zeitliche Wirkungsverstärkung der Lebereffekte gemäß der Inhalationsstudie von Coate et al. (1977). Somit ergibt sich ein Wert von 0,75 ml 1,2,4-Trichlorbenzol/m³ (5,6 mg/m³). Unter Berücksichtigung des Preferred-Value-Approach wird für alle Trichlorbenzole ein MAK-Wert von 0,5 ml/m³ (3,8 mg/m³) festgelegt. Der Dampfdruck von 1,2,3- und 1,3,5-Trichlorbenzol, die als Feststoffe vorliegen, ist so hoch, dass deren MAK-Wert auch in ml/m³ festgelegt werden kann. Da das strukturverwandte 1,4-Dichlorbenzol bei höherer Reizwirkung einen MAK-Wert von 2 ml/m³ besitzt (Hartwig und MAK Commission 2018), schützt der auf systemischer Wirkung beruhende MAK-Wert der Trichlorbenzole auch bei einem Überschreitungsfaktor von 2 vor deren Reizwirkung. Diese Annahme wird auch dadurch unterstützt, dass in Inhalationsstudien mit Affen bzw. Kaninchen und Ratten nach Exposition gegen 25 bzw. 100 ml 1,2,4-Trichlorbenzol/m³ für 26 Wochen keine Effekte am Atemtrakt festgestellt wurden (Coate et al. 1977). Ebenso traten diese nicht bei Ratten nach 13-wöchiger Exposition gegen 100 mg 1,3,5-Trichlorbenzol/m³ (ca. 13 ml/m³) auf (Sasmore et al. 1983). Eine lokale Wirkung der Trichlorbenzole am Atemtrakt ist somit bei Einhaltung des MAK-Werts nicht zu vermuten.

Spitzenbegrenzung. Da der MAK-Wert anhand der systemischen Wirkung abgeleitet wird, erfolgt die Spitzenbegrenzung nach Kategorie II. Vorliegende Daten zu den Halbwertszeiten der Trichlorbenzolisomere und ihrer Metaboliten sind als nicht ausreichend zu betrachten. Aus diesem Grund wird der Standard-Überschreitungsfaktor 2

festgelegt. Bei Einhaltung des Faktors ist, wie im vorhergehenden Abschnitt zum MAK-Wert beschrieben, keine Reizwirkung der Trichlorbenzole anzunehmen.

Fruchtschädigende Wirkung. In einer pränatalen Entwicklungstoxizitätsstudie mit Schlundsondengabe an Sprague-Dawley-Ratten wurden bis zu den höchsten Dosen, die bereits maternaltoxisch waren, keine entwicklungstoxischen Effekte festgestellt. Daher ergeben sich NOAEL für Entwicklungstoxizität von 300 mg 1,2,4-Trichlorbenzol/kg KG und Tag sowie 600 mg 1,2,3- bzw. 1,3,5-Trichlorbenzol/kg KG und Tag (Black et al. 1988; Greim 2007; Henschler 1990). In einer Multigenerationenstudie mit Trinkwassergabe an Sprague-Dawley-Ratten trat ebenfalls bis zur höchsten Dosis, die zu parentaltöxischen Effekten führte, keine perinatale Toxizität auf. Daher lässt sich ein NOAEL für perinatale Toxizität von 54 mg 1,2,4-Trichlorbenzol/kg KG und Tag ableiten. Zur toxikokinetischen Übertragung der NOAEL für Entwicklungstoxizität bzw. perinatale Toxizität in eine Konzentration in der Luft am Arbeitsplatz werden berücksichtigt: bei der Multigenerationenstudie die tägliche Exposition der Tiere im Vergleich zur fünftägigen Exposition pro Woche am Arbeitsplatz (7:5), bei beiden Studien der dem toxikokinetischen Unterschied zwischen der Ratte und dem Menschen entsprechende speziesspezifische Korrekturwert (1:4), die experimentell bestimmte orale Resorption (80 %; ATSDR 2014), das Körpergewicht (70 kg) und das Atemvolumen (10 m³) des Menschen sowie die angenommene 100%ige inhalative Resorption. Damit errechnen sich entsprechende Konzentrationen von 840 mg/m³ (Entwicklungstoxizität von 1,2,3- und 1,3,5-Trichlorbenzol) und 420 mg/m³ (Entwicklungstoxizität von 1,2,4-Trichlorbenzol) bzw. 106 mg/m³ (perinatale Toxizität von 1,2,4-Trichlorbenzol), was einem 224-, 112- bzw. 28-fachen Abstand zum MAK-Wert von 3,8 mg/m³ entspricht. Aufgrund der hohen Abstände der umgerechneten NOAEL zum MAK-Wert, zusammen mit der fehlenden Teratogenität, verbleiben die beiden Isomere 1,2,3- und 1,3,5-Trichlorbenzol in der Schwangerschaftsgruppe C. 1,2,4-Trichlorbenzol wird ebenfalls dieser Schwangerschaftsgruppe zugeordnet.

Krebserzeugende Wirkung. Es wurden nach oraler Exposition gegen 1,2,4-Trichlorbenzol bei B6C3F1-Mäusen benigne und maligne Tumoren in der Leber festgestellt. Diese Befunde traten nur bei gleichzeitiger ausgeprägter Lebertoxizität auf und sind als nicht humanrelevant anzusehen (siehe [Abschnitt 2](#) und [Abschnitt 5.7](#)). Bei F344-Ratten wurde keine statistisch signifikant erhöhte Inzidenz von Tumoren festgestellt. Die spontan nur selten auftretenden Tumoren in der Zymbaldrüse sind bei einem nicht genotoxischen Stoff als nicht humanrelevant anzusehen (Laube et al. 2019). In der Gesamtbetrachtung der Daten sind die Trichlorbenzole als nicht genotoxisch zu bewerten. Basierend auf der gesamten Datenlage zur Kanzerogenität, dem Wirkungsmechanismus und einer nicht genotoxischen Wirkung werden 1,2,3-, 1,2,4- und 1,3,5-Trichlorbenzol nicht in eine Kategorie für Kanzerogene eingestuft. Der MAK-Wert schützt vor der adversen Wirkung auf die Leber und somit auch vor einer in Folge auftretenden tumorpromovierenden Wirkung.

Keimzellmutagene Wirkung. 1,2,3-, 1,2,4-, und 1,3,5-Trichlorbenzol wirken *in vitro* nicht mutagen in Bakterien und nicht klastogen in Säugerzellen sowie *in vivo* nicht klastogen in validen Studien. Daten an Keimzellen liegen nicht vor. Daher werden 1,2,3-, 1,2,4-, und 1,3,5-Trichlorbenzol nicht in eine Kategorie für Keimzellmutagene eingestuft.

Hautresorption. Zur Aufnahme der drei Trichlorbenzolisomere über die Haut liegen keine quantitativen Daten vor. Tierversuche belegen eine Induzierbarkeit von systemisch-toxischen Effekten durch dermale Applikation von 1,2,4-Trichlorbenzol. Für den Menschen lassen sich bezogen auf 1,2,4-Trichlorbenzol, dem am besten penetrierenden und am stärksten toxischen Isomer, anhand von Modellrechnungen unter Standardbedingungen (einstündige Exposition von 2000 cm² Hautfläche gegen eine gesättigte wässrige Lösung) dermale Aufnahmemengen von 12,7 mg und mehr abschätzen. Bei der systemisch tolerablen Konzentration von 5,6 mg/m³ werden unter Annahme einer 100%igen inhalativen Resorption und eines Atemvolumens von 10 m³ 56 mg Trichlorbenzol aufgenommen. Durch Hautresorption können demnach Aufnahmemengen erreicht werden, die deutlich oberhalb von 25 % der systemisch tolerablen Menge liegen. 1,2,3-, 1,2,4- und 1,3,5-Trichlorbenzol werden daher weiterhin mit „H“ markiert.

Sensibilisierende Wirkung. Zur hautsensibilisierenden Wirkung von 1,2,4- und 1,3,5-Trichlorbenzol liegen weiterhin keine Befunde beim Menschen und keine positiven Ergebnisse aus experimentellen Untersuchungen am Tier oder aus *In-vitro*-Untersuchungen vor. 1,2,4- und 1,3,5-Trichlorbenzol werden daher weiterhin nicht mit „Sh“ markiert. Für 1,2,3-Trichlorbenzol weist ein valider LLNA-Test auf ein hautsensibilisierendes Potenzial hin, daher erfolgt eine Markierung mit „Sh“. Die Indices für die Ohrschwellung und Masse zeigten keine signifikanten Abweichungen von

den Kontrollwerten. Damit ist das positive Testergebnis des LLNA hinsichtlich der Zellproliferation offenbar nicht durch irritative Effekte von 1,2,3-Trichlorbenzol beeinträchtigt. Es liegen keine Daten zur atemwegssensibilisierenden Wirkung vor, daher erfolgt für alle drei Isomere weiterhin keine Markierung mit „Sa“.

Anmerkungen

Interessenkonflikte

Die in der Kommission etablierten Regelungen und Maßnahmen zur Vermeidung von Interessenkonflikten (www.dfg.de/mak/interessenkonflikte) stellen sicher, dass die Inhalte und Schlussfolgerungen der Publikation ausschließlich wissenschaftliche Aspekte berücksichtigen.

Literatur

- Ariyoshi T, Ideguchi K, Iwasaki K, Arakaki M (1975 a) Relationship between chemical structure and activity. II. Influences of isomers in dichlorobenzene, trichlorobenzene, and tetrachlorobenzene on the activities of drug-metabolizing enzymes. *Chem Pharm Bull* 23(4): 824–830. <https://doi.org/10.1248/cpb.23.824>
- Ariyoshi T, Ideguchi K, Iwasaki K, Arakaki M (1975 b) Relationship between chemical structure and activity. III. Dose-response or time-course of induction in microsomal enzymes following treatment with 1,2,4-trichlorobenzene. *Chem Pharm Bull* 23(4): 831–836. <https://doi.org/10.1248/cpb.23.831>
- Ashton TM, McKenna WG, Kunz-Schughart LA, Higgins GS (2018) Oxidative phosphorylation as an emerging target in cancer therapy. *Clin Cancer Res* 24(11): 2482–2490. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-17-3070>
- ATSDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry) (2014) Toxicological profile for trichlorobenzenes. Atlanta, GA: ATSDR. <https://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp199.pdf>, abgerufen am 12 Jan 2021
- Bakke JE, Huwe JK, Mulford DJ, Bergman Å (1992) Metabolism of 1,2,4-trichlorobenzene in rats: examination of thiol formation. *Xenobiotica* 22(2): 199–210. <https://doi.org/10.3109/00498259209046618>
- Basketter D, Kolle SN, Schrage A, Honarvar N, Gamer AO, van Ravenzwaay B, Landsiedel R (2012) Experience with local lymph node assay performance standards using standard radioactivity and nonradioactive cell count measurements. *J Appl Toxicol* 32(8): 590–596. <https://doi.org/10.1002/jat.1684>
- den Besten C, Smink MCC, de Vries EJ, van Bladeren PJ (1991 a) Metabolic activation of 1,2,4-trichlorobenzene and pentachlorobenzene by rat liver microsomes: A major role for quinone metabolites. *Toxicol Appl Pharmacol* 108(2): 223–233. [https://doi.org/10.1016/0041-008X\(91\)90113-S](https://doi.org/10.1016/0041-008X(91)90113-S)
- den Besten C, Vet JJRM, Besselink HT, Kiel GS, van Berkel BJM, Beems R, van Bladeren PJ (1991 b) The liver, kidney, and thyroid toxicity of chlorinated benzenes. *Toxicol Appl Pharmacol* 111(1): 69–81. [https://doi.org/10.1016/0041-008X\(91\)90135-2](https://doi.org/10.1016/0041-008X(91)90135-2)
- den Besten C, Brouwer A, Rietjens IMCM, van Bladeren PJ (1994) Biotransformation and toxicity of halogenated benzenes. *Hum Exp Toxicol* 13(12): 866–875. <https://doi.org/10.1177/096032719401301209>
- Besur S, Hou W, Schmeltzer P, Bonkovsky HL (2014) Clinically important features of porphyrin and heme metabolism and the porphyrias. *Metabolites* 4(4): 977–1006. <https://doi.org/10.3390/metabo4040977>
- Black WD, Valli VEO, Ruddick JA, Villeneuve DC (1988) Assessment of teratogenic potential of 1,2,3- 1,2,4- and 1,3,5-trichlorobenzenes in rats. *Bull Environ Contam Toxicol* 41(4–6): 719–726. <https://doi.org/10.1007/BF02021024>
- Bogaards JJP, van Ommen B, Wolf CR, van Bladeren PJ (1995) Human cytochrome P450 enzyme selectivities in the oxidation of chlorinated benzenes. *Toxicol Appl Pharmacol* 132(1): 44–52. <https://doi.org/10.1006/taap.1995.1085>
- Bolton JL, Trush MA, Penning TM, Dryhurst G, Monks TJ (2000) Role of quinones in toxicology. *Chem Res Toxicol* 13(3): 135–160. <https://doi.org/10.1021/tx9902082>
- Brown VKH, Muir C, Thorpe E (1969) The acute toxicity and skin irritant properties of 1,2,4-trichlorobenzene. *Ann Occup Hyg* 12(4): 209–212. <https://doi.org/10.1093/annhyg/12.4.209>
- Brown SK, Sim MR, Abramson MJ, Gray CN (1994) Concentrations of volatile organic compounds in indoor air – a review. *Indoor Air* 4(2): 123–134. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0668.1994.t01-2-00007.x>
- Brown JF Jr, Mayes BA, Silkworth JB, Hamilton SB (2007) Polychlorinated biphenyls–modulated tumorigenesis in Sprague–Dawley rats: correlation with mixed function oxidase activities and superoxide (O₂[•]) formation potentials and implied mode of action. *Toxicol Sci* 98(2): 375–394. <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfm122>

- Buist HE, de Wit-Bos L, Bouwman T, Vaes WHJ (2012) Predicting blood:air partition coefficients using basic physicochemical properties. *Regul Toxicol Pharmacol* 62(1): 23–28. <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2011.11.019>
- CCR Cytotest Cell Research (1990) Micronucleus assay in bone marrow cells of the mouse with trichlorbenzol. Test Report CCR Project No. 165600, 1990, Roßdorf: CCR Cytotest Cell Research GmbH Co. KG, unveröffentlicht
- Chu I, Murdoch DJ, Villeneuve DC, Viau A (1987) Tissue distribution and elimination of trichlorobenzenes in the rat. *J Environ Sci Health B* 22(4): 439–454. <https://doi.org/10.1080/03601238709372566>
- CMA (Chemical Manufacturers Association) (1989) A three month dietary range-finding study of 1,2,4-trichlorobenzene in rats. Final Report. Project No. 86–3122. Washington, DC: Chemical Manufacturers Association
- CMA (Chemical Manufacturers Association) (1994 a) 104-week dietary carcinogenicity study with 1,2,4-trichlorobenzene in mice with cover letter dated 7/08/1994. NTIS/OTS00000921. Alexandria, VA: NTIS. <https://ntrl.ntis.gov/NTRL/dashboard/searchResults/titleDetail/OTS00000921.xhtml>, abgerufen am 07 Jul 2020
- CMA (Chemical Manufacturers Association) (1994 b) 104-week dietary carcinogenicity study with 1,2,4-trichlorobenzene in rats, with cover letter dated 6/15/94. NTIS/OTS0558832. Alexandria, VA: NTIS
- Coate WB, Schoenfisch WH, Lewis TR, Busey WM (1977) Chronic, inhalation exposure of rats, rabbits, and monkeys to 1,2,4-trichlorobenzene. *Arch Environ Health* 32(6): 249–255. <https://doi.org/10.1080/00039896.1977.10667291>
- Cohen SM (2004) Human carcinogenic risk evaluation: an alternative approach to the two-year rodent bioassay. *Toxicol Sci* 80(2): 225–229. <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfh159>
- Côté M, Chu I, Villeneuve DC, Secours VE, Valli VE (1988) Trichlorobenzenes: results of a thirteen week feeding study in the rat. *Drug Chem Toxicol* 11(1): 11–28. <https://doi.org/10.3109/01480548809038653>
- Davies R, Clothier B, Robinson SW, Edwards RE, Greaves P, Luo J, Gant TW, Chernova T, Smith AG (2008) Essential role of the AH receptor in the dysfunction of heme metabolism induced by 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin. *Chem Res Toxicol* 21(2): 330–340. <https://doi.org/10.1021/tx700176r>
- DFG (Deutsche Forschungsgemeinschaft), Hrsg (2020) MAK- und BAT-Werte-Liste 2020. Maximale Arbeitsplatzkonzentrationen und Biologische Arbeitsstofftoleranzwerte. Ständige Senatskommission zur Prüfung gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe, Mitteilung 56. Düsseldorf: German Medical Science. https://doi.org/10.34865/mbwl_2020_deu
- Dow Chemicals Company (1977) Subchronic toxicity study of inhaled 1,2,4-trichlorobenzene in rats with cover letter dated 120982. NTIS/OTS0215163 Doc. ID 878221105. Alexandria, VA: NTIS. <https://ntrl.ntis.gov/NTRL/dashboard/searchResults/titleDetail/OTS0215163.xhtml>, abgerufen am 10 Dez 2020
- EC (European Commission) (2003) 1,2,4-Trichlorobenzene (CAS Number 120-82-1). European Union Risk Assessment Report. Band 26. Hansen BG, Munn SJ, Luotamo M, Musset C, Pakalin S, de Bruijn J, Berthault F, Vegro S, Pellegrini G, Allanou R, Scheer S, Hrsg. Luxembourg: Office for Official Publications of the European Communities. <https://publications.jrc.ec.europa.eu/repository/bitstream/JRC24374/EUR%2020540%20EN.pdf>, abgerufen am 09 Jul 2020
- ECHA (European Chemicals Agency) (2014) 1,2,3-Trichlorobenzene (CAS Number 87-61-6). Registration dossier. Joint submission, first publication 18 Apr 2011, last modification 05 Nov 2014. <https://echa.europa.eu/de/registration-dossier/-/registered-dossier/1948>, abgerufen am 12 Jan 2021
- ECHA (European Chemicals Agency) (2018 a) 1,2,4-Trichlorobenzene (CAS Number 120-82-1). Registration dossier. Joint submission, first publication 19 Apr 2011, last modification 08 May 2018. <https://echa.europa.eu/de/registration-dossier/-/registered-dossier/1155>, abgerufen am 12 Jan 2021
- ECHA (European Chemicals Agency) (2018 b) 1,3,5-Trichlorobenzene (CAS Number 108-70-3). Registration dossier. Joint submission, first publication 23 Jun 2018, last modification 25 May 2018. <https://echa.europa.eu/de/registration-dossier/-/registered-dossier/26122>, abgerufen am 12 Jan 2021
- ECHA (European Chemicals Agency) (o.J.) Annex XVII to REACH – Conditions of restriction. Restrictions on the manufacture, placing on the market and use of certain dangerous substances, mixtures and articles. Trichlorobenzene, CAS No 120-82-1. Helsinki: ECHA. <https://echa.europa.eu/documents/10162/fa5ae031-f3bb-41c5-87d2-dde74ccc4d56>, abgerufen am 15 Feb 2022
- Ethyl Corporation (1975) In vitro microbiological mutagenicity studies of ethyl compounds. NTIS/OTS0515770. Alexandria, VA: NTIS. <https://ntrl.ntis.gov/NTRL/dashboard/searchResults/titleDetail/OTS0515770.xhtml#>, abgerufen am 24 Jul 2020
- Fiserova-Bergerova V, Pierce JT, Droz PO (1990) Dermal absorption potential of industrial chemicals: criteria for skin notation. *Am J Ind Med* 17(5): 617–635. <https://doi.org/10.1002/ajim.4700170507>
- Fratello G, Marchini S, Zucco F, Saporio O, Stamatii A (1997) Cytotoxicity of halogenated benzenes and its relationship with logP. *Toxicol In Vitro* 11(5): 673–677. [https://doi.org/10.1016/S0887-2333\(97\)00086-6](https://doi.org/10.1016/S0887-2333(97)00086-6)
- Gage JC (1970) The subacute inhalation toxicity of 109 industrial chemicals. *Br J Ind Med* 27(1): 1–18. <https://doi.org/10.1136/oem.27.1.1>
- Garrett NE, Lewtas J (1983) Cellular toxicity in Chinese hamster ovary cell cultures. I: Analysis of cytotoxicity endpoints for twenty-nine priority pollutants. *Environ Res* 32(3): 455–465. [https://doi.org/10.1016/0013-9351\(83\)90125-1](https://doi.org/10.1016/0013-9351(83)90125-1)

- Garrett NE, Campbell JA, Stack HF, Jackson MA, Lewtas J (1983) Cellular toxicity in Chinese hamster ovary cell cultures. II: A statistical appraisal of sensitivity with the rabbit alveolar macrophage, Syrian hamster embryo, BALB 3T3 mouse, and human neonatal fibroblast cell systems. *Environ Res* 32(3): 466–473. [https://doi.org/10.1016/0013-9351\(83\)90126-3](https://doi.org/10.1016/0013-9351(83)90126-3)
- Greim H, Hrsg (1996) 1,2,4-Trichlorbenzol. In: *Gesundheitsschädliche Arbeitsstoffe, Toxikologisch-arbeitsmedizinische Begründung von MAK-Werten*. 22. Lieferung. Weinheim: VCH. Auch erhältlich unter <https://doi.org/10.1002/3527600418.mb12082d0022>
- Greim H, Hrsg (1998) 1,2,3-Trichlorbenzol, 1,3,5-Trichlorbenzol. In: *Gesundheitsschädliche Arbeitsstoffe, Toxikologisch-arbeitsmedizinische Begründung von MAK-Werten*. 27. Lieferung. Weinheim: Wiley-VCH. Auch erhältlich unter <https://doi.org/10.1002/3527600418.mb1200248ismd0027>
- Greim H, Hrsg (2002 a) Hexachlorbenzol. In: *Gesundheitsschädliche Arbeitsstoffe, Toxikologisch-arbeitsmedizinische Begründung von MAK-Werten*. 35. Lieferung. Weinheim: Wiley-VCH. Auch erhältlich unter <https://doi.org/10.1002/3527600418.mb120874d0035>
- Greim H, Hrsg (2002 b) Trichlorbenzol (Isomeren außer 1,2,4-Trichlorbenzol). In: *Gesundheitsschädliche Arbeitsstoffe, Toxikologisch-arbeitsmedizinische Begründung von MAK-Werten*. 34. Lieferung. Weinheim: Wiley-VCH. Auch erhältlich unter <https://doi.org/10.1002/3527600418.mb1200248ismd0034>
- Greim H, Hrsg (2007) 1,2,3-Trichlorbenzol, 1,3,5-Trichlorbenzol. In: *Gesundheitsschädliche Arbeitsstoffe, Toxikologisch-arbeitsmedizinische Begründung von MAK-Werten*. 43. Lieferung. Weinheim: Wiley-VCH. Auch erhältlich unter <https://doi.org/10.1002/3527600418.mb1200248ismd0043>
- Hall AP, Elcombe CR, Foster JR, Harada T, Kaufmann W, Knippel A, Küttler K, Malarkey DE, Maronpot RR, Nishikawa A, Nolte T, Schulte A, Strauss V, York MJ (2012) Liver hypertrophy: A review of adaptive (adverse and non-adverse) changes – conclusions from the 3rd International ESTP expert workshop. *Toxicol Pathol* 40(7): 971–994. <https://doi.org/10.1177/0192623312448935>
- Hartwig A, MAK Commission (2018) 1,4-Dichlorbenzol. MAK Value Documentation in German language. *MAK Collect Occup Health Saf* 3(2): 626–677. <https://doi.org/10.1002/3527600418.mb10646d0065>
- Haworth S, Lawlor T, Mortelmans K, Speck W, Zeiger E (1983) Salmonella mutagenicity test results for 250 chemicals. *Environ Mutagen* 5(S1): 3–49. <https://doi.org/10.1002/em.2860050703>
- Henschler D, Hrsg (1990) Trichlorbenzol (alle Isomeren). In: *Gesundheitsschädliche Arbeitsstoffe, Toxikologisch-arbeitsmedizinische Begründung von MAK-Werten*. 16. Lieferung. Weinheim: VCH. Auch erhältlich unter <https://doi.org/10.1002/3527600418.mb1200248ismd0016>
- Herren-Freund SL, Pereira MA (1986) Carcinogenicity of by-products of disinfection in mouse and rat liver. *Environ Health Perspect* 69: 59–65. <https://doi.org/10.1289/ehp.866959>
- Holsapple MP, Pitot HC, Cohen SH, Boobis AR, Klaunig JE, Pastoor T, Dellarco VL, Dragan YP (2006) Mode of action in relevance of rodent liver tumors to human cancer risk. *Toxicol Sci* 89(1): 51–56. <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfj001>
- IARC (International Agency for Research on Cancer) (2001) Hexachlorobenzene. In: *Some thyrotropic agents*. IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. Band 79. Lyon: IARC Press. S. 493–568. https://publications.iarc.fr/_publications/media/download/2559/201a17eeafae186aee07bc60fcff93e4d65c3d5.pdf, abgerufen am 05 Aug 2020
- IFA (Institut für Arbeitsschutz der Deutschen Gesetzlichen Unfallversicherung) (2020 a) 1,2,3-Trichlorbenzol. GESTIS-Stoffdatenbank. <https://gestis.dguv.de/data?name=015760>, abgerufen am 20 Okt 2020
- IFA (Institut für Arbeitsschutz der Deutschen Gesetzlichen Unfallversicherung) (2020 b) 1,2,4-Trichlorbenzol. GESTIS-Stoffdatenbank. <https://gestis.dguv.de/data?name=015440>, abgerufen am 20 Okt 2020
- IFA (Institut für Arbeitsschutz der Deutschen Gesetzlichen Unfallversicherung) (2020 c) 1,3,5-Trichlorbenzol. GESTIS-Stoffdatenbank. <https://gestis.dguv.de/data?name=570012>, abgerufen am 20 Okt 2020
- Ishidate M Jr, Harnois MC, Sofuni T (1988) A comparative analysis of data on the clastogenicity of 951 chemical substances tested in mammalian cell cultures. *Mutat Res* 195(2): 151–213. [https://doi.org/10.1016/0165-1110\(88\)90023-1](https://doi.org/10.1016/0165-1110(88)90023-1)
- Jondorf WR, Parke DV, Williams RT (1955) Studies in detoxication. 66. The metabolism of halogenobenzenes. 1:2:3-, 1:2:4- and 1:3:5-trichlorobenzenes. *Biochem J* 61(3): 512–521. <https://doi.org/10.1042/bj0610512>
- Jorgenson TA, Simmon VF, Dilley JV (1976) Preliminary toxicological studies of TATB, TCB, and TCTNB. Final report. UCRL 13701. Menlo Park, CA: Stanford Research Institute. <https://doi.org/10.2172/7114247>
- Kato Y, Kimura R (2002) The contribution of 2,3,5-trichlorophenyl methyl sulfone, a metabolite of 1,2,4-trichlorobenzene, to the δ -aminolevulinic acid synthetase induction by 1,2,4-trichlorobenzene in rat liver. *Chemosphere* 47(1): 1–7. [https://doi.org/10.1016/s0045-6535\(01\)00289-2](https://doi.org/10.1016/s0045-6535(01)00289-2)
- Kato Y, Kogure T, Sato M, Kimura R (1988) Effects of chlorobenzenes and their methyl sulfone metabolites on microsomal enzymes associated with drug metabolism in rat liver. *J Pharmacobiodyn* 11(11): 758–762. <https://doi.org/10.1248/bpb1978.11.758>
- Kato Y, Yamada S, Sato M, Kimura R (1993) Role of 2,3,5-trichlorophenyl methyl sulfone, a metabolite of 1,2,4-trichlorobenzene, in the induction of hepatic microsomal drug-metabolizing enzymes by 1,2,4-trichlorobenzene in rats. *Toxicol Appl Pharmacol* 122(2): 214–221. <https://doi.org/10.1006/taap.1993.1190>
- Kitchin KT, Ebron MT (1983) Maternal hepatic and embryonic effects of 1,2,4-trichlorobenzene in the rat. *Environ Res* 31(2): 362–373. [https://doi.org/10.1016/0013-9351\(83\)90014-2](https://doi.org/10.1016/0013-9351(83)90014-2)

- Kociba RJ, Leong BKJ, Hefner RE (1981) Subchronic toxicity study of 1,2,4-trichlorobenzene in the rat, rabbit and beagle dog. *Drug Chem Toxicol* 4(3): 229–249. <https://doi.org/10.3109/01480548109018131>
- Kohli J, Jones D, Safe S (1976) The metabolism of higher chlorinated benzene isomers. *Can J Biochem* 54(3): 203–208. <https://doi.org/10.1139/o76-032>
- Koss G, Koransky W (1975) Studies on the toxicology of hexachlorobenzene I. Pharmacokinetics. *Arch Toxicol* 34(3): 203–212. <https://doi.org/10.1007/BF00353283>
- Kubo T, Urano K, Utsumi H (2002) Mutagenicity characteristics of 255 environmental chemicals. *J Health Sci* 48(6): 545–554. <https://doi.org/10.1248/jhs.48.545>
- Lake BG, Price RJ, Osimitz TG (2015) Mode of action analysis for pesticide-induced rodent liver tumours involving activation of the constitutive androstane receptor: relevance to human cancer risk. *Pest Manag Sci* 71(6): 829–834. <https://doi.org/10.1002/ps.3854>
- Laube B, Michaelsen S, Meischner V, Hartwig A, Epe B, Schwarz M (2019) Classification or non-classification of substances with positive tumor findings in animal studies: Guidance by the German MAK commission. *Regul Toxicol Pharmacol* 108: 104444. <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2019.104444>
- Maronpot RR (2009) Biological basis of differential susceptibility to hepatocarcinogenesis among mouse strains. *J Toxicol Pathol* 22(1): 11–33. <https://doi.org/10.1293/tox.22.11>
- Maronpot RR, Nyska A, Foreman JE, Ramot Y (2016) The legacy of the F344 rat as a cancer bioassay model (a retrospective summary of three common F344 rat neoplasms). *Crit Rev Toxicol* 46(8): 641–675. <https://doi.org/10.1080/10408444.2016.1174669>
- Matsui S, Yamamoto R, Yamada H (1989) The Bacillus subtilis/microsome rec-assay for the detection of DNA damaging substances which may occur in chlorinated and ozonated waters. *Water Sci Technol* 21(8–9): 875–887. <https://doi.org/10.2166/wst.1989.0290>
- McElroy NR, Thompson ED, Jurs PC (2003) Classification of diverse organic compounds that induce chromosomal aberrations in Chinese hamster cells. *J Chem Inf Comput Sci* 43(6): 2111–2119. <https://doi.org/10.1021/ci034104f>
- Mio T, Sumino K (1985) Mechanism of biosynthesis of methylsulfones from PCBs and related compounds. *Environ Health Perspect* 59: 129–135. <https://doi.org/10.1289/ehp.59-1568084>
- Miyata R, Nohmi T, Yoshikawa K, Ishidate M (1981) [Metabolic activation of p-nitrotoluene and trichloroethylene by rat-liver S9 or mouse-liver S9 fractions in Salmonella typhimurium strains]. *Eisei Shikenjo Hokoku* 99: 60–65
- Mizutani T, Miyamoto Y (1999) Modulation of halobenzene-induced hepatotoxicity by DT-diaphorase modulators, butylated hydroxyanisole and dicoumarol: evidence for possible involvement of quinone metabolites in the toxicity of halobenzenes. *Toxicol Lett* 105(1): 25–30. [https://doi.org/10.1016/S0378-4274\(98\)00376-2](https://doi.org/10.1016/S0378-4274(98)00376-2)
- Mohtashamipur E, Triebel R, Straeter H, Norpoth K (1987) The bone marrow clastogenicity of eight halogenated benzenes in male NMRI mice. *Mutagenesis* 2(2): 111–113. <https://doi.org/10.1093/mutage/2.2.111>
- NCBI (National Center for Biotechnology Information) (2020 a) 1,2,4-Trichlorobenzene. PubChem compound summary for CID 13. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/13>, abgerufen am 20 Okt 2020
- NCBI (National Center for Biotechnology Information) (2020 b) 1,3,5-Trichlorobenzene. PubChem compound summary for CID 7950. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/7950>, abgerufen am 20 Okt 2020
- NLM (National Library of Medicine) (2020 a) 1,2,3-Trichlorobenzene. ChemIDplus Data Bank. <https://chem.nlm.nih.gov/chemidplus/rn/87-61-6>, abgerufen am 26 Nov 2020
- NLM (National Library of Medicine) (2020 b) 1,2,4-Trichlorobenzene. ChemIDplus Data Bank. <https://chem.nlm.nih.gov/chemidplus/rn/120-82-1>, abgerufen am 26 Nov 2020
- NLM (National Library of Medicine) (2020 c) 1,3,5-Trichlorobenzene. ChemIDplus Data Bank. <https://chem.nlm.nih.gov/chemidplus/rn/108-70-3>, abgerufen am 26 Nov 2020
- Ogata M, Hasegawa T, Mori T, Meguro T (1981) Effects of chlorinated mono aromatic hydrocarbons on mitochondrial oxidative phosphorylation in rats liver. *Ind Health* 19(1): 31–36. <https://doi.org/10.2486/indhealth.19.31>
- Ono Y, Somiya I, Kawamura M (1991) The evaluation of genotoxicity using DNA repairing test for chemicals produced in chlorination and ozonation processes. *Water Sci Technol* 23(1–3): 329–338. <https://doi.org/10.2166/wst.1991.0431>
- Ono Y, Somiya I, Kawaguchi T (1992) Genotoxic evaluation on aromatic organochlorine compounds by using umu test. *Wat Sci Tech* 26(1–2): 61–69. <https://doi.org/10.2166/wst.1992.0386>
- Parke DV, Williams RT (1960) Studies in detoxication. 81. The metabolism of halogenobenzenes: (a) Penta- and hexachlorobenzenes. (b) Further observations on 1:3:5-trichlorobenzene. *Biochem J* 74(1): 5–9. <https://doi.org/10.1042/bj0740005>
- Parrini M, Bolognesi C, Roggeri P (1990) Induzione di micronuclei in eritrociti policromatici di midollo osseo di topo in seguito a somministrazione intraperitoneale di alogenobenzeni [Induction of micronuclei in polychromatic erythrocytes in mouse bone marrow after intraperitoneal administration of halobenzenes]. *Boll Soc Ital Biol Sper* 66(7): 709–716
- Peters H, Cripps D, Göcmen A, Bryan G, Ertürk E, Morris C (1987) Turkish epidemic hexachlorobenzene porphyria. A 30-year study. *Ann N Y Acad Sci* 54(1): 183–190. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1987.tb48773.x>

- Powers MB, Coate WB, Lewis TR (1975) Repeated topical applications of 1,2,4-trichlorobenzene. Effects on rabbit ears. *Arch Environ Health* 30(4): 165–167. <https://doi.org/10.1080/00039896.1975.10666668>
- Rao KS, Johnson KA, Henck JW (1982) Subchronic dermal toxicity study of trichlorobenzene in the rabbit. *Drug Chem Toxicol* 5(3): 249–263. <https://doi.org/10.3109/01480548209041056>
- Robinson KS, Kavlock RJ, Chernoff N, Gray LE (1981) Multigeneration study of 1,2,4-trichlorobenzene in rats. *J Toxicol Environ Health* 8(3): 489–500. <https://doi.org/10.1080/15287398109530085>
- Santacatterina F, Sánchez-Cenizo L, Formentini L, Mobasher MA, Casas E, Rueda CB, Martínez-Reyes I, Núñez de Arenas C, García-Bermúdez J, Zapata JM, Sánchez-Aragó M, Satrustegui J, Valverde ÁM, Cuezva JM (2016) Down-regulation of oxidative phosphorylation in the liver by expression of the ATPase inhibitory factor 1 induces a tumor-promoter metabolic state. *Oncotarget* 7(1): 490–508. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.6357>
- Sasmore DP, Mitoma C, Tyson CA, Johnson JS (1983) Subchronic inhalation toxicity of 1,3,5-trichlorobenzene. *Drug Chem Toxicol* 6(3): 241–258. <https://doi.org/10.3109/01480548309017815>
- Schoeny RS, Smith CC, Loper JC (1979) Non-mutagenicity for Salmonella of the chlorinated hydrocarbons aroclor 1254, 1,2,4-trichlorobenzene, mirex and kepone. *Mutat Res* 68(2): 125–132. [https://doi.org/10.1016/0165-1218\(79\)90140-X](https://doi.org/10.1016/0165-1218(79)90140-X)
- Shimada T, McQueen CA, Williams GM (1983) Study of effects on cultured liver cells of three chlorinated benzenes/liver-cell mutagenicity studies with chlorobenzene with cover letter dated 05/09/94. EPA Document No. 86940000659. NTIS/OTS0557069. Alexandria, VA: NTIS. <https://ntrl.ntis.gov/NTRL/dashboard/searchResults/titleDetail/OTS0557069.xhtml>, abgerufen am 24 Jul 2020
- Smith EN, Carlson GP (1980) Various pharmacokinetic parameters in relation to enzyme-inducing abilities of 1,2,4-trichlorobenzene and 1,2,4-tribromobenzene. *J Toxicol Environ Health* 6(4): 737–749. <https://doi.org/10.1080/15287398009529893>
- Smith CC, Cragg ST, Wolfe GP, Weigel WW (1985) Investigation of the metabolism of chlorinated hydrocarbons in subhuman species. EPA-600/1-85-001. Research Triangle Park, NC: U.S. Environmental Protection Agency. <https://nepis.epa.gov/Exe/ZyPDF.cgi/60001D4T.PDF?Dockey=60001D4T.PDF>, abgerufen am 15 Jan 2021
- Tanaka A, Sato M, Tsuchiya T, Adachi T, Niimura T, Yamaha T (1986) Excretion, distribution and metabolism of 1,2,4-trichlorobenzene in rats. *Arch Toxicol* 59(2): 82–88. <https://doi.org/10.1007/BF00286728>
- Tibaldi R, ten Berge W, Drolet D (2014) Dermal absorption of chemicals: estimation by IH SkinPerm. *J Occup Environ Hyg* 11(1): 19–31. <https://doi.org/10.1080/15459624.2013.831983>
- Tsuchiya T, Yamaha T (1984) Reductive dechlorination of 1,2,4-trichlorobenzene by *Staphylococcus epidermidis* isolated from intestinal contents of rats. *Agric Biol Chem* 48(6): 1545–1550. <https://doi.org/10.1271/bbb1961.48.1545>
- US EPA (US Environmental Protection Agency) (2009 a) Provisional peer-reviewed toxicity values for 1,2,3-trichlorobenzene. EPA/690/R-09/064F. Cincinnati, OH: US EPA. <https://cfpub.epa.gov/ncea/pprtv/documents/Trichlorobenzene123.pdf>, abgerufen am 09 Jul 2020
- US EPA (US Environmental Protection Agency) (2009 b) Provisional peer-reviewed toxicity values for 1,2,4-trichlorobenzene. EPA/690/R-09/065F. Cincinnati, OH: US EPA. <https://cfpub.epa.gov/ncea/pprtv/documents/Trichlorobenzene124.pdf>, abgerufen am 09 Jul 2020
- US EPA (US Environmental Protection Agency) (2020 a) Chemicals dashboard. 1,2,3-Trichlorobenzene (CAS Number 87-61-6). <https://comptox.epa.gov/dashboard/chemical/invitrodb/DTXSID8026193>, abgerufen am 18 Jan 2021
- US EPA (US Environmental Protection Agency) (2020 b) Chemicals dashboard. 1,2,4-Trichlorobenzene (CAS Number 120-82-1). <https://comptox.epa.gov/dashboard/chemical/invitrodb/DTXSID0021965>, abgerufen am 18 Jan 2021
- Vohr H-W, Blümel J, Blotz A, Homey B, Ahr HJ (2000) An intra-laboratory validation of the integrated model for the differentiation of skin reactions (IMDS): discrimination between (photo)allergic and (photo)irritant skin reactions in mice. *Arch Toxicol* 73(10–11): 501–509. <https://doi.org/10.1007/s002040050001>
- Williams GM, Mori H, McQueen CA (1989) Structure-activity relationships in the rat hepatocyte DNA-repair test for 300 chemicals. *Mutat Res* 221: 263–286. [https://doi.org/10.1016/0165-1110\(89\)90039-0](https://doi.org/10.1016/0165-1110(89)90039-0)
- Yamamoto H, Ohno Y, Nakamori K, Okuyama T, Imai S, Tsubura Y (1982) Chronic toxicity and carcinogenicity test of 1,2,4-trichlorobenzene on mice by dermal painting. *J Nara Med Assoc* 33(2): 132–145
- Zimmering S, Mason JM, Valencia R, Woodruff RC (1985) Chemical mutagenesis testing in *Drosophila*. II. Results of 20 coded compounds tested for the National Toxicology Program. *Environ Mutagen* 7(1): 87–100. <https://doi.org/10.1002/em.2860070105>