

Naphthalin

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

Naphthalin; Nase;
Lunge; Kanzerogenität;
Entzündung; Genotoxizität;
Keimzellmutagenität;
Hautresorption

Abstract

The German Commission for the Investigation of Health Hazards of Chemical Compounds in the Work Area has re-evaluated naphthalene [91-20-3] considering all toxicological end points. The critical effects are the carcinogenic effects in rodents. No data in humans are available for these effects. In carcinogenicity studies, inhalation of naphthalene was found to cause neuroblastomas and adenomas in the noses of rats as well as bronchioloalveolar adenomas and carcinomas in mice. Naphthalene is not mutagenic in vitro, but robust data in vivo are not available. In general, DNA damage is induced in vitro and in vivo mostly at toxic doses. Mechanistic studies suggest that the carcinogenic potential arises from a non-genotoxic mechanism of action. This mechanism is initiated only at high concentrations by severe local inflammation leading to increased cell proliferation. However, a number of uncertainties remain. Thus, at present, a primary genotoxic mechanism of action cannot be ruled out completely for naphthalene. There are no studies from which an effect threshold in humans can be derived. Naphthalene thus remains classified in Carcinogen Category 2. As data for the accessibility of the germ cells are not available, naphthalene remains classified in Germ Cell Mutagen Category 3B. No sensitizing potential can be derived from the available data. Naphthalene can be absorbed via the skin in toxicologically relevant amounts and remains designated with an "H".

Citation Note:

Hartwig A, MAK Commission.
Naphthalin. MAK-Begründung,
Nachtrag. MAK Collect Occup
Health Saf. 2022 Dez;7(4):Doc072.
[https://doi.org/10.34865/
mb9120d7_4ad](https://doi.org/10.34865/mb9120d7_4ad)

Manuskript abgeschlossen:
24 Feb 2021

Publikationsdatum:
19 Dez 2022

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



MAK-Wert	–
Spitzenbegrenzung	–
Hautresorption (2001)	H
Sensibilisierende Wirkung	–
Krebserzeugende Wirkung (2001)	Kategorie 2
Fruchtschädigende Wirkung	–
Keimzellmutagene Wirkung (2001)	Kategorie 3 B
BAR (2015)	35 µg/l im Urin (Summe aus 1- und 2-Naphthol nach Hydrolyse)
EKA (2021)	siehe Klotz et al. (2022)
CAS-Nr.	91-20-3
1 ml/m³ (ppm) ≙ 5,318 mg/m³	1 mg/m³ ≙ 0,188 ml/m³ (ppm)

Hinweis: Der Stoff kann als Dampf und Aerosol vorliegen.

Zu Naphthalin liegen eine Begründung aus dem Jahr 1995 (Greim 1995) und ein Nachtrag aus dem Jahr 2001 vor, in dem der Stoff in Kanzerogenitäts-Kategorie 2 und Keimzellmutagenitäts-Kategorie 3 B eingestuft wurde (Greim 2001).

Aufgrund neuer Studien zur Genotoxizität und zum Wirkungsmechanismus sowie einer neuen Arbeitsplatzstudie wird die Einstufung in die Kanzerogenitäts-Kategorie 2 überprüft. Im vorliegenden Nachtrag sind zudem zu allen Endpunkten die neuen bewertungsrelevanten Studien aufgeführt.

1 Allgemeiner Wirkungscharakter

Der allgemeine Wirkungscharakter von Naphthalin ist bereits ausführlich in der Begründung von 1995 dargestellt (Greim 1995).

2 Wirkungsmechanismus

2.1 Genotoxizität

Die Beobachtung, dass Naphthalin in bestimmten Zelltypen in vitro bzw. in einigen Organen gleichzeitig Lipidperoxidation und DNA-Strangbrüche induziert (Bagchi et al. 1998 a, b, 2000) deutet darauf hin, dass die Substanz über indirekte Mechanismen, wie der Bildung von reaktiven Sauerstoffspezies (ROS), genotoxische Wirkungen hervorruft.

Im Nachtrag aus dem Jahr 2001 wurde Naphthalin als genotoxisch in vivo bewertet (Greim 2001). Dies kann mit heutigem Kenntnisstand der genotoxischen Befunde (siehe Abschnitt 5.6) differenzierter betrachtet werden:

1. Es wird postuliert, dass die beobachteten genotoxischen Wirkungen als Folge der zytotoxischen Wirkung zu sehen sind (Brusick 2008; Schreiner 2003; siehe auch Abschnitt 5.6).
2. Neben der zytotoxischen Wirkung durch die Bindung reaktiver Metaboliten von Naphthalin an Proteine wird auch die Bildung von ROS durch ein enzymatisch katalysiertes Redoxcycling der Naphthochinon-Metaboliten

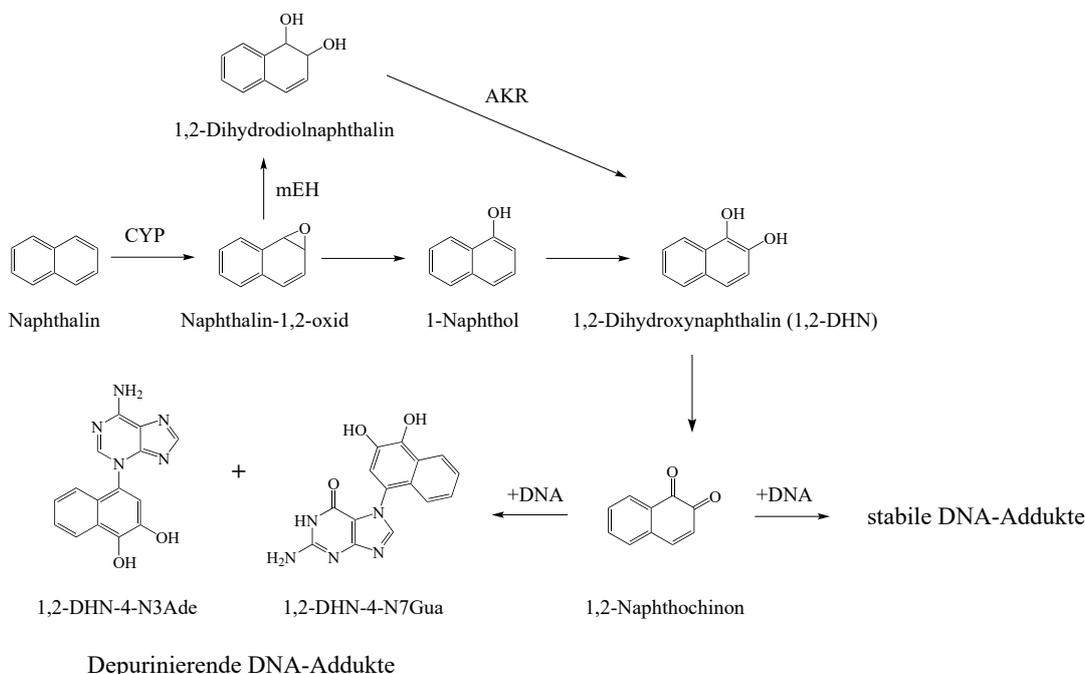
diskutiert. Die ROS können durch oxidative DNA-Schädigung zu einer sekundären indirekten genotoxischen Wirkung von Naphthalin beitragen (AGS 2018; Bagchi et al. 1998 a; Vuchetich et al. 1996).

3. Zeichen für einen Verlauf der Kanzerogenese über oxidativen Stress, Entzündung und Proliferation konnten sowohl bei Ratten nach inhalativer Exposition (Clewel et al. 2014; siehe Abschnitt 2.2), als auch bei Mäusen nach intraperitonealer Gabe von Naphthalin (Hong et al. 2014) beobachtet werden.

Es wurde postuliert, dass eine direkte Interaktion mit der DNA im Mutagenitätstest an *Salmonella typhimurium* zu positiven Ergebnissen geführt hätte (Brusick 2008). Dem ist entgegenzusetzen, dass die für oxidative Schäden sensitiven Stämme *Salmonella typhimurium* TA102, TA104 oder *E. coli* WP2 nicht getestet wurden. Die verwendeten Stämme detektieren Basenveränderungen an Guanin oder Cytosin. Ein mutagener Prozess, der über Veränderungen an Adenin oder Thymin verläuft, würde hier nicht abgebildet werden. Jedoch wurde in metabolisch kompetenten humanen Lymphozyten bis zu einer stark zytotoxisch wirkenden Naphthalinkonzentration weder in einem HPRT- noch in einem TK^{+/-}-Test eine mutagene Wirkung beobachtet.

Allerdings wird eine Bindung von Naphthalin an DNA nach Exposition von explantiertem Lungengewebe von Mäusen, Ratten und Rhesusaffen und im respiratorischen, jedoch nicht im olfaktorischen Epithel der Nase bei Ratten beobachtet (Buchholz 2016; Buchholz et al. 2019; Carratt et al. 2019 a). Im Folgenden wird daher diskutiert, inwieweit ein direkter genotoxischer Mechanismus an der kanzerogenen Wirkung beteiligt sein könnte:

In der Untersuchung an Sencar-Mäusen wurde eine Bindung des Naphthalin-Metaboliten 1,2-Naphthochinon an die DNA und die Bildung von instabilen Purinbasen-Addukten in der Haut gezeigt (Saeed et al. 2009). Dies belegt jedoch nicht, dass derartige Reaktionen auch in den Zielzellen der Kanzerogenität stattfinden und dort Mutationen verursachen (Bailey et al. 2016). Sencar-Mäuse sind ein extrem sensibler Stamm für Hautläsionen, weshalb positive Ergebnisse in Tumorpromotionsstudien an der Haut bei diesen Mäusen von der Kommission nicht als einstufigsrelevant angesehen werden (Laube et al. 2019). Die N7-Guanin-Addukte sind nicht stabil und können leicht über Depurinierung zu apurinen (AP)-Stellen führen. Die mutagene bzw. kanzerogene Potenz dieser Addukte bzw. der daraus entstehenden AP-Stellen scheint jedoch begrenzt (Boysen et al. 2009). In **Abbildung 1** ist der postulierte Metabolismusweg, der für die Bildung der Addukte verantwortlich ist, dargestellt (Saeed et al. 2009).



AKR: Aldo-Keto-Reduktase; CYP: Cytochrom P450; mEH: mikrosomale Epoxidhydrolase

Abb. 1 Angenommener Entstehungsweg der Naphthalin-DNA-Addukte (nach Saeed et al. 2009)

In der Studie an der Haut von Mäusen wurde die Zytotoxizität nicht bestimmt (Saeed et al. 2009). Somit ist das Ergebnis kein Beleg für eine DNA-Adduktbildung im subtoxischen Bereich. Eine Entgiftung, z. B. über Glutathion (GSH), könnte die Bindung reaktiver Metaboliten an die DNA unterhalb GSH-depletierender zytotoxischer Konzentrationen verhindern (Bailey et al. 2016). So wurde gezeigt, dass bei Mäusen die GSH-Depletion in Lunge und Nase zeitlich vor der Gewebeschädigung auftritt. Lunge, Nase und Leber wurden an jeweils mindestens vier männlichen NIH-Swiss-Mäusen untersucht, die zwei oder vier Stunden inhalativ gegen 0; 1,5 oder 15 ml Naphthalin/m³ exponiert wurden. Die vierstündige Exposition gegen 15 ml Naphthalin/m³ führte zu einer vier bis acht Stunden später einsetzenden Schädigung der Keulenzellen in den distalen und proximalen Luftwegen sowie zu einer nach 24 Stunden erkennbaren Schädigung des olfaktorischen nasalen Epithels. In beiden Geweben ging der Schädigung eine bereits nach zwei Stunden maximale Verminderung des GSH-Gehalts um über 90 % voraus (Phimister et al. 2004).

Eine DNA-Bindung wurde nach In-vitro-Exposition von explantiertem Lungengewebe von Mäusen, Ratten und Rhesusaffen und nasalem Gewebe von Ratten in zwei Publikationen beobachtet (Buchholz 2016; Carratt et al. 2019 a). Diese Studien zeigen jedoch Widersprüche, weshalb sie nur bedingt zur Bewertung herangezogen werden. Bei Buchholz (2016) wurde mit Abstand die höchste DNA-Bindung bei Mäusen (k. A. zum Tierstamm oder Geschlecht) gefunden, gefolgt von Rhesusaffen, wogegen die Naphthalin-DNA-Bindung bei Carratt et al. (2019 a) zwischen beiden Spezies nicht statistisch signifikant unterschiedlich war und die Rhesusaffen tendenziell mehr DNA-Bindung generierten. Da die Studie von Buchholz (2016) nur als Bericht vorliegt, wird diese Diskrepanz von Carratt et al. (2019 a) nicht diskutiert, obwohl die Daten aus derselben Arbeitsgruppe stammen. In beiden Studien war bei Ratten das DNA-Bindungsmaß in der Lunge am höchsten und etwas geringer im respiratorischen und olfaktorischen Epithel der Nase. Bei Carratt et al. (2019 a) sind die Unterschiede jedoch nicht statistisch signifikant und bei Buchholz (2016) fehlen Angaben dazu. Bei Affen und Mäusen wurden jeweils 20- bis 30-fach höhere Werte gemessen. Die Autoren diskutieren, dass die etwa gleichstarke DNA-Bindung sowohl in der Nase, dem Zielorgan der Kanzerogenität, als auch im Nicht-Zielorgan Lunge bei Ratten darauf hindeutet, dass die gemessenen Addukte nicht stabil sind und in vivo schnell repariert werden, was einen nicht-mutagenen Wirkmechanismus bei der Entstehung der nasalen Tumoren bei Ratten bekräftigen würde (Buchholz 2016; Carratt et al. 2019 a). Allgemein wenden die Autoren ein, dass die Art der DNA-Bindung nicht abschließend definiert und es möglich ist, dass sie in vivo effizient eliminiert/repariert wird (Carratt et al. 2019 a).

Obwohl die Autoren die DNA-Bindung als „DNA-Addukte“ bezeichnen, ist nur in einem Versuch mit Explantaten von Rhesusaffen die DNA in Desoxynukleoside enzymatisch verdaut und damit der Beweis für kovalente DNA-Bindung erbracht worden (Carratt et al. 2019 a). Die beschriebene angestrebte Identifizierung der spezifischen DNA-Addukte (Buchholz 2016) steht weiterhin aus. Der Nachweis von DNA-Addukten wäre als Hinweis auf einen genotoxischen Mechanismus bei der Tumorentstehung zu sehen. Genaue Daten zur Zytotoxizität fehlen in beiden Studien. Es kann deshalb auf Basis dieser Daten weder abschließend geklärt werden, ob spezifische Addukte entstanden sind, noch mechanistisch bewiesen werden, ob eine DNA-Schädigung erst nach Depletion des GSH-Pools induziert wird und nach dem Einsetzen der Zytotoxizität auftritt.

In einer weiteren Studie führte die siebentägige intraperitoneale Vorbehandlung mit Naphthalin nicht zu einer verminderten DNA-Bindung (Buchholz et al. 2019).

Ein negativer *Tp53*-Mutationstest in der Rattennase, dem Zielgewebe der Kanzerogenität, unterstützt die Hypothese, dass die Naphthalin-induzierte Kanzerogenität nicht über einen mutagenen Wirkungsmechanismus verläuft (Bailey et al. 2016). In dieser Studie wurden jeweils zehn weibliche und männliche F344-Ratten pro Konzentration 13 Wochen lang, sechs Stunden pro Tag, an fünf Tagen pro Woche inhalativ gegen Naphthalin in Konzentrationen von 0; 0,1; 1,0; 10 oder 30 ml/m³ exponiert und auf CGT- zu CAT-Punktmutationen im *Tp53*-Codon 271 (entspricht humanem *TP53*-Hotspot-Codon 273) analysiert. Bei weiblichen Ratten war kein statistisch signifikanter Effekt, bei männlichen eine statistisch signifikante Abnahme der Mutationsrate bei 30 ml/m³ gegenüber der Kontrolle feststellbar, was die Autoren durch eine ansteigende Zytotoxizität erklären (Meng et al. 2011). Die untersuchte Transition wäre jedoch weder über einen Mechanismus via DNA-Addukt-Bildung analog zu anderen polyzyklischen aromatischen Kohlenwasserstoffen (PAK) wie Benzo[a]pyren (BaP) noch über ROS-induzierte Läsionen als typische Mutation zu erwarten. Deshalb weist dieser negative Test auf *Tp53*-Mutationen nicht auf eine fehlende Mutagenität von Naphthalin hin. Studien an

Arbeitern, die gegen Naphthalin in Gemischen wie Flugzeugkerosin (Jet fuel) oder Bitumen exponiert waren, zeigten keinen Anstieg an DNA-Schäden in den Blutlymphozyten, es fehlen jedoch Untersuchungen zur Genotoxizität in humanen Zellen des Atemtraktes (Krieg et al. 2012; Nies et al. 2019; siehe [Abschnitt 5.6](#)). In vitro werden in humanen Lymphoblasten jedoch auch bei nicht-zytotoxischen Konzentrationen Mikronuklei induziert (Recio et al. 2012; siehe [Abschnitt 5.6.1](#)).

Fazit: Ein genotoxischer Mechanismus als (Mit)Ursache der Kanzerogenität von Naphthalin kann derzeit nicht ausgeschlossen werden. Viele Ergebnisse weisen darauf hin, dass die genotoxische Wirkung erst bei hohen Konzentrationen und nach Eintreten der Zytotoxizität zum Tragen kommt. Jedoch sind genotoxische Effekte vereinzelt auch im nicht-zytotoxischen Bereich zu beobachten. Das Auftreten von DNA-Bindung und DNA-Addukten in Explantaten der Zielgewebe der Kanzerogenität ist hinsichtlich ihres Beitrags zur Kanzerogenität nicht eindeutig bewertbar, da aussagekräftige Mutagenitätstest mit diesen Geweben fehlen. Ein primärer genotoxischer Wirkungsmechanismus ist somit derzeit abschließend nicht auszuschließen und anhand der Datenlage keine Effektschwelle ableitbar.

2.2 Genexpressionsuntersuchungen

Jeweils zehn männliche bzw. weibliche F344-Ratten pro Geschlecht und Gruppe wurden 90 Tage lang, sechs Stunden pro Tag, an fünf Tagen pro Woche inhalativ gegen Naphthalin in Konzentrationen von 0; 0,1; 1; 10 oder 30 ml/m³ exponiert (Dodd et al. 2012). In einer weiteren Studie wurde aus dem respiratorischen und olfaktorischen Epithel der Nase die RNA isoliert und Genexpressionsanalysen durchgeführt. Bei der niedrigsten Konzentration traten nur wenige Genexpressionsveränderungen auf. Ab 1 ml/m³ gab es Hinweise auf oxidativen Stress im respiratorischen Epithel. Ab 10 ml/m³ traten im respiratorischen wie im olfaktorischen Epithel deutliche Genexpressionsveränderungen auf. Diese weisen auf oxidativen Stress, Entzündung und Proliferation hin. Nach Angaben der Autoren stimmen die Ergebnisse sowohl mit dem postulierten Wirkungsmechanismus (Zytotoxizität führt zur Kanzerogenität) als auch mit den Effektkonzentrationen in der Kanzerogenitätsstudie des NTP (2000) überein. Die Autoren berechnen für die empfindlichsten Genexpressionsveränderungen im olfaktorischen Epithel der weiblichen Ratten eine BMD und BMDL von 6 bzw. 3,7 ml/m³, im respiratorischen Epithel der männlichen Ratten eine von 0,4 bzw. 0,3 ml/m³. Mittels eines physiologisch-basierten Pharmakokinetik-Modells (PBPK) für Naphthalin errechnen die Autoren aus der BMDL für die männliche Ratte und mit Anwendung eines Sicherheitsfaktors von 3 eine NAEC für eine kontinuierliche Human-Umweltexposition von 0,3 ml/m³ (Clewell et al. 2014; Dodd et al. 2012).

Eine weitere Genexpressionsuntersuchung mit zusätzlicher „Ingenuity Pathway Analysis“ an männlichen und weiblichen C57BL/6-Mäusen, die vier Stunden lang inhalativ gegen 10 ml Naphthalin/m³ exponiert wurden, zeigte für beide Geschlechter eine Aktivierung von Genen, die mit der Bildung von Lungentumoren assoziiert sind. „DNA-Schäden“ waren leicht erhöht bei den weiblichen und leicht reduziert bei den männlichen Tieren. „DNA-Reparatur“ war stark angestiegen bei den männlichen Tieren und leicht reduziert bei den weiblichen Tieren. Die Gene beinhalteten *Cyp2f2*, *Scg1a1* (Club cell secretory protein) sowie zahlreiche Gene, die an der GSH-Synthese und am Metabolismus beteiligt sind (*Gpx6*, *Gsta3*, *Mgst1*, *Eef1b2*, *Gsta4*, *Mgst2*, *Gstk1*, *Hnmt*, *Gstm4*). In derselben Untersuchung traten zytotoxische Veränderungen im Epithel des Atemtraktes auf. Diese zeigten sich als Schwellung und Vakuolisierung im Zytoplasma der Keulenzellen, welche konzentrationsabhängig ab 5 ml/m³ anstiegen. Andere Zelltypen des Atemtraktes und des alveolären Epithels waren nicht verändert. Bei weiblichen Mäusen kam es im Vergleich zum distalen vermehrt im proximalen Atemtrakt zu Schwellungen der Keulenzellen (Carratt et al. 2019 b).

2.3 Kanzerogenität

In Langzeit-Inhalationsstudien traten bei B6C3F1-Mäusen bronchiolo-alveoläre Adenome sowie ein einzelnes Karzinom in der Lunge und bei F344-Ratten Adenome des respiratorischen Epithels der Nase sowie Neuroblastome im olfaktorischen Epithel auf (siehe [Abschnitt 5.7](#)).

Im Folgenden werden Wirkungsmechanismen diskutiert, die auf einen möglichen Schwellenwert für die Kanzerogenität hinweisen, der jedoch nicht abschließend belegt ist:

Nach Inhalation wird Naphthalin bereits im Atemtrakt metabolisch zu den reaktiven Metaboliten 1,2-Dihydroxynaphthalin, 1,4-Dihydroxynaphthalin, 1,2- bzw. 1,4-Naphthochinon oder möglicherweise auch 1,2-Dihydroxy-3,4-epoxy-1,2,3,4-tetrahydronaphthalin umgesetzt. Die genaue Lokalisation (oberer oder unterer Atemtrakt) und die Geschwindigkeit dieser Reaktionen sind spezies- und gewebespezifisch. Die Metaboliten werden durch Konjugation deaktiviert und als Mercaptur-, Glucuronsäuren oder als Sulfat ausgeschieden. Höhere Naphthalinkonzentrationen führen zu einer Erschöpfung des intrazellulären GSH- und Glucuronsäure-Gehaltes, so dass die reaktiven Zwischenprodukte nicht mehr entgiftet werden und an zelluläre Makromoleküle binden (AGS 2018; Buchholz 2016; Buchholz et al. 2019; Carratt et al. 2019 a; Greim 1995).

Eine Genexpressionsuntersuchung im Nasenepithel der Ratte nach Inhalation von Naphthalin bestätigt den postulierten Wirkungsmechanismus, dass Zytotoxizität zur Kanzerogenität führt. Die Ergebnisse weisen auf oxidativen Stress, Entzündung und Proliferation hin und stimmen mit den Effektkonzentrationen in der Kanzerogenitätsstudie des NTP (2000) überein (Clewel et al. 2014; Dodd et al. 2012; siehe [Abschnitt 2.2](#)).

Zum kanzerogenen Wirkungsmechanismus von Naphthalin an Ratten und Mäusen wurden in einem Expertensymposium (Naphthalene State-of-the-Science Symposium) folgende Schlussfolgerungen getroffen (Belzer et al. 2008; Bogen et al. 2008; Brusick et al. 2008; North et al. 2008):

- Die Tumorentstehung in der Nase der Ratte wird durch die histologisch nachweisbare fokale Zellproliferation deutlich verstärkt, eventuell sogar erst induziert.
- Bei der Maus trat eine erhöhte Inzidenz an Lungentumoren bei der in der Lunge zytotoxischen Konzentration von 30 ml/m³ auf, nicht jedoch bei der weniger stark zytotoxischen Konzentration von 10 ml/m³. Dies spricht für eine NOAEC für die Tumorentstehung bei der Maus von 10 ml/m³.
- Die Zytotoxizität von Naphthalin erfordert eine metabolische Aktivierung.
- Die metabolische Aktivierung von Naphthalin ist deutlich gewebe- und speziesspezifisch.
- Die Anatomie und Physiologie der Zielgewebe von Nagern, nicht-menschlichen Primaten und Menschen sind ausreichend gut untersucht, um speziesspezifische PBPK-Modelle für Effekte an der Nase und der Lunge zu parametrisieren.

Als fehlend für eine Krebsrisiko-Abschätzung beim Menschen wurden von dem Expertengremium (Belzer et al. 2008; Bogen et al. 2008; Brusick et al. 2008; North et al. 2008) folgende Punkte definiert:

- die zytotoxischen Metaboliten von Naphthalin, deren Wirkungsmechanismus und Daten zu Effekten im Niedrigdosisbereich im Gewebe von Affen und Menschen
- mechanistische und toxikokinetische Inhalationsstudien an Mäusen, Ratten und Affen zur besseren Kenntnis der Aufnahme und Metabolisierung von Naphthalin im oberen Atemtrakt
- In-vivo-Validierung der PBPK-Modelle für Affen bei inhalativer Exposition in Verbindung mit Studien zur Zytotoxizität
- In-vivo-Studien zur Validierung eines humanen PBPK-Modells

Dem ist hinzuzufügen, dass die Zellproliferation und Entzündung bei Nagern nicht mit der Tumorentstehung in den Organen übereinstimmt. So war die Zellproliferation bei der Maus in der Nase (Nicht-Zielorgan) ausgeprägter als in der Lunge (Zielorgan) (NTP 1992; siehe [Abschnitt 5.7](#)).

2.3.1 Humanrelevanz der Nasentumoren bei der Ratte

Nach inhalativer Exposition gegen Naphthalin wurden bei der weiblichen Ratte maligne Neuroblastome des olfaktorischen Epithels und bei der männlichen Ratte Adenome des respiratorischen Epithels beobachtet (NTP 2000, siehe [Abschnitt 5.7](#)).

Naphthalin wirkte zytotoxisch an der Nase von Ratte und Maus, war jedoch nur an der Rattennase kanzerogen. Eine Untersuchung zu den Resorptionsraten im oberen Atemtrakt der beiden Spezies zeigte eine höhere Resorption bei der Maus verglichen mit der Ratte, woraus die Autoren schlossen, dass die Resorptionsraten nicht mit der Kanzerogenität assoziiert sind (Morris 2013; Morris und Buckpitt 2009).

Bei der Ratte erfolgt die Oxidation von Naphthalin durch die Cytochrom-P450-Monooxygenase (CYP)2F, wohingegen im menschlichen Atemtrakt CYP2A13 vertreten ist, was zu einer Entstehung spezifischer 1,2-Naphthochinon-Metaboliten beim Nager führt, welche beim Menschen nicht nachgewiesen sind. Bei der Ratte wird bei hohen Konzentrationen nach erfolgter GSH-Depletion der Metabolit 1,2-Naphthochinon für andere Konjugationen verfügbar. Es wird postuliert, dass in der Rattennase ein Naphthochinonimin aus diesem 1,2-Naphthochinon über eine spezies- und gewebespezifische Arylamidase gebildet wird, ein Nachweis liegt jedoch nicht vor. Ein Chinonimin wird auch für die kanzerogene Wirkung von Alachlor und Phenacetin verantwortlich gemacht, welche ebenfalls Adenome und Karzinome in der Rattennase induzieren, jedoch keine korrespondierende Kanzerogenität beim Menschen zeigen. Basierend auf diesem Wirkungsmechanismus und den begrenzten epidemiologischen Daten zu Naphthalin bezüglich der Humankanzerogenität postulieren die Autoren, dass die Tumoren in der Rattennase keine Humanrelevanz haben (Piccirillo et al. 2012).

Hingegen traten keine statistisch signifikanten Unterschiede an Naphthalin-Protein-Addukten zwischen *in vitro* mit 250 μM ^{14}C -Naphthalin behandeltem nasalem Epithel von acht männlichen Sprague-Dawley-Ratten und acht männlichen Rhesusaffen auf. Durch anschließende Analyse wurde eine Vielzahl der gebundenen Proteine identifiziert: bei Ratten z. B. Strukturproteine (Aktin), katalytische Enzyme (ATP-Synthase) und Proteine, welche für die korrekte Faltung und Funktion von anderen Proteinen essentiell sind, z. B. Hitzeschockproteine bei Ratten und z. B. Proteaseinhibitoren bei Rhesusaffen (DeStefano-Shields et al. 2010). Die Proteinbindung war im Vergleich zu einer früheren *In-vitro*-Inkubationsstudie mit dem Zielgewebe der Maus (Lungengewebe) (Cho et al. 1994) etwas geringer.

Das heißt, die beobachtete quantitativ ähnliche Proteinbindung bei Rhesusaffen und Ratten steht im Widerspruch zu den Metabolismusdaten, die deutliche Unterschiede zeigen. Die Gründe für diesen Widerspruch sind nicht bekannt (Buckpitt et al. 2013).

Anders stellt es sich bezüglich der Zytotoxizität und GSH-Depletion in der Nase von Rhesusaffen und Ratten dar. Hier scheint die Ratte deutlich empfindlicher zu sein. In einer nur als Zusammenfassung vorliegenden Studie mit dreistündiger *In-vitro*-Naphthalinexposition von Nasenepithel-Explantaten von Rhesusaffen zeigte sich eine geringe GSH-Depletion nur bei der höchsten Konzentration von 500 μM , nicht jedoch bei 10, 50 und 100 μM (Van Winkle et al. 2014). Basierend auf den prognostizierten Konzentrationen im Nasenepithel bei Mäusen entsprechen 500 μM wahrscheinlich einer inhalativen Konzentration von mehr als 10 ml/m^3 (Morris 2013). Einschränkend zu diesem Vergleich ist anzumerken, dass eine Umrechnung von *In-vitro*-Konzentrationen in eine inhalative Expositionskonzentration Ungenauigkeiten birgt.

Bei Ratten war dagegen nach sechsstündiger Exposition ab 1 ml Naphthalin/ m^3 eine statistisch signifikante GSH-Depletion im respiratorischen/Übergangs- und im olfaktorischen Epithel zu beobachten (Cichocki et al. 2014).

Vermutlich spielen zahlreiche Enzyme und Metabolite bei der kanzerogenen Wirkung von Naphthalin eine Rolle. Anhand der diskutierten Studien ist eine Humanrelevanz der krebserzeugenden Wirkung von Naphthalin an der Nase der Ratte derzeit nicht auszuschließen.

2.3.2 Humanrelevanz der Lungentumoren bei der Maus

Die Maus hat in den Keulenzellen der Lunge eine besonders hohe CYP-Aktivität; gleichzeitig ist der Gehalt an GSH und Glucuronsäure dort niedriger als z. B. in Leberzellen. Daher kann es in der Lunge bei relativ niedrigen Naphthalindosen bereits zu toxischen Wirkungen kommen (Greim 1995): In Keulenzellen aus Mauslungen war nach *In-vitro*-Behandlung mit Naphthalin vorherrschend 1,2-Naphthochinon kovalent an Proteine gebunden (Zheng et al. 1997). Dass die lokale Toxizität am Atemtrakt der Maus auf CYP2F-Enzymen beruht, wird durch neuere Untersuchungen ebenfalls belegt:

Eine Untersuchung mit Knock-out-Mäusen (C57BL/6-Mäuse) zeigt, dass der Verlust von CYP2F2 zur Resistenz gegenüber Naphthalin-induzierter Toxizität in der Lunge, jedoch nicht in der olfaktorischen Mukosa der Nase, führt. *Cyp2f2(-/-)*- und Wildtyp-Mäuse exprimieren, bis auf CYP2F2, CYP-Enzyme ähnlich hoch. Die *Cyp2f2(-/-)*-Mäuse demonstrierten eine langsamere Metabolisierung von Naphthalin (NA), gemessen in vitro als NA-GSH in mikrosomalen Extrakten der Lunge (~160-fach), olfaktorischer Nasenschleimhaut (~16-fach) und Leber (~3-fach) oder in vivo nach intraperitonealer Gabe von 300 mg/kg KG als Plasmalevel von NA-GSH und unmetabolisiertem Naphthalin (über einen Zeitraum von 0–8 Stunden nach Injektion). Bei Wildtyp-Mäusen führte die intraperitoneale Behandlung mit 200 oder 300 mg/kg KG nach 24 Stunden (n = 6/Genotyp und Dosis) zu Nekrose und Ablösung von Keulen- und Kinozilientragenden-Zellen in der Lunge bei allen Tieren. Bei *Cyp2f2(-/-)*-Mäusen führte nur die höhere Dosis bei einer von sechs Mäusen zu leichter Vakuolisierung einiger Keulenzellen. Beide Dosen führten im olfaktorischen Nasenepithel beider Maus-Genotypen zu ähnlich starken Schäden; die Leber war frei von Läsionen (Li et al. 2011).

Es bestehen vor allem quantitative Unterschiede im Metabolismus zwischen dem Menschen und den verschiedenen Nagerspezies (siehe auch [Abschnitt 3.2](#)).

Nach vierstündiger Inhalation von bis zu 100 ml Naphthalin/m³ trat bei Mäusen ab 2 ml/m³ eine konzentrationsabhängig toxische Wirkung in den Atemwegen auf, nicht aber bei Ratten (Greim 1995).

Es wird ebenfalls davon ausgegangen, dass bei Mäusen im Vergleich zum Menschen eine stärkere metabolische Aktivierung verbunden mit einer geringeren Detoxifizierung der Metaboliten in der Lunge stattfindet (Cruzan et al. 2009; Greim 1995, 2001).

Dies beruht auf Untersuchungen beim Menschen mit einer geringeren Enzymaktivität der CYP2F-Familie als beim Nager, insbesondere von Mäusen. Untersuchungen an *E. coli*-Stämmen, in denen verschiedene rekombinante P450-Monooxygenasen des Menschen exprimiert wurden, weisen darauf hin, dass humanes CYP2A13 eine vergleichsweise hohe Aktivität für die Hydroxylierung von Naphthalin zu 1- und 2-Naphthol aufweist. CYP2A13 ist beim Menschen vorwiegend im Atemtrakt aktiv, wo eine hohe Aktivität in der Nasenschleimhaut auftritt, gefolgt von Lunge und Luftröhre (Fukami et al. 2008).

Auch mit für CYP2F1 und CYP2A13 humanisierten Mäusen konnte gezeigt werden, dass die humanen Enzyme einen signifikanten Beitrag zur Naphthalin-induzierten Atemtrakt-Toxizität leisten (Li et al. 2017). Beim Menschen sind CYP2A13 und CYP2F1 hauptsächlich im Atemtrakt exprimiert (Carr et al. 2003; Su et al. 2000; Weems und Yost 2010; Zhang und Ding 2008). Weitere Untersuchungen an Knock-out-Mäusen zeigen, dass zu einem geringen Grad auch hepatische CYP-Enzyme an der Naphthalin-induzierten Atemtrakt-Toxizität beteiligt sind (Kovalchuk et al. 2017, 2019).

Beim Menschen erfolgt die enzymatische Öffnung und damit Deaktivierung des Epoxidrings im zunächst gebildeten Naphthalin-1,2-epoxid vermutlich sehr viel effizienter als bei der Maus. Dies zeigt ein In-vitro-Versuch mit Umsetzung von Naphthalin durch Mikrosomen aus menschlichem Lebergewebe, was zu einem Verhältnis von *trans*-1,2-Naphthalindihydrodiol zu 1-Naphthol von 8,6 führt, hingegen bei Mikrosomen aus der Mausleber, nach Gabe von Phenobarbital, zu einem Verhältnis von 0,4 (IARC 2002).

Zusammengefasst lassen die Metabolismusdaten von Maus und Mensch zwar annehmen, dass der Mensch an der Lunge unempfindlicher gegen die toxischen Wirkungen von Naphthalin ist, aber es fehlen hierzu differenzierte Informationen zu den betroffenen Zelltypen im Atemtrakt, in denen sich die Enzymaktivitäten deutlich innerhalb der Spezies unterscheiden können.

2.3.3 Fazit

Eine Humanrelevanz der Nasen- und Lungentumore bei Nagern ist trotz speziesspezifischer Unterschiede in der Aktivierung nicht auszuschließen. Es wird postuliert, dass sich eine bei hohen Konzentrationen auftretende sekundäre genotoxische Wirkung nur im Zusammenwirken mit erhöhter Zellproliferation und Entzündung als kanzerogene Wirkung manifestiert und dementsprechend eine Vermeidung einer Entzündung vor der kanzerogenen Wirkung schützen würde. Die Untersuchungen zur Genotoxizität (siehe [Abschnitt 5.6](#) und [2.1](#)) geben jedoch vereinzelt Hinweise

auf einen primären genotoxischen Mechanismus, so dass nicht klar ist, ob eine Effektschwelle ableitbar ist, welche vor Kanzerogenität schützt.

2.4 Sonstige Untersuchungen

Die Rolle des CYP-vermittelten Metabolismus und des elektrophilen Transient-Rezeptor-Potential-Ankyrin-1-Rezeptors (TRPA1) bei der sensorischen Reizantwort auf eine inhalative Naphthalinexposition wurde bei weiblichen C57BL/6J-Mäusen während 15-minütiger Exposition gegen 7 ml Naphthalin/m³ durch plethysmographische Messung untersucht. Im Vergleich zu unbehandelten Wildtyp-Mäusen war die sensorische Reizwirkung in mit dem CYP-Inhibitor Metyrapon vorbehandelten Tieren auf weniger als ein Drittel verringert und in *Trpa1*-Knockout-Mäusen vollständig aufgehoben. Dies deutet darauf hin, dass die sensorische Reizwirkung von Naphthalin über seine Metaboliten TRP1-Rezeptor-vermittelt ist (Lanosa et al. 2010).

Unabhängig vom inhalativen oder intraperitonealen Aufnahmeweg induziert die akute Exposition gegen Naphthalin bei Ratten (n=3) eine Schädigung im olfaktorischen Epithelgewebe der Nase. Nach intraperitonealer Gabe von 0, 25, 50, 100 oder 200 mg Naphthalin/kg KG in Maiskeimöl waren die Schäden gleichmäßig über das gesamte olfaktorische Epithel verteilt, nach vierstündiger Inhalation von 0; 3,4 oder 23,8 ml Naphthalin/m³ traten sie hauptsächlich im medialen Meatus auf. Eine schnellere Metabolisierung von Naphthalin, aufgrund einer höheren CYP-Enzymaktivität, wurde in In-vitro-Inkubationen mit Mikrosomen aus olfaktorischem im Vergleich zu respiratorischem Epithel beobachtet. Das Ausmaß der Schädigung in der Nase korreliert demnach wahrscheinlich sowohl mit der Menge des Luftstroms, der die verschiedenen Nasenregionen erreicht, als auch mit der metabolischen Kompetenz des jeweiligen Gewebes. Hauptmetaboliten waren GSH-Konjugate von Naphthalin-1,2-epoxiden, primär 1R-Hydroxy-2R-glutathionyl-1,2-dihydronaphthalin, das aus 1R,2S-Naphthalin-Epoxid entsteht (Lee et al. 2005).

Die einmalige intraperitoneale Gabe von 200 mg Naphthalin/kg KG in Maiskeimöl führte nach 12, 24, 48 oder 72 Stunden bei männlichen C57BL/6-Mäusen (keine genaue Angabe zur Tierzahl) zu erhöhten Zellzahlen in der bronchoalveolären Lavage-Flüssigkeit (BALF), epithelialer Denudation und pulmonaler Hyperreaktivität (Methacholintest) in der Lunge (Karagiannis et al. 2012).

Je fünf bis sechs Mäuse erhielten einmalig intraperitoneal 0, 50, 75, 100 oder 200 mg Naphthalin/kg KG in Olivenöl und nach 24 Stunden traten, besonders bei den zwei höchsten Dosen, Änderungen im Metabolom in BALF und Lunge auf, hinsichtlich Lipidperoxidation, Membranschädigungen und Störungen in der Energieversorgung (Hong et al. 2014).

In zwei weiterführenden Studien wurde das Metabolom in Lunge, Leber, Nieren, Blut und BALF von männlichen ICR-Mäusen untersucht, welche intraperitoneal mit 300 mg Naphthalin/kg KG entweder einmalig oder anschließend an eine siebentägige Gabe von je 200 mg Naphthalin/kg KG und Tag in Olivenöl behandelt wurden. Histopathologische Schäden waren ausschließlich nach einmaliger Gabe im Lungengewebe zu beobachten. In der Lunge kam es zu Veränderungen bei Metaboliten des Energiestoffwechsels. Die Gewebeschäden nach akuter Gabe gingen einher mit einem erhöhten Gehalt an Aceton in der BALF sowie einem veränderten Spektrum an Metaboliten wie Cholesterin, phosphorylcholinhaltige Lipide (Lyso-Phosphatidylcholine und Sphingomyeline) und Fettsäuren im Lungengewebe. Die Autoren argumentieren, dass die ausschließlich nach wiederholter Gabe beobachtete Induktion von GSH und Succinat und die Veränderungen an Diacyl-Phosphatidylcholinen und Plasmenylcholinen über eine verbesserte Membranflexibilität und antioxidative Mechanismen die Toleranz gegenüber Schädigungen des Lungengewebes erklären könnte. Übereinstimmend mit der fehlenden Gewebeschädigung war auch das Metabolom in Nieren und Leber nur geringfügig durch Naphthalin beeinflusst (Lee et al. 2018; Lin et al. 2015).

Die Rolle der nach Metabolisierung durch mikrosomale Epoxidhydrolase (mEH) entstehenden Metabolite für die Zytotoxizität in der Lunge wurde an weiblichen und männlichen Mäusen untersucht. Die Mäuse, welche entweder defizient (mEH-KO) oder Wildtyp (mEH-WT) für mEH waren, wurden inhalativ für vier Stunden gegen 5, 10 oder 20 ml Naphthalin/m³ exponiert. Ab 5 ml/m³ wurden bei allen Mäusen geschwollene und vakuolisierte Atemwegsepithelzellen detektiert, sowohl intra- als auch extrapulmonal. In den extrapulmonalen Atemwegen waren die Schäden bei mEH-KO-Mäusen geringer als bei WT-Mäusen, jedoch nicht vollständig aufgehoben. Im intrapulmonalen

Atemtrakt, der Stelle der Tumorbildung nach inhalativer Exposition bei Mäusen (NTP 1992), waren mEH-KO-Mäuse bei Exposition gegen 20 ml/m^3 empfindlicher gegenüber Naphthalin-induzierter Zytotoxizität als WT-Mäuse; für männliche Mäuse gilt dies zusätzlich auch bei 5 ml/m^3 . Die Autoren schlussfolgern, dass die Naphthalin-induzierte Toxizität und Kanzerogenität im Atemtrakt bei Mäusen nicht ausschließlich durch mEH-generierte Metabolite bedingt wird. Geschlechtsspezifisch wurden im intrapulmonalen Atemtrakt mehr GSH-konjugierte Metaboliten (mEH-unabhängige) bei männlichen (WT und mEH-KO) als bei weiblichen Mäusen generiert. Weibliche Mäuse waren etwas suszeptibler gegenüber Naphthalin-induzierter Zytotoxizität, sowohl im intra- als auch extrapulmonalen Atemtrakt (Carratt et al. 2016).

In einem Mausmodell zu Fibrose und obstruktiven Lungenerkrankungen induzierten 14 wöchentliche intraperitoneale Gaben von Naphthalin in den Lungen eine Schädigung von Keulenzellen und regionale Hyperproliferation von epithelialen Vorläuferzellen, was zur Fibroblastenproliferation und peribronchialer Kollagenablagerung (Fibrose) führte. Dies ging einher mit einer Induktion an fibrinogenen Zytokinen TGF β (Transforming growth factor beta) und CTGF (Connective tissue growth factor) und einem erhöhten Gesamtkollagengehalt der Lunge (Aoshiba et al. 2014). Es wurde jedoch kein Hinweis auf eine durch Naphthalin induzierte epithelial-mesenchymale Transition beobachtet, die bei obstruktiven Lungenerkrankungen eine Rolle spielen kann (Watanabe et al. 2016).

In der ToxCast-Datenbank der US EPA zeigt Naphthalin in 20 von 894 In-vitro-Tests biologische Aktivität. Sämtliche dieser 20 positiven Tests wurden in humanen Leberzelllinien durchgeführt (Bailey und Rhomberg 2020; US EPA 2020). Von den positiven Tests wurden 15 mit verschiedenen Hinweisen auf eine möglicherweise eingeschränkte Aussagekraft ausgewiesen. In den fünf anderen Tests wurde eine Aktivierung von CYP2B6, CYP3A4, Retinoid-X-Rezeptor (zwei Tests) und Östrogenrezeptor α gezeigt. Es waren jedoch jeweils mehrere Tests, welche diese zellulären Proteine untersuchen, auch negativ, weshalb ein einziges positives Ergebnis nicht eindeutig auf eine spezifische Wirkung eines Stoffes auf dieses zelluläre Ziel hindeutet. Mittels NMR-spektroskopischer Analyse konnte in einer von drei frisch in DMSO gelösten Proben kein Naphthalin detektiert werden (NIH 2022). Somit ist nicht klar, ob die inaktiven Tests auf fehlende Aktivität des Naphthalins oder fehlende Substanz in der Probe zurückzuführen sind und die Daten für Naphthalin sind somit mit Vorsicht zu betrachten.

Der Naphthalinmetabolit 1,2-Naphthochinon, jedoch nicht 1,2-Dihydroxynaphthalin, kann die katalytische Aktivität der Proteinkinase C in vitro stören, welche essentiell für zelluläre Signaltransduktion und ebenfalls an der Zellproliferation beteiligt ist (Yu et al. 2002 b).

Eine Inhibierung der humanen Topoisomerase II alpha, welche an der DNA-Transkription beteiligt ist, wurde durch 1,2- und 1,4-Naphthochinon verursacht (Gurbani et al. 2012).

2.5 Zusammenfassung der Wirkungsmechanismen

Obwohl neue Studien und Übersichtsartikel auf einen nicht-genotoxischen Wirkungsmechanismus bei der kanzerogenen Wirkung von Naphthalin hindeuten, ist nicht abschließend geklärt, inwieweit die genotoxische Wirkung von Naphthalin zur Kanzerogenese beiträgt. Die CYP-vermittelte Oxidation von Naphthalin führt zum 1,2-Epoxid und zu einer Vielzahl weiterer, z. T. reaktiver Metaboliten, die vor allem nach Konjugation mit GSH, Glucuronsäure oder Sulfat entgiftet und ausgeschieden werden. Höhere Naphthalinkonzentrationen führen zu einer Erschöpfung des intrazellulären GSH-Gehaltes, wodurch die reaktiven Metaboliten an zelluläre Makromoleküle binden können. Diese kovalente Bindung tritt in Geweben mit hoher CYP-Aktivität auf. Als besonders empfindlich erwiesen sich die Keulenzellen der Lunge der Maus und das nasale Epithel der Ratte. In Leber und Nieren, aber auch in der Lunge anderer Spezies wird zwar auch kovalente Bindung beobachtet, aber die Toxizität ist dort weniger ausgeprägt als in der Lunge der Maus.

Der postulierte Wirkungsmechanismus der Tumorentstehung über eine starke lokale Entzündungsreaktion durch zytotoxische Metaboliten des Naphthalins, welche erst bei höheren Konzentrationen durch Proteinbindung der Metaboliten nach GSH-Depletion auftritt, ist nicht vollständig belegt.

So wurden Mikronuklei in vitro auch bei nicht-zytotoxischen Konzentrationen induziert. Besonders durch das Auftreten von DNA-Bindung im Zusammenhang mit fehlenden Mutagenitätstests in Zielgeweben der Kanzerogenität

lässt sich ein genotoxischer Wirkungsmechanismus nicht abschließend ausschließen und anhand der Datenlage keine Effektschwelle ableiten.

3 Toxikokinetik und Metabolismus

3.1 Aufnahme, Verteilung, Ausscheidung

Naphthalin wird im Tierversuch inhalativ, oral und dermal gut aufgenommen (Greim 1995, 2001). Die wenigen vorliegenden Daten lassen dies auch beim Menschen vermuten (AGS 2018; SCOEL 2010).

An Ratten wurden Blut:Luft-Verteilungskoeffizienten von 700 bis 760 bestimmt (Morris und Buckpitt 2009). Die inhalative Resorption ist bei der Maus höher als bei der Ratte (Maus $0,5 \text{ ml/m}^3$: 90%; Ratte 1 ml/m^3 : 50%). Bei beiden Spezies nimmt die prozentuale Resorption mit steigender Konzentration ab. Durch eine Vorbehandlung der Tiere mit 5-Phenylpentin, einem Inhibitor von Naphthalin-metabolisierenden CYP, wurde die Aufnahme stark reduziert (Morris 2013; Morris und Buckpitt 2009). Die Modellierung der Deposition im Atemtrakt beim Menschen nach inhalativer Exposition ergibt 12–34 % im extrathorakalen Bereich und 66–87 % im tracheobronchialen Bereich bei Atemvolumina von 15–60 l/min (AGS 2018; Zhang und Kleinstreuer 2011).

Zur dermalen Aufnahme liegt eine Probanden-Studie vor. Es wurden je fünf weibliche und männliche Probanden an beiden Unterarmen (insgesamt 20 cm^2 , in luftabgeschlossenen Expositionskammern) gegen 1 ml eines Naphthalin-haltigen Kampffjet-Treibstoffes (JP-8; 0,3 % Naphthalin) exponiert. Die Aufnahme des Stoffes in die Haut wurde über Klebefilm-Analysen und die Penetration über den Naphthalin-Blut-Konzentrationsverlauf ermittelt. Aus der Kinetik wurde unter Berücksichtigung des Blutvolumens eine Permeabilitätskonstante K_p von $5,3 \times 10^{-5} \text{ cm/h}$ ermittelt. Aus der Expositionskonzentration lässt sich damit ein Flux in Höhe von $0,159 \mu\text{g/cm}^2$ pro Stunde errechnen (Kim et al. 2006). Mit dem Naphthalin-haltigen JP-8 wurden außerdem In-vitro-Studien sowohl am Schweine-Ohr-Modell als auch an der Humanhaut durchgeführt. Dabei wurde ein Flux von $0,376$ bzw. $0,451 \mu\text{g/cm}^2$ pro Stunde ermittelt (Kanikkannan et al. 2001 a, b). Eine Schlepperfunktion durch die anderen im JP-8 befindlichen aromatischen Kohlenwasserstoffe kann nicht ausgeschlossen werden.

Im Nachtrag aus dem Jahr 2001 sind In-vitro-Permeabilitätskonstanten (cm/h) für die abdominale Affenhaut berichtet. Sie betragen in Aceton $5,12 \times 10^{-3}$, in Aceton plus künstlichem Schweiß $6,31 \times 10^{-3}$ und in Aceton plus Schmieröl $1,87 \times 10^{-3}$. Der Flux (umgerechnet aus den nmol/cm²/h-Angaben) betrug $0,035 \pm 0,028 \mu\text{g/cm}^2$ pro Stunde (in Schmierfett) und $0,130 \pm 0,051 \mu\text{g/cm}^2$ pro Stunde (in Aceton plus künstlichem Schweiß) (Greim 2001).

Der Hauptausscheidungsweg von radioaktiv markiertem Naphthalin ist der Urin (Greim 1995, 2001). Bei Ratten werden etwa 77–93 % mit dem Urin, 6–14 % mit der Atemluft und etwa 7 % mit den Faeces ausgeschieden. Die Eliminationshalbwertszeit beträgt 48 bis 72 Stunden (AGS 2018). Auch beim Menschen ist eine schnelle Ausscheidung mit dem Urin gezeigt worden (Klotz et al. 2016; SCOEL 2010).

3.2 Metabolismus

Der Metabolismus von Naphthalin ist bereits ausführlich in der MAK-Begründung aus dem Jahr 1995 und der BAT-Begründung aus dem Jahr 2016 dargestellt. Naphthalin wird hauptsächlich in der Leber verstoffwechselt, aber auch in Nieren, Atemtrakt und Nasenepithel (Greim 1995; Klotz et al. 2016).

Der Metabolismus von Naphthalin verläuft über einen mehrstufigen Prozess. Der erste Schritt beinhaltet die Oxidation zum instabilen 1,2-Naphthalin-Epoxid, welche durch eine Vielzahl an CYP-Enzymen katalysiert werden kann. Das reaktive Epoxid kann entweder direkt kovalent an zelluläre Makromoleküle binden, mittels GSH-Konjugation zu Mercaptursäuren detoxifiziert oder weiter modifiziert werden. Durch spontane Umlagerung können dabei 1- und 2-Naphthole oder durch enzymatische Hydratisierung das Naphthalin-1,2-dihydrodiol entstehen, welche nach Glucuronidierung oder Sulfatierung mit dem Urin ausgeschieden werden. Weitere CYP- oder Aldo-Keto-Reduktase-

katalysierte Oxidation der Naphthole oder von Dihydrodiol kann zur Bildung von 1,2- oder 1,4-Dihydroxynaphthalin (1,2-DHN und 1,4-DHN) führen, welche in hochreaktive Naphthochinone umgewandelt werden können (Bailey et al. 2016; Greim 1995, 2001; Klotz et al. 2016). Auch die Bildung von 1,2-Dihydroxy-3,4-epoxy-1,2,3,4-tetrahydronaphthalin (Diolepoxid) ist beschrieben (ATSDR 2005). Die Naphthochinone sowie das Diolepoxid werden als toxische Metaboliten angesehen (AGS 2018; Bailey et al. 2016).

Die Detoxifizierung über GSH, Sulfatierung oder Glucuronidierung ist besonders bei niedrigeren Naphthalinkonzentrationen relevant; hohe Konzentrationen an Naphthalin können zur Depletion von GSH, aktiviertem Sulfat oder Glucuronsäure führen, was die Bildung von reaktiven Metaboliten ermöglicht (Bailey et al. 2016; Greim 1995).

3.2.1 Speziesspezifische Unterschiede im Metabolismus

Die relativen Mengen an Intermediärmetaboliten, die Bildung reaktiver Metabolite und das Vorkommen der verschiedenen Stoffwechselwege sind speziesspezifisch und bedingen die spezifische Toxizität (IARC 2002; Preuss et al. 2003). So kann z. B. das im ersten Schritt gebildete 1,2-Epoxid in zwei stereoisomeren Formen vorliegen, 1R,2S- und 1S,2R-Epoxid, wobei das Verhältnis speziesspezifische Unterschiede aufweist. Das 1R,2S-Epoxid wird in der Lunge bei Mäusen sowie in der Nase bei Ratten, Mäusen und Hamstern gefunden und korreliert mit der dort auftretenden Toxizität. Im Gegensatz dazu wird in der Lunge von Ratten, Hamstern, Affen und Menschen hauptsächlich das 1S,2R-Epoxid gefunden (Buckpitt et al. 1992; Cruzan et al. 2009).

3.2.1.1 Nager

Unabhängig vom Aufnahmeweg sind die Keulenzellen der Lunge bei der Maus die Zielzellen der Toxizität, wohingegen das nasale Epithel das Zielgewebe der Toxizität bei der Ratte ist. Für die Bildung der toxischen Metaboliten werden bei beiden Nagerspezies besonders die CYP2F-Enzyme verantwortlich gemacht. So zeigten Knockout-Versuche in Mäusen, dass CYP2F2 essentiell für die schädigende Wirkung des Naphthalins in der Lunge ist, CYP1A1 und CYP1A2 jedoch keine wichtige Rolle spielen (Genter et al. 2006; Li et al. 2011). Hingegen wurde in Studien mit Knockout-Mäusen nachgewiesen, dass auch andere als CYP2ABFGS-Enzyme der Lunge in der Lage sind, Naphthalin zu bioaktivieren (Kovalchuk et al. 2017). Weitere Untersuchungen an Knockout-Mäusen zeigen, dass eine verminderte Clearance durch hepatische CYP zu einer erhöhten Naphthalin-Toxizität in den Atemwegen führt (Kovalchuk et al. 2019).

Die nasale Toxizität von Naphthalin bei Mäusen wird durch CYP2A5 bedingt, wogegen CYP1A1, 1A2 und 2F2 hierbei keine wichtige Rolle zu spielen scheinen (Hu et al. 2014; Li et al. 2011). Dem widerspricht eine Studie, in der die Vorbehandlung mit dem CYP2F-Inhibitor 5-Phenyl-1-pentin die Naphthalin-induzierte Schädigung in der olfaktorischen Mukosa in der Nase bei Mäusen kompensierte (Genter et al. 2006).

Die wiederholte Gabe von Naphthalin beeinflusste die Expression von Naphthalin-metabolisierenden Enzymen bei Nagern. So wurde bei Ratten nach 7-tägiger intraperitonealer Gabe von 200 mg Naphthalin/kg KG die Expression von CYP2F und CYP2B sowie die von CYP-Reduktase im Lungenepithel statistisch signifikant reduziert. Die kovalente Bindung von Metaboliten an zelluläre Proteine war jedoch nicht verringert (Lakritz et al. 1996). Bei Mäusen erhöhte sich nach 7-tägiger Applikation von 200 mg Naphthalin/kg KG die Expression der GSH-S-Transferasen in der Leber um 68%. In der Lunge wurde diese Erhöhung nicht beobachtet (Mitchell et al. 2000).

3.2.1.2 Mensch

Beim Menschen sind im Urin nach Exposition gegen Naphthalin 1- und 2-Naphthol, 1,2-DHN sowie 1-Naphthylmercaptursäure nachweisbar, wobei 1,2-DHN den größten Anteil ausmacht (Klotz et al. 2018, 2019). Dazu passt, dass in vitro mit menschlichen Lebermikrosomen 1,2-Dihydrodiol, 1- und 2-Naphthol im Verhältnis von 100:10:1 entsteht (Cho et al. 2006).

Das humane CYP2F1 hat in vitro nur eine geringe Aktivität für Naphthalin. Jedoch kann humanes CYP2A13, welches die höchste Aktivität in der Nase gefolgt vom Atemtrakt aufweist, Naphthalin ebenfalls metabolisieren (Carr et al. 2003; Fukami et al. 2008; Su et al. 2000; Weems und Yost 2010; Zhang und Ding 2008). Auch in für die Gene CYP2F1 und

CYP2A13 hemizygot humanisierten Mäusen leisten die Enzyme einen signifikanten Beitrag zur Naphthalin-induzierten Atemtrakt-Toxizität. Die Toxizität war jedoch geringer als bei Wildtyp-Mäusen (Li et al. 2017).

Die Rate des Naphthalin-Stoffwechsels ist *in vitro* im Lungengewebe von Mäusen etwa 3-, 8- bzw. 100-mal höher als die von Hamstern, Ratten und Affen (IARC 2002).

Das Verhältnis von 1,2-Dihydrodiol zu 1-Naphthol beträgt bei Umsetzung von Naphthalin *in vitro* durch Mikrosomen aus menschlichem Lebergewebe 8,6, bei Leber-Mikrosomen der Maus (phenobarbitalbehandelt) hingegen 0,4, was darauf hinweist, dass beim Menschen die enzymatische Deaktivierung des Epoxids im zunächst gebildeten Naphthalin-1,2-epoxid sehr viel effizienter erfolgt als bei der Maus (IARC 2002). Auch im Vergleich zur Ratte führte die *In-vitro*-Inkubation von Naphthalin mit einem Pool humaner Lebermikrosomen von 150 Patienten hauptsächlich zur Bildung von 1,2-Dihydrodiol, wobei nach Inkubation mit Lebermikrosomen von Ratten vermehrt das 1-Naphthol gefunden wurde (Wang et al. 2020).

3.2.1.3 Rhesusaffen

In einer nur als Zusammenfassung publizierten *In-vitro*-Studie war die Metabolisierung von Naphthalin in präparierten Lungen aus neugeborenen Rhesusaffen am höchsten in den mittleren bronchiolären Atemwegen und am niedrigsten in den respiratorischen Bronchiolen (k. w. A.). Die Metabolisierung war im Vergleich zu Nagetieren geringer und fand hauptsächlich im Parenchym statt. Die Menge der gebildeten GSH-Konjugate und Diole entsprach der der kovalent gebundenen Naphthalin-Metaboliten (Greim 2001).

3.3 Fazit

Naphthalin wird vor allem inhalativ, in Abhängigkeit von der Konzentration, aber auch oral und dermal gut aufgenommen. Die Exkretion erfolgt hauptsächlich mit dem Urin. Nach Aufnahme in den Organismus wird Naphthalin enzymatisch zu verschiedenen reaktiven Metaboliten verstoffwechselt, welche seine Toxizität bedingen. Hierbei bestehen speziesspezifisch sowohl qualitative als auch quantitative Unterschiede im Metabolismus, insbesondere bei der CYP-katalysierten Oxidation. Die CYP2F-Enzyme im Atemtrakt beim Nager, dem Zielgewebe der Naphthalin-induzierten Toxizität, zeigen eine besonders hohe enzymatische Aktivität gegenüber Naphthalin.

4 Erfahrungen beim Menschen

Siehe Greim (1995). Zu den Endpunkten einmalige Exposition, Wirkungen auf Haut und Schleimhäute, allergene Wirkung sowie Reproduktionstoxizität liegen keine neuen Daten vor.

Wiederholte Exposition

In einer Querschnittsstudie an 61 seit mindestens zwölf Monaten nichtrauchenden männlichen Beschäftigten in schleifmittelherstellenden Betrieben (drei in Deutschland, zwei in Österreich) wurden akute sensorisch-irritative oder (sub)chronische entzündliche Effekte an Auge, Nase und Atemwegen durch eine Naphthalinexposition untersucht. Naphthalin wird in der schleifmittelherstellenden Industrie offen gehandhabt und es stellt bezüglich potentieller irritativer Wirkung auf die Atemwege die hauptsächliche Expositionsquelle dar. Die Untersuchungen wurden innerhalb einer Arbeitswoche am Montag vor Schichtbeginn und am Donnerstag nach Schichtende durchgeführt. Durch Endoskopie der Nase wurden (sub)klinische Zeichen auf Reizungen, Entzündungen und Schädigungen der Nasenschleimhaut untersucht. Anhand von Fragebögen wurden mögliche Gewöhnungseffekte an den Naphthalin-geruch sowie die subjektive Beurteilung der Geruchs- und Reizwirkung ermittelt und die Geruchsempfindlichkeit durch den Sniffin' Sticks-Test ermittelt. Weiterhin wurden Veränderungen der humoralen und zellulären Zusammensetzung von Blut, Nasenspülflüssigkeit (NALF) und induziertem Sputum (IS) untersucht. Basierend auf Daten personengebundener Luftmessungen und Ergebnissen eines biologischen Monitorings (Summe von 1- und 2-Naph-

thol im Urin) und einer Arbeitsanamnese wurden die Teilnehmer in eine Gruppe hoch Exponierter ($n = 22$, direkte Exposition bei den Tätigkeiten Mischen, Sieben, Formen und Pressen), eine Gruppe moderat Exponierter ($n = 17$, Nachbarschaftsexpositionen, gelegentlicher Aufenthalt im Expositionsbereich) und in eine Referenzgruppe ($n = 22$) unterteilt. Die während einer Arbeitsschicht ermittelte Naphthalinkonzentration lag im Mittel bei $0,15 \text{ mg/m}^3$ (Median: $0,13 \text{ mg/m}^3$; Bereich: $0,05\text{--}0,36 \text{ mg/m}^3$) in der Referenzgruppe, bei $0,66 \text{ mg/m}^3$ (Median: $0,59$; Bereich: $0,20\text{--}1,22$) in der moderat exponierten und bei $6,97 \text{ mg/m}^3$ (Median: $6,30$; Bereich: $2,46\text{--}11,58$) in der hoch exponierten Gruppe. Bei den hoch Exponierten wurden in Einzelfällen, besonders bei der Tätigkeit Sieben, Kurzzeitwerte von bis zu $145,8 \text{ mg/m}^3$ gemessen. Vorhergegangene Messungen (k. w. A.) ergaben in drei Unternehmen geringe Konzentrationen von Staub (einatembare Fraktion $\leq 5,5 \text{ mg/m}^3$, alveolengängige Fraktion $\leq 1,0 \text{ mg/m}^3$) und in zwei Betrieben von bis zu $100 \mu\text{g}$ kristalline Kieselsäure/ m^3 . Für das biologische Monitoring wurden Urinproben täglich Montag bis Donnerstag vor und nach der Schicht gesammelt; für die Referenzgruppe nur Montag und Donnerstag. Die Naphtholkonzentrationen (Summenwert) lagen im Nachschichturin im Bereich von $< 1\text{--}10\ 127 \mu\text{g/l}$ und zeigten eine lineare Korrelation mit der Naphthalinkonzentration in der Luft. Zusätzlich wurde im Verlauf der Arbeitswoche ein sägezahnförmiger Anstieg der Naphthol-Summenwerte beobachtet. Der Referenzwert (BAR) der beruflich nicht-exponierten Allgemeinbevölkerung von $35 \mu\text{g/l}$ wurde teilweise bei gegen Naphthalin exponierten Beschäftigten selbst nach einem arbeitsfreien Wochenende noch überschritten. Erst nach mindestens zwei Wochen ohne Naphthalinexposition (z. B. Urlaub) lag die Ausscheidung der Naphthole wieder im Bereich des BAR-Wertes. Die Autoren schlussfolgern, dass somit kein längerfristiger Speichereffekt von Naphthalin im Organismus gegeben ist.

Die Beschäftigten unterschieden sich bezüglich ihres Alters. Im Mittel waren die hoch Exponierten $39,4$ ($25\text{--}58$), die moderat Exponierten 46 ($24\text{--}60$) und die Referenzgruppe 46 ($23\text{--}62$) Jahre alt. Die Expositionsdauer lag im Mittel bei den hoch Exponierten mit $6,8$ ($0,3\text{--}21,8$) Jahren etwas niedriger als bei den moderat Exponierten mit $9,1$ ($0,4\text{--}33,9$) und der Referenzgruppe mit $9,0$ ($0,6\text{--}34,4$) Jahren.

Chronische Erkrankungen wie Schilddrüsenfunktionsstörungen, Hypertension oder erhöhte Cholesterinwerte, Erkrankungen der Nase und Atemwege wie chronische Rhinitis, Bronchitis oder Asthma sowie Atemwegsallergien, Atopie oder ein eingeschränktes Riechvermögen kamen bei gegen Naphthalin Exponierten nicht häufiger vor als in der Referenzgruppe. Arbeitsbedingte Augen- und Nasenbeschwerden wurden bei den hoch Exponierten im Vergleich zur Referenzgruppe statistisch signifikant häufiger berichtet. In der moderat exponierten Gruppe traten Nasen-, jedoch keine Augenbeschwerden auf. Die Beschäftigten der hoch exponierten Gruppe führten ihre Augenbeschwerden auf die Naphthalinexposition zurück, während die Beschäftigten der Referenzgruppe sie auf die Bildschirmarbeit zurückführten. Die Beschäftigten der hoch exponierten Gruppe erklärten weiter, dass Augen- und Nasenreizungen nur beim direkten Umgang mit Naphthalin spürbar waren. Die Autoren schlussfolgerten, dass es sich bei den Augenbeschwerden um subjektive Beschwerden handelt, die nicht das Kriterium einer adversen sensorischen Irritation erfüllen.

Allgemein beschrieben die Beschäftigten den Geruch von Naphthalin als intensiv und unangenehm und es waren keine Unterschiede zwischen den Expositionsgruppen und auch keine Gewöhnungseffekte während der Studienwoche zu beobachten. Im Vergleich zu den anderen Gruppen bezeichneten sich die Mitarbeiter der hoch exponierten Gruppe als weniger empfindlich gegenüber Gerüchen und Chemikalien. Die endoskopische Untersuchung der Nase ergab am Montag vor Schichtbeginn keine (sub)klinischen Anzeichen einer Reizung, Entzündung oder Schädigung der Nasenschleimhaut. Am Schichtende am Donnerstag wurden leicht geschwollene Nasenschleimhaut und leicht vermehrte Sekretion in den beiden exponierten Gruppen im Vergleich zur Referenzgruppe beobachtet. Jedoch unterschieden sich die beiden exponierten Gruppen nicht statistisch signifikant voneinander und es wurde auch keine Konzentrations-Wirkungs-Beziehung in Bezug auf eine zunehmende Anzahl oder eine zunehmende Schwere von entzündlichen Effekten mit zunehmender Exposition beobachtet.

Für die gemessenen zellulären und humoralen Parameter in Serum, NALF und IS wurden keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen den drei Gruppen beobachtet. Außer verminderten Clara-cell-secretory-protein (CC16)-Gehalten im Serum am Donnerstag wurden keine Unterschiede zwischen Vorschichtproben am Montag und Nachschichtproben am Donnerstag gefunden. Die Autoren schlussfolgern, dass kein konsistentes Muster an entzündlichen Effekten durch die Naphthalinexposition feststellbar ist sowie keine Konzentrationsabhängigkeit.

Die meisten untersuchten Parameter unterschieden sich weder zwischen den moderat und hoch Exponierten noch zeigten sie eine adverse Veränderung im Laufe der Studienwoche. Die Autoren schlussfolgern, dass es unter Berücksichtigung des ausgeprägten Unterschiedes in der Expositionshöhe fraglich erscheint, dass die beobachteten geringen Unterschiede auf die Naphthalinexposition zurückzuführen seien. Zusammenfassend waren bei mittleren langjährigen Expositionen bis zu einer Höhe von ca. 7 mg/m^3 und zum Teil erheblichen kurzzeitigen Überschreitungen keine Naphthalin-assoziierten Effekte erkennbar (Sucker et al. 2017, 2021; Weiss et al. 2020).

Reproduktionstoxizität

In der Bewertung des Ausschusses für Gefahrstoffe sind einige Studien zur Fertilität dargestellt. Diese berichten über eine inverse Korrelation von Spermienmotilität bzw. Spermienmenge zur Konzentration von 1-Naphthol bzw. 1-Hydroxynaphthalin oder 1-Hydroxynaphthalin und 2-Hydroxynaphthalin (AGS 2018).

Über transplazentare Naphthalinvergiftungen wird in der Begründung von 1995 berichtet. In beiden Fällen hatten werdende Mütter über längere Zeit im letzten Trimenon der Schwangerschaft naphthalinhaltige Mottenkugeln gekaut. Sieben Stunden bzw. drei Tage nach der Geburt trat bei den Neugeborenen eine hämolytische Anämie mit Gelbsucht auf (Greim 1995). Es liegen Fall-Studien zu hämatologischen Effekten bei Neugeborenen nach maternaler Exposition gegen Naphthalin vor, jedoch keine epidemiologischen Daten (AGS 2018). Auch in zwei neuen Studien traten hämatologische Effekte nach Kauen von Mottenkugeln während des zweiten und dritten Trimenons auf (Sahni et al. 2019; Shafer et al. 2020).

Lineare Modelle wiesen Assoziationen zwischen der Konzentration an 2-Hydroxynaphthalin im Urin von 263 Schwangeren und einem niedrigeren Geburtsgewicht ($-4,38\%$ Hochexponierte gegenüber Niedrigexponierte bezogen auf 2-Hydroxynaphthalin; p (Trendtest) = 0,049) und einem gestiegenen Schädelbildungsindex ($+4,30\%$ Hochexponierte gegenüber Niedrigexponierte bezogen auf 2-Hydroxynaphthalin; p (Trendtest) = 0,038) nach (Nie et al. 2018).

Genotoxizität

Chromosomale Aberrationen und Translokationen in Lymphozyten im Blut von 113 Kindern aus großstädtischem Umfeld korrelierten statistisch signifikant mit den Konzentrationen von 1- und 2-Naphthol im Urin (Orjuela et al. 2012). Aufgrund möglicher Expositionen gegen andere Verursacher wie andere PAK ist es nicht möglich, den Anstieg der Chromosomenaberrationen auf die Exposition gegen Naphthalin zurückzuführen (Bailey et al. 2016). Die Studie wird daher nicht zur Bewertung herangezogen.

In zwei weiteren Studien korrelierten erhöhte DNA-Schäden (Comet-Assay) in Spermien mit erhöhten Werten an 2-Naphthol im Urin bei Männern (Han et al. 2011; Meeker et al. 2007). Der Einfluss weiterer Umweltchemikalien auf die gemessenen Effekte ist jedoch anzunehmen. Deshalb ist eine Zuordnung der gemessenen DNA-Schäden zur Exposition gegen Naphthalin nicht möglich.

Bei Arbeitern der US Air Force, die gegen Flugzeugbenzin (Jet Propulsion Fuel JP-8) exponiert waren, ergab sich im Comet-Assay keine Korrelation zwischen DNA-Strangbrüchen in Lymphozyten und der Naphthalinexposition. Die Naphthalinkonzentration in der Luft, bestimmt mittels personengebundener Messgeräte, betrug in der niedrig ($n = 138$), moderat ($n = 37$) und hochexponierten ($n = 115$) Gruppe $2,7 \pm 2,7 \text{ } \mu\text{g/m}^3$ (Bereich: $0,67\text{--}16,88 \text{ } \mu\text{g/m}^3$); $63,6 \pm 174,6 \text{ } \mu\text{g/m}^3$ (Bereich: $0,67\text{--}932,13 \text{ } \mu\text{g/m}^3$) und $643,9 \pm 682,2 \text{ } \mu\text{g/m}^3$ (Bereich: $0,67\text{--}3910,82 \text{ } \mu\text{g/m}^3$) (Krieg et al. 2012).

Naphthalin ist ein Bestandteil von Bitumen. Bei Untersuchungen auf (oxidative) DNA-Schäden bei gegen Bitumen Exponierten zeigte sich kein Zusammenhang zwischen Naphthalin-Metaboliten im Urin und den beobachteten Effekten beim Menschen (Nies et al. 2019).

Kanzerogenität

Eine kanzerogene Wirkung von Naphthalin konnte aus den bisher vorliegenden Daten am Menschen nicht abgeleitet werden (Greim 1995, 2001; IARC 2002). Weitere Reevaluierungen epidemiologischer Daten bestätigen dies (Bailey et al. 2016; Lewis 2012).

Eine Überprüfung mehrerer Studien zum Lungenkrebsrisiko bei Beschäftigten in Berufen, in denen eine Naphthalinexposition wahrscheinlich vorlag, ergab keinen Zusammenhang zwischen Naphthalinexposition und Lungen- oder Nasenkrebs. Berücksichtigt wurde eine Exposition gegen Erdöl, Asphalt, Kreosot und Jet-Fuel. Der Autor merkte an, dass alle Studien Einschränkungen wie fehlende Expositionsdaten, geringe Naphthalinexposition, Exposition gegen andere chemische Stoffe und geringe Fallzahlen aufwiesen und kam zu dem Schluss, dass die Unzulänglichkeiten der Daten einen möglichen Zusammenhang nicht ausschließen ließen (Lewis 2012).

Die bei Ratten nach inhalativer Exposition beobachteten nasalen Tumore des olfaktorischen Neuroepithels stellen eine beim Menschen sehr selten auftretende Tumorart dar, von denen bis zum Jahr 2000 weniger als 1000 Fälle weltweit beschrieben sind (AGS 2018). In den USA wurden im Zeitraum von 1973 bis 2006 jährlich 910 nasale Tumore beobachtet, davon 66 Neuroblastome im olfaktorischen Epithel. Dagegen wurden mittels der von der US EPA aus der NTP-Studie mit Ratten abgeleiteten Unit-Risk-Faktoren für Naphthalin jährlich 65 905 seltene nasale Tumoren, davon 29 121 Neuroblastome des olfaktorischen Epithels für die USA prognostiziert. Die Autoren plädieren deshalb für eine Reevaluierung der Risikoabschätzung durch die US EPA (Magee et al. 2010).

5 Tierexperimentelle Befunde und In-vitro-Untersuchungen

5.1 Akute Toxizität

Die folgenden Studien sind seit dem letzten Nachtrag von 2001 (Greim 2001) neu hinzugekommen.

5.1.1 Inhalative Aufnahme

Bei 4-stündiger Exposition von je drei männlichen Sprague-Dawley-Ratten gegen 0; $3,4 \pm 0,5$ oder $23,8 \pm 1,7$ ml Naphthalin/m³ kam es nach 24 Stunden zu einer konzentrationsabhängigen Schädigung im olfaktorischen Epithel durch Naphthalin (Lee et al. 2005).

F344- und Sprague-Dawley-Ratten (jeweils fünf Ratten beider Geschlechter eines Stammes) wurden sechs Stunden lang gegen 0; 0,1; 0,3; 1; 10 oder 30 ml/m³ exponiert. Nekrotische Veränderungen im olfaktorischen Epithel waren ab 0,1 ml/m³ bei Sprague-Dawley-Ratten und ab 1 ml/m³ bei F344-Ratten erkennbar und stiegen konzentrationsabhängig an. Ab 10 ml/m³ zeigten alle exponierten Ratten diese Schädigung. Nekrosen im respiratorischen Nasenepithel traten bei höheren Konzentrationen auf als im olfaktorischen Epithel und waren gekennzeichnet durch Vakuolisierung des Zytoplasmas, pyknotische Zellkerne und Ablösen des geschädigten Epithels. Infiltration von Entzündungszellen kam nur in geringem Umfang vor. Es waren keine geschlechtsspezifischen Unterschiede erkennbar, jedoch waren Sprague-Dawley-Ratten empfindlicher als F344-Ratten (Dodd et al. 2010).

5.2 Subakute, subchronische und chronische Toxizität

Die folgenden Studien sind seit dem letzten Nachtrag von 2001 (Greim 2001) neu hinzugekommen.

5.2.1 Inhalative Aufnahme

F344- und Sprague-Dawley-Ratten (jeweils fünf bis zehn Ratten beider Geschlechter eines Stammes) wurden fünf Tage lang, sechs Stunden pro Tag gegen 0; 0,1; 1 oder 10 ml Naphthalin/m³ exponiert. Zusätzlich wurden zehn Ratten der höchsten Konzentration vierzehn Tage nachbeobachtet. Degenerative nekrotische Veränderungen im olfaktorischen Nasenepithel waren bei weiblichen Sprague-Dawley-Ratten ab 0,1 ml/m³, bei männlichen Sprague-Dawley-Ratten und

bei F344-Ratten beiden Geschlechts ab 1 ml/m^3 erkennbar und stiegen konzentrationsabhängig an. Läsionen umfassten Vakuolisierung im und Kondensation vom Zytoplasma, Kernpyknose und Karyorrhesis, Verlust der Epithelorganisation sowie Ausdünnung und Abschilferung des Epithels mit darunter einsetzender Neubildung, welche jedoch nicht als Metaplasie klassifiziert wurde. Infiltration von Entzündungszellen kam nur in geringem Umfang vor. Eine Basalzellhypertrophie bzw. -hyperplasie der nasopharyngealen Becherzellen wurde zusätzlich bei Tieren der höchsten Konzentration festgestellt. Nach vierzehntägiger Erholung waren die durch $10 \text{ ml Naphthalin/m}^3$ induzierten Läsionen geringer, aber noch nachweisbar (Dodd et al. 2010).

Jeweils zehn weibliche und männliche F344-Ratten pro Konzentrationsgruppe wurden 90 Tage lang, sechs Stunden pro Tag, an fünf Tagen pro Woche inhalativ gegen 0; 0,1; 1; 10 oder $30 \text{ ml Naphthalin/m}^3$ exponiert und anschließend histopathologische Untersuchungen der Nase durchgeführt. Jeweils zehn weitere Tiere pro Geschlecht und Konzentration wurden vier Wochen nach Expositionsende untersucht. Querschnitte der Nasenhöhle wurden auf sechs Ebenen durchgeführt. Bei Ratten der niedrigsten Konzentrationsgruppe wurden keine Naphthalin-induzierten Veränderungen beobachtet. Bei 1 ml/m^3 wurden minimale Hyperplasien im transitionalen/respiratorischen Epithel (Schnittebene 2) festgestellt (Schweregrad 1 von 5), welche auch bei den höheren Konzentrationsgruppen gefunden wurden (Schnittebene 2, Schweregrad 1,4). Zusätzlich wurden bei 10 und 30 ml/m^3 Basalzell-Hyperplasien und Degenerationen/Nekrosen des olfaktorischen Epithels und Becherzellhyperplasien im nasopharyngealen Trakt erkennbar (Schnittebene 2–5; Schweregrad 1–2,7). Vier Wochen nach Expositionsende waren bis auf die Basalzell-Hyperplasien und Degenerationen/Nekrosen im olfaktorischen Epithel der beiden höchsten Konzentrationsgruppen alle anderen Effekte weniger ausgeprägt oder vollständig reversibel (Dodd et al. 2012; siehe Tabelle 1).

Zusätzlich wurden nach 90 Tagen Genexpressionsanalysen im Nasengewebe durchgeführt, die auf oxidativen Stress, Entzündung und Proliferation hinwiesen (siehe Abschnitt 2.2; Clewell et al. 2014).

Tabelle 1 zeigt, dass inhalative Exposition gegen Naphthalin konzentrations- und zeitabhängig zu Läsionen in der Nase bei männlichen F344-Ratten führt. Ergebnisse für weibliche Ratten waren ähnlich (Daten nicht gezeigt) (Dodd et al. 2010, 2012; NTP 2000).

Tab. 1 Vergleich der nichtneoplastischen Veränderungen der Nasenhöhle bei männlichen F344-Ratten exponiert gegen Naphthalin (nach AGS 2018; Dodd et al. 2010, 2012; NTP 2000)

Zelltyp/ Läsion	Naphthalin (ml/m^3)									
	0,1		1		10			30		60
	5 Tage	90 Tage	5 Tage	90 Tage	5 Tage	90 Tage	2 Jahre	90 Tage	2 Jahre	2 Jahre
RE-Hyp	N	N	N	10/10 (1,0) ^{a)}	N	10/10 (1,4)	21/49 (2,2)	10/10 (1,4)	29/49 (2,0)	29/49 (2,2)
RE-Sq Met	N	N	N	N	N	8/10 (0,9)	15/49 (2,1)	8/10 (0,8)	23/48 (2,0)	18/48 (1,8)
OE-Deg	N	N	8/10 (0,8)	N	10/10 (2,8)	10/10 (1,6)	46/49 (1,7)	10/10 (2,2)	40/48 (1,7)	38/48 (1,5)
OE-Hyp	N	N	N	N	N	9/10 (0,9)	48/49 (2,1)	10/10 (1,9)	45/48 (2,5)	46/48 (3,0)

^{a)} Anzahl mit Befunden/Anzahl untersuchter Tiere (durchschnittlicher Schweregrad: 1 = minimal, 2 = leicht, 3 = moderat, 4 = schwer);

Deg: Degeneration; Hyp: Hyperplasie; N: keine behandlungsbedingten Läsionen; OE: olfaktorisches Epithel; RE: respiratorisches Epithel;

Sq Met: Plattenepithelmetaplasie

5.2.2 Orale Aufnahme

Die vierzehntägige orale Gabe von 0, 49, 98 oder $147 \text{ mg Naphthalin/kg KG}$ und Tag an je drei männliche Wistar-Ratten erhöhte die mittlere Gesamtproteinkonzentration im Serum. Die Aktivitäten von Alanin-Aminotransferase (ALT), Aspartat-Aminotransferase (AST) und alkalischer Phosphatase (ALP) waren nicht statistisch signifikant erhöht (Chukwunonyelum et al. 2016).

5.3 Wirkung auf Haut und Schleimhäute

Naphthalin ist an Haut und Auge von Kaninchen schwach reizend (Greim 1995).

5.4 Allergene Wirkung

In einem modifizierten Maximierungstest am Meerschweinchen wurde für Naphthalin keine sensibilisierende Wirkung nachgewiesen. Die intradermale und die topische Induktionsbehandlung wurden mit einer 1%igen Zubereitung in Paraffinum liquidum bzw. mit einer 10%igen Zubereitung in Vaseline vorgenommen. Vor der topischen Induktionsbehandlung erfolgte eine 24-stündige Behandlung mit 10 % Natriumdodecylsulfat in Vaseline. Für die 24-stündige Auslösebehandlung dienten 0,1%- und 1%ige Zubereitungen in Aceton. Bei den Ablesungen nach 24 und 48 Stunden trat bei keinem der zwölf weiblichen Hartley-Meerschweinchen eine Reaktion auf (Okada et al. 1985).

Ein Bühler-Test mit unverdünntem Naphthalin führte bei 20 Meerschweinchen ebenfalls zu keiner Reaktion (EU 2003).

5.5 Reproduktionstoxizität

In den in der Begründung 1995 berichteten Studien zur Entwicklungstoxizität an Ratten, Mäusen und Kaninchen ergaben sich keine Hinweise auf Teratogenität (Greim 1995).

Im veröffentlichten ECHA-Registrierungsdossier werden zahlreiche (unveröffentlichte oder dort nicht als Veröffentlichung identifizierte) Studien zur Fertilität und Entwicklungstoxizität dokumentiert, durchgängig mit negativem Befund oder mit nicht signifikantem Befund aus histologischen Untersuchungen zu Auswirkungen auf die Reproduktionsorgane (männliche und weibliche Tiere, Ratte, Maus und Kaninchen). Auch im Rahmen des NTP-Programms durchgeführte Untersuchungen zur Fertilität bzw. Teratogenität erbrachten keine entsprechenden Hinweise (AGS 2018).

5.6 Genotoxizität

Da die Genotoxizität neu betrachtet wird, werden alle Daten im folgenden Abschnitt ausführlich dargestellt.

5.6.1 In vitro

Die Daten aus In-vitro-Versuchen zur Genotoxizität sind in [Tabelle 2](#) zusammengefasst.

Naphthalin zeigte in zahlreichen Mutagenitätstests an *Salmonella typhimurium* in den Stämmen TA97, TA98, TA100, TA1535, TA1537, TA1538, UTH8413 und UTH8414 bis zu zytotoxischen Konzentrationen keine genotoxischen oder mutagenen Effekte, weder in An- noch in Abwesenheit metabolischer Aktivierung (Bos et al. 1988; Connor et al. 1985; Florin et al. 1980; Gatehouse 1980; Ho et al. 1981; Kaden et al. 1979; McCann et al. 1975; Mortelmans et al. 1986; Narbonne et al. 1987; NTP 1992; Sakai et al. 1985; Schreiner 2003; Seixas et al. 1982). Allerdings können mit diesen Stämmen nur Basenveränderungen an Guanin oder Cytosin erkannt werden. Wenn ein mutagener Prozess über Veränderungen an Adenin oder Thymin verläuft, wird dieser hier nicht abgebildet werden. Um letzteres abzuklären, wäre der Einsatz von *Salmonella typhimurium* TA102, TA104 oder *E. coli* WP2 notwendig, welche auch für oxidative Schäden sensitiv sind.

Naphthalin war ebenfalls negativ im Test auf DNA-Reparatur- und Prophageninduktion oder im 8-Azaguanin-Resistenz-Test in *Salmonella typhimurium* und *E. coli* (Ho und Ho 1981; Mamber et al. 1983, 1984; Nakamura et al. 1987; Schreiner 2003). Ein positiver Mutagenitätstest mit *Salmonella typhimurium* TA1535 (Narbonne et al. 1987) ist bekannt, jedoch im Kontext der großen Anzahl an Mutagenitätstests mit *Salmonella typhimurium* mit negativem Befund als nicht ausschlaggebend zu bewerten.

Naphthalin induzierte einen konzentrationsabhängigen Anstieg an Schwesterchromatidaustauschen (SCE) in CHO-Zellen, sowohl mit als auch ohne Zusatz metabolischer Aktivierung aus Rattenleber. Es liegen nur ungenaue Angaben zur Zytotoxizität vor; die höchste Konzentration war limitiert durch Zytotoxizität. Eine Induktion von SCE wurde jedoch schon unterhalb der höchsten Konzentration beobachtet (NTP 1992).

In humanen Lymphozyten induzierte eine zweistündige Behandlung mit 100 µM Naphthalin keine SCE, weder in An- noch in Abwesenheit metabolischer Aktivierung durch humane Lebermikrosomen. In beiden Arbeiten wurde keine statistisch signifikante Zytotoxizität durch Naphthalin gemessen (Tingle et al. 1993; Wilson et al. 1995).

In Mäuse-Makrophagen (J774A.1) führte Naphthalin ab 200 μM zu erhöhten Werten reaktiver Sauerstoffspezies, DNA-Fragmentierung und gesteigerter Lipidperoxidation bei gleichzeitiger Zytotoxizität (Bagchi et al. 1998 b).

In Rattenhepatozyten führte die Behandlung mit 0–3 μM Naphthalin bis zu zytotoxischen Konzentrationen zu keiner erhöhten Rate an DNA-Strangbrüchen, gemessen mittels alkalischer Elution. Zytotoxizität wurde mittels Glutamat-Oxalacetat-Transaminase-Bestimmung und Trypanblau-Ausschluss evaluiert (Sina et al. 1983). Der erste Test wird aufgrund starker Schwankungen als nicht valide eingestuft.

Naphthalin induzierte in menschlichen Lymphozyten bei allen eingesetzten Konzentrationen von 10, 25, 50 oder 100 μM einen statistisch signifikanten Anstieg an DNA-Fragmenten im TUNEL-Test. Zytotoxische Effekte wurden mithilfe eines Laktase-Dehydrogenase- und eines Zellproliferations-Tests bestimmt (Kapuci et al. 2014). Die Ergebnisse weisen hohe Schwankungsbreiten mit gleichzeitiger Überlappung sowohl mit der Positiv- als auch der Negativkontrolle auf. Ebenfalls fehlen bei allen Tests Angaben zur Probenanzahl, weshalb dieser Test nicht für die Bewertung herangezogen wird.

In explantierten präparierten Geweben der Lungen von je sechs Mäusen und Ratten und zwei Rhesusaffen (k. w. A. zu Tierstämmen und Geschlecht) und nasalen Explantaten der Ratte wurde konzentrationsabhängig DNA-Bindung nach In-vitro-Behandlung mit 2,5; 25 oder 250 μM ^{14}C -Naphthalin gemessen (nach einem Berechnungsmodell (Morris 2013) entspricht die Konzentration von 250 μM einer inhalativen Exposition gegen 10 ml Naphthalin/ m^3). Die höchsten DNA-Bindungswerte (alle aus den abgebildeten Graphen geschätzt) wurden in der Lunge von Mäusen gefunden, gefolgt von Rhesusaffen. Im Vergleich zur Mäuselunge lag die in allen Rattengeweben gemessene DNA-Bindung etwa 60- bis 300-fach niedriger. Bei Ratten war keine Korrelation zwischen DNA-Bindung und Tumorzinzidenz erkennbar, da das Lungengewebe (Nicht-Zielorgan) etwa gleich viel oder mehr DNA-Bindung aufwies als das respiratorische Epithel (Zielorgan bei männlicher Ratte) und das olfaktorische Epithel (Zielorgan bei weiblicher Ratte) der Nase. Bei gleicher Konzentration war das Ausmaß der Naphthalin-DNA-Bindung ähnlich oder höher (bis ~10-fach) als das der Positivkontrolle BaP in beiden Nagerspezies. Statistische Signifikanz ist nicht angegeben (Buchholz 2016). Obwohl der Autor von „DNA-Addukten“ spricht, wurde in diesen Versuchen unverdaute DNA analysiert und die Art der DNA-Bindung nicht bestimmt. Da Angaben zur Berechnung fehlen, ist die Aussage „Adducts/DNA molecule“ nicht nachvollziehbar. Zusätzlich ist die Aussagekraft der gemessenen DNA-Bindung in Rhesusaffenlungen durch die begrenzte Anzahl an Tieren ($n = 2$) limitiert. Die Identifikation der DNA-Addukte mittels Flüssigchromatographie mit gekoppelter Massenspektrometrie bzw. Beschleuniger-Massenspektrometrie (LC-MS-AMS und LC-AMS) wurde angestrebt, jedoch nicht bewerkstelligt. Laut Autor bedarf es dazu weiterer Methodenentwicklung. Ebenfalls ist nicht angegeben, welche Proben hierfür eingesetzt wurden (Buchholz 2016). Allgemein lässt die sehr unvollständige Methodenbeschreibung eine genaue Evaluation der Studie nicht zu.

Dieselbe Arbeitsgruppe veröffentlichte später eine Untersuchung, in der sie die Naphthalin-DNA-Bindung in explantierten Lungen weiblicher und männlicher B6C3F1-Mäuse und Rhesusaffen und männlicher Sprague-Dawley-Ratten sowie im respiratorischen und olfaktorischen Epithel von männlichen Sprague-Dawley-Ratten bestimmten, welche ex vivo mit ^{14}C -Naphthalin für eine Stunde behandelt wurden. Inkubation mit 0, 25 oder 250 μM Naphthalin führte zu einem konzentrationsabhängigen Anstieg an DNA-Bindung in allen Rhesusaffenlungen. Bei Rhesusaffen und Mäusen waren geschlechtsspezifische Unterschiede erkennbar. Weibliche Mäuse (4,7-fach) und Rhesusaffen (2,1-fach) generierten statistisch signifikant höhere Naphthalin-DNA-Bindung verglichen mit ihren männlichen Artgenossen. Für männliche und weibliche Tiere zusammen ergaben sich die höchsten Werte an DNA-Bindung in der Lunge bei Rhesusaffen, gefolgt von Mäusen. Bei männlichen Ratten wurde eine sehr viel niedrigere DNA-Bindung sowohl in der Lunge, als auch im respiratorischem und olfaktorischem Epithel gemessen, welche nahe oder unter der Quantifizierungsgrenze lag und deren Werte nicht statistisch signifikant unterschiedlich voneinander waren (Carratt et al. 2019 a).

In einem weiteren Versuch wurde Radioaktivität auch nach enzymatischem Verdau der Rhesusaffen-DNA zu Desoxynukleosiden detektiert, was auf eine stabile DNA-Bindung hindeutet. In diesem Versuch induzierte 1,2-Naphthochinon in männlichen und weiblichen Rhesusaffen deutlich mehr DNA-Addukte verglichen mit Naphthalin (Carratt et al. 2019 a).

Die Studien zur DNA-Bindung von Buchholz (2016) und Carratt et al. (2019 a) zeigen in der Lunge (Nicht-Zielorgan) und dem Epithel der Nase (Zielorgan) bei der Ratte etwa ähnliche Werte an DNA-Bindung. In der Publikation von Carratt et al. (2019 a) lagen sowohl in der Lunge als auch in den nasalen Geweben die DNA-Bindungswerte nahe der Quantifizierungsgrenze. Das Ausmaß der DNA-Bindung bei den Spezies ist bei Buchholz (2016) Mäuse > Rhesusaffen >> Ratten und bei Carratt et al. (2019 a) Rhesusaffen > B6C3F1-Mäuse >> SD-Ratten. Da Buchholz (2016) keine Angaben zu den Nagerstämmen macht, ist diese Inkonsistenz nicht nachvollziehbar.

Um zu untersuchen, ob durch wiederholte In-vivo-Naphthalinexposition bei Mäusen eine Toleranz gegenüber in-vitro-induzierter Naphthalin-DNA-Bindung eintritt, wurden weibliche NIH-Swiss-Mäuse intraperitoneal mit 200 mg Naphthalin/kg KG (in 200 µl Maiskeimöl) sieben Tage lang behandelt. Kontrollen bekamen nur Maiskeimöl. Anschließend wurden die präparierten Atemwege ex vivo mit 250 µM ¹⁴C-Naphthalin behandelt und auf DNA-Bindung untersucht. Tendenziell führte die In-vivo-Vorbehandlung mit Naphthalin zu etwas niedrigerer DNA-Bindung, die Unterschiede waren jedoch nicht statistisch signifikant und es traten starke interindividuelle Schwankungen auf. Zytotoxizität wurde nicht untersucht (Buchholz et al. 2019). Auch in dieser Studie wurde unverdaute DNA analysiert und keine spezifischen Addukte charakterisiert.

Zytotoxizität wurde in den Versuchen von Buchholz (2016) und Buchholz et al. (2019) nicht untersucht. Carratt et al. (2019 a) beschreiben, dass in mehreren Proben nach Inkubation mit Naphthalin Zytotoxizität in Form einer Induktion permeabler Zellen (Ethidium-Heterodimer-1-Assay) detektiert wurde. Angaben zur eingesetzten Konzentration und Gewebeart sowie Anzahl der Proben und zur statistischen Signifikanz fehlen. Weiterhin wird auf eine ähnliche Studie an Atemwegsexplantaten verwiesen, welche nach der hier eingesetzten Methode gewonnen wurden (West et al. 2003). Danach induzierte Naphthalin in den Keulenzellen männlicher Swiss-Webster-Mäuse nach zweistündiger Inkubation mit 300 µM Naphthalin Zytotoxizität. Hingegen fand die Inkubation bei den DNA-Addukt-Studien für eine Stunde gegen bis zu 250 µM Naphthalin an Explantaten eines anderen Mausstammes statt. Die Studie von West et al. (2003) kann daher nicht direkt für eine Aussage zur Zytotoxizität herangezogen werden, so dass abschließend nicht eindeutig bewertet werden kann, ob die Entstehung der DNA-Addukte sekundär zur zytotoxischen Wirkung ist.

Naphthalin war in Konzentrationen bis 5000 µg/ml negativ in einem UDS-Test in kultivierten Hepatozyten einer männlichen F344-Ratte. Konzentrationen ab 50 µg/ml waren zytotoxisch (Schreiner 2003).

Nur in einer Zusammenfassung berichtet, war nach 24-stündiger Inkubation mit 0,16 mM Naphthalin die Inzidenz an Chromosomenaberrationen in kultivierten Mäuseembryonen (72 Stunden p. c.) im Vergleich zu Kontrollen 10-fach erhöht (30-fach mit metabolischer Aktivierung) und sank deutlich ab nach 48 Stunden. Es liegen keine Angaben zur Zytotoxizität vor (Gollahon et al. 1990).

Chromosomale Aberrationen wurden in CHO-Zellen nur unter Zusatz metabolischer Aktivierung durch Naphthalin induziert (NTP 1992). Es werden sowohl spezifische (Chromosomenbrüche) wie auch unspezifische (pulverisierte Zellen) Läsionen summiert betrachtet, weshalb der Test nicht für eine Bewertung herangezogen wird.

In einer Studie wurden verschiedene Modelle benutzt, um eine NOEC und einen Point of Departure (PoD) für Naphthalin-induzierte Mikronuklei zu definieren. Dafür wurden humane TK6-Lymphoblasten mit Naphthalin in einem Konzentrationsbereich von 0,0625–30 µM unter Zusatz von metabolischer Aktivierung behandelt. Gemessen mittels Durchflusszytometrie führte die Behandlung mit Naphthalin zu einem konzentrationsabhängigen nichtlinearen Anstieg der Zytotoxizität und Mikronuklei und die daraus errechneten NOEC und PoD lagen im Bereich von 2,5–10 µM, je nach Berechnungsansatz. Wurde mindestens eine Verdopplung der Mikronuklei gegenüber der Lösungsmittelkontrolle als Ausschlusskriterium gesetzt, ergab sich eine NOEC von 10 µM, statistische Berechnung mittels einfaktorieller ANOVA und Bonferroni-Korrektur ergab eine NOEC von 2,5 µM und eine BMCL₁₀ von 3,34 µM leitete sich aus dem Benchmark-Verfahren (10 % Änderung) ab. Die Werte aus dem Niedrigkonzentrationsbereich (0,0625 und 0,125 µM) stammten jedoch nur aus einer Einfachmessung mit einem Triplikat. Die Zellviabilität lag bei Konzentrationen ≤ 20 µM Naphthalin bei mindestens 80 % und wurde durch Inkubation mit 30 µM Naphthalin auf etwa 40 % reduziert. Einhergehend mit dem starken Abfall an Zellviabilität stieg auch die Rate an Mikronuklei exponentiell an. Durch Zugabe von 5 mM GSH, was etwa der physiologischen Konzentration beim Menschen in der Leber (~5–10 mM) entspricht (Klaassen 2007, S. 168), wurden zytotoxische und genotoxische Effekte der Naphthalin-Inkubation, sogar bis

zu höheren Konzentrationen von 500 μM , vollständig eliminiert. Auch die zytotoxischen und genotoxischen Effekte der Positivkontrolle Cyclophosphamid, dessen Detoxifizierung ebenfalls über GSH verläuft (Hajdinák et al. 2020), wurden durch die Zugabe von GSH eliminiert (Recio et al. 2012). Eine Abschätzung der Relevanz dieser Ergebnisse für physiologische Bedingungen beim Menschen ist deshalb nicht möglich.

In metabolisch kompetenten (CYP1A1, 1A2, 2A3, 2E1, 3A4 und Epoxid-Hydrolase) menschlichen MCL-5-Lymphoblasten induzierte Naphthalin CREST-negative, aber keine CREST-positiven Mikronuklei und ebenfalls keine Mutationen am *TK*- oder *HPRT*-Genlocus. Die eingesetzten Konzentrationen reduzierten die Zellviabilität um bis zu 60 % im Mutationstest (40 $\mu\text{g}/\text{ml}$) und um bis zu 30 % im Mikronukleustest (30 $\mu\text{g}/\text{ml}$). BaP führte als Positivkontrolle zu erhöhten Mutationsraten in den *TK*- und *HPRT*-Genen, war jedoch negativ im Mikronukleustest (Sasaki et al. 1997).

Tab. 2 In-vitro-Studien zur Genotoxizität von Naphthalin

Endpunkt (Testmethode)	Testsystem	Konzentration	wirksame Konzentration	Zytotoxizität/ Anmerkungen	Ergebnis		Literatur
					-m. A.	+m. A.	
Prophagen- Induktion	E. coli GY5027 envA ⁻ uvrB ⁻ (λ); GY4015 <i>amp</i> ^R	0–2000 $\mu\text{g}/\text{Platte}$	–	k. A.	n. u.	–	Mamber et al. 1984
	E. coli K12 envA ⁻ uvrB ⁻ ($\lambda\text{c}/\text{ts857}$) ^{a)}	0–0,5 mg/ml	–	k. A.	–	–	Ho und Ho 1981
differentielle Abtötung (Rec-Assay)	E. coli WP2/WP100 uvr ⁻ recA ⁻	$\leq 2000 \mu\text{g}/\text{Platte}$	–		n. u.	–	Mamber et al. 1983, 1984
SOS-Antwort (Chromo-Test)	E. coli WP2/WP3478 (polA ⁻), E. coli WP2/WP67 (uvrA ⁻ , polA ⁻)	k. A.	–	k. A.	–	–	Mamber et al. 1983
	E. coli PQ37	0; 0,156–10 $\mu\text{g}/\text{Test}$	–	k. A.	–	–	Schreiner 2003
SOS-Antwort (umu-Test)	S. typhimurium TA1535 (pSK1002)	0– 83 $\mu\text{g}/\text{ml}$	–	k. A.	–	–	Nakamura et al. 1987
Genmutation	S. typhimurium TA98, TA100, TA1535, TA1537	0–100 $\mu\text{g}/\text{Platte}$	–	k. A.	–	–	McCann et al. 1975
	S. typhimurium TA98, TA100, TA1535, TA1537 ^{b)}	0; 0,3–100 $\mu\text{g}/\text{Platte}$	–	100 $\mu\text{g}/\text{Platte}$	–	–	Mortelmans et al. 1986; NTP 1992
	S. typhimurium TA98	0; 0,1–0,5 mg/Platte	–	k. A.	n. u.	–	Ho et al. 1981
	S. typhimurium TA1537, TA1538	0, 10–200 $\mu\text{g}/\text{ml}$	–	$\geq 150 \mu\text{g}/\text{ml}$	n. u.	–	Gatehouse 1980
	S. typhimurium TA98, TA100, TA1535, TA1537	0; 0,03–30 $\mu\text{mol}/\text{Platte}$	–	$\geq 3 \mu\text{mol}/\text{Platte}$	–	–	Florin et al. 1980
	S. typhimurium TA98, TA100, UTH8413, UTH8414	0, 50–2000 $\mu\text{g}/\text{Platte}$	–	2000 $\mu\text{g}/\text{Platte}$	–	–	Connor et al. 1985
	S. typhimurium TA98, TA100	k. A.	–	k. A.;	–	–	Bos et al. 1988
					Taped-plate Test für leicht flüchtige Substanzen u. konventioneller Plattentest		

Tab. 2 (Fortsetzung)

Endpunkt (Testmethode)	Testsystem	Konzentration	wirksame Konzentration	Zytotoxizität/ Anmerkungen	Ergebnis		Literatur
					-m. A.	+m. A.	
	S. typhimurium TA97, TA98, TA100	0, 5–250 µg/Platte	–	250 µg/Platte	–	–	Sakai et al. 1985
	S. typhimurium TM677 (8-Azaguanin- resistent)	0–2 mM (k. w. A.)	–	k. A.	–	–	Kaden et al. 1979
	S. typhimurium TA98, TA100, TA1535, TA1537, TA1538	0, 3–300 µg/Platte	–	300 µg/Platte	–	–	Schreiner 2003
	S. typhimurium TA98, TA1535	0, 5–1000 µg/Platte	TA1535: 5, 10 µg/Platte	k. A.; keine Konzentrations- Wirkungs-Beziehung	n. u.	(+)	Narbonne et al. 1987
	S. typhimurium TA1537	0–1,6 mM (200 µg/Platte)	–	90 % Zytotoxizität bei 1,6 mM	–	–	Seixas et al. 1982
SCE	CHO	0; 2,7–90 µg/ml	–m. A.: ≥ 27 µg/ml, +m. A.: ≥ 15 µg/ml	k. A.	+	+	NTP 1992
	humane Lymphozyten (♂)	0, 100 µM (12,8 µg/ml)	–	– (MI und PI); m. A.: humane Lebermikrosomen	–	–	Tingle et al. 1993
	humane Lymphozyten (♂)	0, 100 µM (12,8 µg/ml)	–	– (MI und PI); m. A.: humane Lebermikrosomen	–	–	Wilson et al. 1995
DNA- Strangbrüche	kultivierte Mäuse- Makrophagenzellen (J774A.1)	0–500 µM	≥ 200 µM	≥ 200 µM, gemessen mittels Trypanblau; ebenfalls Lipidperoxidation und ROS-Bildung	+	n. u.	Bagchi et al. 1998 b
	Rattenhepatozyten (alkalische Elution)	0; 0,03; 0,3; 3 µM	–	0,03 µM: 3%; 0,3 µM: 22%; 3 µM: 100 % gemessen mittels Trypanblau; der Zytotox.- Test mittels Glutamat- Oxalacetat-Transaminase wird als nicht valide bewertet	–	n. u.	Sina et al. 1983
	humane Lymphozyten (TUNEL)	0, 10–250 µM	≥ 10 µM	0%; starke Mängel s. Text	+	n. u.	Kapuci et al. 2014
DNA-Bindung	explantierte Gewebe der Lunge von Mäusen (je 6), Ratten (je 6), Rhesusaffen (je 2) und des OE und RE von Ratten (je 6) k. A. zu Stämmen und Geschlecht	Maus: 2,5; 25; 250 µM (0,32; 3,2; 32 µg/ml); Ratte: 2,5; 250 µM; Rhesusaffe: 25; 250 µM; 1 h	≥ 2,5 µM	k. A.; DNA-Bindung ↑ konzabh.; bei 250 µM: Maus > Rhesusaffe >> Ratte	+	n. u.	Buchholz 2016

Tab. 2 (Fortsetzung)

Endpunkt (Testmethode)	Testsystem	Konzentration	wirksame Konzentration	Zytotoxizität/ Anmerkungen	Ergebnis		Literatur
					-m. A.	+m. A.	
	explantierte Gewebe der Lunge (B6C3F1-Mäuse (♂/♀); Sprague- Dawley-Ratten (♂); Rhesusaffen (♂/♀))	25; 250 µM (3,2; 32 µg/ml); 1 h	≥ 25 µM	Zellpermeabilität ↑ (k. A. zu Konz.) (Ethidium- Homodimer-1-Assay); DNA-Bindung ↑ konz. abh.; bei 250 µM: Rhesusaffe > Maus >> Ratte für Rhesusaffen Bindung an Desoxynukleoside gezeigt	+	n. u. (♀ > ♂)	Carratt et al. 2019 a
DNA-Bindung (Toleranz)	Mäuse (NIH-Swiss, ♀)	± Vorbehandlung in vivo: 0, 200 mg NA/kg KG u. Tag, 7 d, i.p., in vitro: 250 µM ¹⁴ C- NA	siehe Text u. Anmerkungen	k. A.; DNA-Bindung von ¹⁴ C-markiertem NA ± Vorbehandlung gleich	+	n. u.	Buchholz et al. 2019
UDS	kultivierte Rattenhepatozyten	0; 0,16–5000 µg/ml	–	stark zytotoxisch ab 50 µg/ ml	–	n. u.	Schreiner 2003
CA	kultivierte Mäuseembryonen (ICR)	0; 0,16 mM (20 µg/ml)	0,16 mM	k. A.	+	+	Gollahon et al. 1990
	CHO	–m. A.: 0, 15–75 µg/ml, +m. A.: 0, 30–67,5 µg/ml	+S9: ≥ 30 µg/ml	≥ 90 µg/ml; pulverisierte Zellen mitgezählt	–	+	NTP 1992
MN	kultivierte humane Lymphoblasten (MCL-5)	0–30 µg/ml (0–0,23 mM) (k. w. A.)	30 µg/ml	30 %;	+ ^{c)}	n. u.	Sasaki et al. 1997
	kultivierte humane Lymphoblasten (TK6)	0; 0,0625; 0,125; 0,25; 0,5; 1; 2,5; 5; 10; 20; 30 µM (0–3,8 µg/ml)	≥ 5 µM (0,64 µg/ml)	bei 5 µM: 0 %; bis 20 µM: ≤ 20 %; bei 30 µM: 60 %	n. u.	+	Recio et al. 2012
Genmutation HPRT	kultivierte humane Lymphoblasten (MCL-5)	0–40 µg/ml (k. w. A.)	–	60 %	–	n. u.	Sasaki et al. 1997
TK [±] -Muta- tionstest	kultivierte humane Lymphoblasten (MCL-5)	0–40 µg/ml (k. w. A.)	–	60 %	–	n. u.	Sasaki et al. 1997

^{a)} Präinkubation von Naphthalin mit S9-Mix (ohne Bakterien)

^{b)} Flüssiginkubations-Test: Präinkubation von Naphthalin, S9-Mix und Bakterien

^{c)} positiv für CREST⁻, negativ für CREST⁺

CA: Chromosomenaberrationen; ind.: induziert; konzabh.: konzentrationsabhängig; MI: Mitotischer Index; MN: Mikronuklei; NA: Naphthalin; n. u.: nicht untersucht; OE: olfaktorisches Epithel; PI: Proliferationsindex; RE: respiratorisches Epithel; ROS: reaktive Sauerstoffspezies; SCE: Schwesterchromatidaustausch; UDS: DNA-Reparatursynthese

5.6.2 In vivo

Die Daten aus den In-vivo-Versuchen zur Genotoxizität sind in [Tabelle 3](#) zusammengefasst.

Die Behandlung mit Naphthalin in Konzentrationen von 1, 5 oder 10 mM erhöhte die Rate somatischer Mutationen und Rekombinationen in einem Flügelmosaik-Test (SMART) in *Drosophila melanogaster*. Bezüglich Mutationen in zwei Markergenen (*flr3* und *mwh*) zeigte die Standard-Kreuzung (ST) eine niedrigere Mutationsrate verglichen mit einer metabolisch kompetenteren Kreuzung (HB; Oregon-flare), welche Cyp6a2, 6a8 und 6a9 konstitutiv hoch exprimiert. Jedoch wurde bei allen Versuchen mit ST und bei einer Konzentration (10 mM) mit HB die Mindestanzahl an Fliegen (55) für eine Signifikanzberechnung unterschritten (Delgado-Rodriguez et al. 1995).

Zwei orale Dosen Naphthalin in Höhe von 359 mg/kg KG, 21 und vier Stunden vor der Tötung verabreicht, verursachten keine hepatischen DNA-Strangbrüche bei weiblichen Sprague-Dawley-Ratten, bestimmt mittels alkalischer Elution. Die Zytotoxizität, gemessen als ALT, war nicht erhöht (Kitchin et al. 1992).

Die einmalige orale Verabreichung von 1100 mg Naphthalin/kg KG führte bei Untersuchung nach 12–72 Stunden in Leber und Gehirn weiblicher Sprague-Dawley-Ratten und C57BL/6NTac-Mäuse zu vermehrter Lipidperoxidation und DNA-Strangbrüchen. Nach 24 Stunden wurde die maximale GSH-Depletion in Leber und Gehirn erreicht und betrug 51 bzw. 17 % der Kontrollwerte. Die Autoren führen die Befunde auf oxidativen Stress zurück (Vuchetich et al. 1996). Unter denselben Versuchsbedingungen führte der Verlust des Tumorsuppressorgens *Trp53* zu einer gesteigerten Schadensantwort in C57BL/6-Mäusen (Bagchi et al. 2000).

Auch die 120 Tage lange orale Gabe von 110 mg Naphthalin/kg KG und Tag induzierte DNA-Fragmentation in Leber und Gehirn weiblicher Sprague-Dawley-Ratten (Bagchi et al. 1998 a).

Die einmalige intraperitoneale Gabe von 200 mg Naphthalin/kg KG und Untersuchungen nach 12, 24, 48 oder 72 Stunden zeigten eine erhöhte DNA-Doppelstrangbruchrate (DSB), gemessen als phosphoryliertes γ H2AX, im Lungengewebe von jeweils zwei männlichen C57BL6-Mäusen pro Dosisgruppe. Die Werte an γ H2AX-Foci/Zelle stiegen bis zu einem Maximum 48 Stunden nach der Injektion an und sanken 72 Stunden danach wieder ab. Im Vergleich zur Kontrolle wurde 24 und 48 Stunden nach der Injektion eine statistisch signifikant höhere DSB gemessen. Als weitere Parameter wurden eine erhöhte Zellzahl in der BALF, beeinträchtigte Lungenfunktion und histopathologisch eine Schädigung des Lungenepithels detektiert. Die maximale Schädigung am Lungenepithel wurde nach zwölf Stunden beobachtet und sank danach wieder ab, ging also der DNA-Schädigung vorher (Karagiannis et al. 2012). γ H2AX ist jedoch kein spezifischer Marker für Substanz-induzierte DSB, sondern kann zum Beispiel auch auf einen apoptotischen Abbau zurückgeführt werden (Cleaver et al. 2011; Luczak und Zhitkovich 2018). Gleichzeitig ist die Aussagekraft der Studie durch die geringe Tierzahl ($n = 2$) limitiert.

Die lokale Behandlung der Haut von je mindestens acht weiblichen Sencar-Mäusen mit 500 (64,08 μ g) oder 1200 nmol (153,8 μ g) Naphthalin in Aceton, vier Stunden lang, führte zur Bildung von DNA-Addukten. Die depurinierenden Adenin- und Guanin-Naphthalin-DNA-Addukte (1,2-Dihydroxynaphthalin-4-N3Ade und 1,2-Dihydroxynaphthalin-4-N7Gua) wurden mit UPLC-MS/MS analysiert und stiegen dosisabhängig von 0,1 (500 nmol) bis 0,51 μ mol/mol DNA-P (1200 nmol) an, wobei das Adenin-Addukt stets den größeren Anteil ausmachte. Die Bildung stabiler DNA-Addukte, gemessen mittels 32 P-Postlabeling, betrug, unabhängig von der gegebenen Dosis, etwa 0,2 μ mol/mol DNA-P. Die Struktur der mittels 32 P-Postlabeling detektierten DNA-Addukte wurde nicht weiter aufgeklärt. Als Positivkontrollen wurden Nukleosid-3-Monophosphate entweder mit Naphthalin und CYP1A1 als metabolisierendem System (+NADPH) oder mit 1,2-Naphthochinon inkubiert. Beide Stoffe führten zu unterschiedlichen Addukten, welche auch in vivo auftreten. Auch die dermale Applikation von je 500 nmol 1-Naphthol, 1,2-Dihydrodiolnaphthalin, 1,2-Dihydroxynaphthalin und 1,2-Naphthochinon führte zu ähnlich hoher Adduktbildung insgesamt, jedoch wurden nicht alle DNA-Addukte beobachtet, welche in vitro und in vivo durch Naphthalin verursacht wurden. Die mit Naphthalin gefundenen DNA-Addukte wurden demnach auch über andere als 1,2-oxidierte Naphthalin-Metaboliten gebildet (Saeed et al. 2009). Bei allen In-vivo-Postlabeling-Proben im Versuch von Saeed et al. (2009) ist der größte Anteil an Radioaktivität in einem Spot zu finden, der mit Abstand die größte Molmasse aufweist. Die Autoren diskutieren, dass dieser auf unverdaute DNA hindeutet. Die tatsächlichen DNA-Adduktwerte könnten daher noch höher liegen. Die in In-vitro- und In-vivo-Studien mit Naphthalin detektierten Lipidperoxidationsprodukte (Bagchi et al. 1998 a, b, 2000) könnten ebenfalls zur Bildung von DNA-Addukten führen, welche durch eine hohe Molmasse gekennzeichnet wären (Hartwig et al. 2020; Martinez et al. 2003). Da keine validen Kanzerogenitätsstudien mit dermaler Gabe von Naphthalin an Mäusen vorliegen (siehe Abschnitt 5.7), kann keine Aussage über die mögliche Kanzerogenität der gefundenen Läsionen getroffen werden. Die dermale Applikation des Metaboliten 1,4-Naphthochinon führte zur Bildung von Papillomen bei Mäusen (Fowler et al. 2018). Nach inhalativer und intraperitonealer Gabe ist bei der Maus die Lunge das Zielorgan der Toxizität. Eine eventuelle DNA-Adduktbildung in der Lunge könnte wesentlich anders verlaufen.

In der Untersuchung an Sencar-Mäusen wurde eine Bindung von Naphthalinmetaboliten (1,2-Naphthochinon) an die DNA und die Bildung von instabilen Purinbasen-Addukten in der Haut gezeigt. Dies belegt nicht, dass derartige

Reaktionen auch in den Zielzellen stattfinden und dort Mutationen verursachen. Es wurde an der Haut von Mäusen keine Zytotoxizität bestimmt. Somit ist das Ergebnis kein Beleg für eine DNA-Adduktbildung im subtoxischen Bereich (Bailey et al. 2016; siehe auch [Abschnitt 2](#)).

Tab. 3 In-vivo-Studien zur Genotoxizität von Naphthalin

Testsystem	Exposition	Ergebnis	Zytotoxizität/Anmerkungen	Literatur	
Somatische Mutationen und Rekombinationen (SMART)	Drosophila melanogaster (ST und HB) ^{a)} mwh, flr	0, 1, 5, 10 mM im Futter (Medium), 48 h	+	ST: ≤ 52 Flügel gezählt/Konz. HB: 10 mM: 58 Flügel gezählt; Vehikel: 5 % Tween-80, 5 % EtOH	Delgado-Rodriguez et al. 1995
DNA-Schäden (alkalische Elution), Leber	Ratte, Sprague Dawley, 7 ♀	0, 2 × 359 mg/kg KG, Schlundsonde, 4 oder 21 h	-	Zytotox.: – gemessen als ALT; letal für 1/7 Tieren; ODC induziert	Kitchin et al. 1992
DNA-SSB (alkalische Elution), Leber, Gehirn	Ratte, Sprague Dawley, 4–6 ♀	0, 1 × 1100 mg/kg KG, Schlundsonde, 12, 24, 48 oder 72 h	+	1100 mg/kg KG: ~50 % LD ₅₀	Vuchetich et al. 1996
DNA-Fragmentation (spektrophotometrisch), Leber, Gehirn	Ratte, Sprague Dawley, 4–6 ♀	0, 15, 30, 45, 60, 75, 90, 105, 120 d, 110 mg/kg KG u. Tag, Schlundsonde	+	110 mg/kg KG: 0,05 LD ₅₀	Bagchi et al. 1998 a
DNA-Fragmentation (spektrophotometrisch), Leber, Gehirn	Maus, <i>Trp53</i> (+/+); C57BL/6NTac, <i>Trp53</i> (-/-); C57BL/6TSG-p53, 4 ♀	0, 1 × 1100 mg/kg KG, Schlundsonde, 12, 24, 48 oder 72 h	+	mit Lipidperoxidation und GSH-Depletion einhergehend; <i>Trp53</i> (-/-) > <i>Trp53</i> (+/+)	Bagchi et al. 2000
DNA-DSB (γ H2AX), Lunge	Maus, C57BL6, 2 ♂	0, 1 × 200 mg/kg KG, i.p., 12, 24, 48 oder 72 h	+	Histopathologische Epithelschäden ab 12 h, DNA-SSB ab 24 h erkennbar	Karagiannis et al. 2012
DNA-Bindung (DNA-Addukte, ³² P-Postlabeling und UPLC-MS/MS), Haut	Maus, SENCAR, je ≥ 8 ♀	0, 1 × 500 oder 1200 nmol (64 oder 153,8 μ g), dermal, 4 h	+	Vehikel: Aceton	Saeed et al. 2009
UDS, Leber	Ratte, Sprague Dawley, 3 ♂	0, 1 × 600, 1000 oder 1600 mg/kg KG, Schlundsonde, 2 oder 14 h	-		Greim 1995
MN, Knochenmark	Maus, ICR Swiss, ≥ 5 ♂	0, 1 × 50, 250, 500 oder 1500 mg/kg KG, Schlundsonde, 24 h	-	1000 PCE analysiert; Zytotox. n. u.; 1500 mg/kg KG: LD ₁₀₀	Greim 1995
MN, Erythrozyten, Knochenmark	Maus, CD-1, 5 ♀, 5 ♂	0, 1 × 250 mg/kg KG, i.p., 30, 48 oder 72 h	-	> 250 mg/kg KG: letal; 1000 Ery analysiert; PCE/NCE sign. ↓ nach 72 h	Schreiner 2003
Genmutation (Tp53), nasales Epithel	Ratte, F344, 5 ♀, 5 ♂	13 Wo, 0; 0,1; 1; 10 oder 30 ml NA-Dampf/m ³ , 6 h/d, 5 d/Wo, inhal.	- (♀, ♂)	♂: 30 ml/m ³ : sign. ↓ Mutationsrate	Meng et al. 2011

^{a)} ST und HB: „Standard“-Kreuzung und Kreuzung mit „hoher Bioaktivierungskapazität“, siehe Text

ALT: Alanin-Aminotransferase; DMSO: Dimethylsulfoxid; DNA-DSB: DNA-Doppelstrangbrüche; DNA-SSB: DNA-Einzelstrangbrüche; Ery: Erythroblasten; EtOH: Ethanol; inhal.: inhalativ; i.p.: intraperitoneal; MN: Mikronuklei; NA: Naphthalin; NCE: normochromatische Erythroblasten; n. u.: nicht untersucht; ODC: Ornithindecarboxylase; PCE: polychromatische Erythroblasten; UDS: DNA-Reparatursynthese; UPLC-MS/MS: Ultra Performance Flüssigkeitschromatographie gekoppelt mit Massenspektrometrie

Naphthalin war negativ in einem UDS-Test in Hepatozyten von jeweils drei männlichen Sprague-Dawley-Ratten pro Dosisgruppe, die einmalig oral mit 0, 600, 1000 oder 1600 mg/kg KG behandelt und zwei oder 14 Stunden nach Behandlung untersucht wurden. Zytotoxische Effekte wurden bis 1600 mg/kg KG nicht beobachtet (k. w. A.). Die

Positivkontrollen erzielten die erwarteten Ergebnisse und das der Vehikel-Kontrolle befand sich im Bereich der historischen Kontrolle (Greim 2001).

Naphthalin war ebenfalls negativ in einem Mikronukleustest im Knochenmark von jeweils fünf männlichen ICR-Swiss-Mäusen, denen einmalig oral 0, 50, 250, 500 oder 1500 mg/kg KG in Olivenöl verabreicht wurden. Die Untersuchung fand 24 Stunden nach der Substanzgabe statt. Die Zytotoxizität wurde nicht analysiert (Greim 1995). Es ist somit keine Aussage möglich, ob die Substanz das Zielgewebe erreicht hat.

In einem nach der damaligen OECD-Prüfrichtlinie 474 (1981) durchgeführten Mikronukleustest an CD-1-Mäusen, die einmalig intraperitoneal mit 0 oder 250 mg Naphthalin in Maiskeimöl/kg KG behandelt wurden, ergab sich in Erythroblasten im Knochenmark ebenfalls keine erhöhte Häufigkeit an Mikronuklei. Es wurden jeweils fünf männliche und weibliche Tiere pro Expositionsdauer eingesetzt und Untersuchungen 30, 48 oder 72 Stunden nach der Gabe durchgeführt. Die Kontrolltiere wurden nur nach 48 Stunden untersucht. Das polychromatische/normochromatische Erythroblasten-Verhältnis war nach 72 Stunden statistisch signifikant ($p = 0,05$) reduziert. Bei manchen Tieren wurden abnehmende Körperspannung und Aktivität, abnormaler Gang und Tränenfluss festgestellt (Schreiner 2003).

Um den Mechanismus der Naphthalin-induzierten Kanzerogenese im nasalen Gewebe zu untersuchen, wurden weibliche und männliche F344-Ratten (je 5/Gruppe) inhalativ gegen 0; 0,1; 1,0; 10 oder 30 ml Naphthalin-Dampf/m³ 90 Tage lang, sechs Stunden pro Tag an fünf Tagen pro Woche exponiert. Analysiert wurden CGT zu CAT-Punktmutationen im *Tp53*-Codon 271, welches dem humanen *TP53*-Hotspot-Codon 273 entspricht. Bei weiblichen Ratten war keine statistisch signifikante Wirkung feststellbar. Bei männlichen Ratten war die Mutationsrate im respiratorischen und olfaktorischen Epithel bei 30 ml/m³ gegenüber der Kontrolle statistisch signifikant vermindert. Allgemein wurde bei männlichen Ratten mit steigender Konzentration eine Abnahme der spontanen *Tp53*-Mutationsrate im respiratorischen Epithel festgestellt, was die Autoren mit steigender Zytotoxizität erklärten. Die Zytotoxizität war ab 1 ml/m³ als leichte Hyperplasie des respiratorischen und Übergangsepithels erkennbar und stieg konzentrationsabhängig bei 10 und 30 ml/m³ an (Meng et al. 2011). Die untersuchte Basenpaarveränderung von CGT zu CAT würde jedoch weder durch einen ROS-induzierten noch über einen Wirkungsmechanismus via DNA-Adduktbildung analog zu PAK als primäres Mutationsmuster erwartet werden (Kucab et al. 2019; Sanger Institute 2020), weshalb aus diesem negativen Ergebnis nicht auf fehlende Mutagenität des Stoffes geschlossen werden kann.

5.6.3 Metaboliten

In vitro war **1,4-Naphthochinon** nicht mutagen in *S. typhimurium* TA97, TA98, TA100, TA1535, TA1537 und TA1538 und im für Oxidationsschäden sensitiven *E. coli*-Stamm WP2uvrA pKM101, jedoch mutagen in einem Test mit den *Salmonella*-Stämmen TA100, TA104 und TA2637. 1,4-Naphthochinon war ebenfalls positiv in einem Test mit *E. coli* IC203. Dieser Stamm wurde aus WP2uvrA pKM101 generiert und ist defizient für durch oxidativen Stress induzierte Synthese von antioxidativen Enzymen wie Katalase-Peroxidase und GSH-Reduktase (Fowler et al. 2018).

In Hefen wurden Mutationen nur bei starker Zytotoxizität (~5 % Viabilität) induziert (Fowler et al. 2018).

Hinweise auf eine klastogene Wirkung von 1,4-Naphthochinon wurden in Tests auf SCE, DNA-Strangbrüche und oxidative Basenschäden (Comet-Assay), chromosomale Aberrationen und Mikronuklei (CREST⁻) gesehen, jedoch induzierte der Stoff auch CREST⁺-Mikronuklei. 1,4-Naphthochinon wirkte nicht mutagen am *HPRT*- und *TK*-Lokus (Fowler et al. 2018).

In vivo zeigte die Behandlung mit 1,4-Naphthochinon keinen Einfluss auf die Bildung von chromosomalen Aberrationen oder Mikronuklei in Mäusen oder Hamstern. Mechanistische Untersuchungen deuten darauf hin, dass die Klastogenität in vitro auf ROS-Produktion zurückzuführen ist, welche in vivo kompensiert werden kann. Jedoch liegen auch Hinweise für eine hemmende Wirkung auf die Topoisomerase II in vitro vor (Fowler et al. 2018).

1,2-Naphthochinon war mutagen in *S. typhimurium* TA97, TA100, TA102, TA104 und TA2637 (Flowers-Geary et al. 1996; Hakura et al. 1994). Unter Redox-Cycling-Bedingungen, hervorgerufen durch CuCl₂, wurde in einem Mutagenitätstest mit Hefezellen eine stark mutagene Wirkung von 1,2-Naphthochinon auf das Tumorsuppressorgen p53 nachgewiesen, während mit 1,2-Naphthochinon allein keine mutagene Wirkung auftrat (Yu et al. 2002 a).

In vitro induzierte 1,2-Naphthochinon SCE in humanen Lymphozyten und γ H2AX-Foci in BEAS-2B Zellen (Gurbani et al. 2012; Wilson et al. 1996). DNA-Schäden (Comet-Assay) in MCF7-Zellen wurden bei nicht-zytotoxischen Konzentrationen gemessen, welche gleichzeitig zu ROS-Induktion und GSH-Depletion führten (Lin et al. 2007). DNA-Addukte wurden in vitro in Lungenexplantaten von Rhesusaffen (Carratt et al. 2019 a) und in vivo nach dermalen Applikation detektiert (Saeed et al. 2009).

1- und 2-Naphthol waren negativ in Mutagenitätstests mit verschiedenen Salmonella- und E. coli-Stämmen. 1-Naphthol war positiv im Test auf differentielle Abtötung in Salmonella- und Bacillus-Stämmen, jedoch negativ im UDS-Test mit Rattenhepatozyten und induzierte keine Mutationen im TK^{+/-}-Test mit L5178Y-Mauslymphomzellen. 1-Naphthol zeigte ebenfalls keine mutagene Wirkung im SLRL-Keimzelltest mit *D. melanogaster* und keine Genotoxizität im Mikronukleus-Test im Knochenmark von Mäusen oder Ratten (zusammengefasst in NTP 1992).

Die Untersuchungen von zytotoxischen und genotoxischen Effekten (TUNEL-Test) von 1- und 2-Naphthol in menschlichen Lymphozyten (Kapuci et al. 2014) werden aufgrund unklarer Angaben in der Versuchsdurchführung (Probenanzahl) und ungenügender Sensitivität der Versuche (starke Schwankung der Ergebnisse mit Überlappung sowohl mit der Positiv- als auch der Negativkontrolle) oder ungenügender Versuchsanordnung (Fehlen von Positivkontrolle, keine Angabe der Standardabweichung) als nicht bewertungsrelevant eingestuft.

5.6.4 Fazit

In den vorliegenden In-vitro-Studien wirkte Naphthalin bei zytotoxischen Konzentrationen nicht mutagen in Bakterien und humanen Lymphoblasten. Es fehlen jedoch Studien an Bakterienstämmen, welche sensitiv für oxidative Schäden sind, und aussagekräftige Mutagenitätstests mit Zielzellen/-geweben der Kanzerogenität in vitro wie in vivo.

Verschiedene Indikatortests in Säugerzellen zeigten in vitro eine genotoxische Wirkung auf (SCE, UDS, DNA-Strangbrüche), welche jedoch mit Zytotoxizität und teilweise mit oxidativen Prozessen (Lipidperoxidation) einhergeht. Auch die nach oraler Gabe bei Mäusen und Ratten induzierten DNA-Strangbrüche in Leber und Gehirn traten gleichzeitig mit vermehrter Lipidperoxidation und GSH-Depletion auf. DNA-Strangbrüche in Form von γ H2AX-Foci wurden auch nach intraperitonealer Gabe bei Mäusen in der Lunge nachgewiesen, wobei histopathologische Schäden am Lungenepithel zeitlich vor dem Auftreten der Foci beobachtet wurden. Ein UDS-Test an der Leber von Ratten verlief negativ.

Naphthalin induzierte in humanen Lymphoblasten in vitro auch bei nicht-zytotoxischen Konzentrationen Mikronuklei. Tests am Knochenmark von Mäusen nach oraler wie auch intraperitonealer Gabe in vivo verliefen bis zu zytotoxischen Konzentrationen negativ.

In drei Ex-vivo-Untersuchungen wurde DNA-Bindung in Lungenexplantaten von Maus und Affe beobachtet. Für Rhesusaffenexplantate wurde zusätzlich eine stabile kovalente Bindung an Desoxynukleoside gezeigt. Im Vergleich dazu war die DNA-Bindung bei Ratten sehr viel geringer und ähnlich hoch in Explantaten von Lunge und Nase, korrelierte somit nicht mit der Tumorzinzidenz. Nach dermalen Applikation wurden in Mäusehaut ebenfalls DNA-Addukte, u. a. 1,2-Dihydroxynaphthalin-Addukte an Adenin und Guanin, detektiert. Auch wenn das Ausmaß der DNA-Bindung in Explantaten bei der Ratte nicht mit dem Auftreten von Tumoren korrelierte, kann aufgrund fehlender aussagekräftiger Mutagenitätstests im Zielgewebe der Kanzerogenität beim Nager und der sehr limitierten Studienlage bei Primaten eine mutagene Wirkung der detektierten DNA-Bindung nicht ausgeschlossen und keine mögliche Effektschwelle für mutagene Wirkungen bestimmt werden. Ebenso verhält es sich mit den beobachteten spezifischen DNA-Addukten in Mäusehaut, da aussagekräftige Kanzerogenitätsstudien mit dermalen Applikation fehlen. Eine primäre genotoxische Wirkung von Naphthalin kann daher zurzeit nicht ausgeschlossen werden.

5.7 Kanzerogenität

Es liegen keine neuen Kanzerogenitätsstudien am Tier vor. Alle in den bisherigen Bewertungen (Greim 1995, 2001) dargestellten Studien werden nochmals aufgeführt.

5.7.1 Kurzzeitstudien

In In-vitro-Studien mit humanen Zellen, Maus-, Ratten- oder Hamsterzellen induzierte Naphthalin keine Zelltransformation (Greim 1995, 2001).

Siebenmalige subkutane Gabe von 500 mg Naphthalin/kg KG in Sesamöl über einen Zeitraum von dreieinhalb Monaten erhöhte die Inzidenz an Lymphosarkomen bei Ratten auf 15 % (4/34) in Relation zu Kontrolltieren (3 %, 1/32) (Knaake et al. 1956 in Greim 1995).

Bei jeweils 30 weiblichen A/J-Mäusen, welche sechs Monate lang, sechs Stunden pro Tag, fünf Tage pro Woche inhalativ gegen 10 oder 30 ml Naphthalin/m³ exponiert wurden, war in der Lunge die Zahl an Adenomen pro Adenomtragender Maus, jedoch nicht die Gesamtinzidenz von Tieren mit Lugenadenomen, statistisch signifikant erhöht in Relation zu den Kontrolltieren (Adkins et al. 1986 in Greim 1995). Aufgrund der hohen Spontaninzidenz an Lungentumoren bei dem eingesetzten Mausstamm (Laube et al. 2019) wird die Studie nicht zur Bewertung herangezogen.

5.7.2 Langzeitstudien

5.7.2.1 Inhalative Exposition

Es liegen zwei Langzeit-Inhalationsstudien zur kanzerogenen Wirkung nach inhalativer Exposition gegen Naphthalin an Mäusen und Ratten vor, die schon in den bisherigen Begründungen beschrieben wurden (Greim 1995, 2001).

B6C3F1-Mäuse wurden inhalativ 104 Wochen lang, sechs Stunden pro Tag, fünf Tage pro Woche gegen 0, 10 oder 30 ml Naphthalin/m³ exponiert (Greim 1995; NTP 1992). Sowohl in der Kontrollgruppe als auch in der niedrigen Expositionsgruppe wurden jeweils 75 Tiere pro Geschlecht eingesetzt und jeweils 150 Tiere pro Geschlecht wurden gegen 30 ml/m³ exponiert (siehe Tabelle 4). Das durchschnittliche Körpergewicht der exponierten Mäuse war während der Studie etwas niedriger als das der Kontrollen. Am Ende der Studie war die Mortalität bei den männlichen Kontrollmäusen statistisch signifikant höher als bei den exponierten Mäusen aufgrund von Wundtraumata und Sekundärinfektionen im Zusammenhang mit Kämpfen. Die Mortalität der exponierten weiblichen Mäuse war ähnlich der der Kontrollen. In der hohen Konzentrationsgruppe gab es einen statistisch signifikanten Anstieg bei der Inzidenz von bronchiolo-alveolären Adenomen bei den weiblichen Mäusen. Zusätzlich wurde nur in der hohen Konzentrationsgruppe bei einer weiblichen Maus ein einzelnes Karzinom in der Lunge festgestellt. Auch exponierte männliche Mäuse hatten eine erhöhte Inzidenz von Adenomen und Karzinomen in der Lunge, welche jedoch nicht statistisch signifikant war. Nicht-neoplastische Veränderungen wurden vor allem in der Lunge und Nase beobachtet. In der Lunge trat ein konzentrationsabhängiger Anstieg verschiedener inflammatorischer Parameter auf. In der Nase zeigten praktisch alle exponierten Tiere, jedoch nur ein Kontrolltier, eine chronische Entzündung, eine Hyperplasie des respiratorischen Epithels und Metaplasie des olfaktorischen Epithels (NTP 1992).

Tab. 4 Studie zur Kanzerogenität von Naphthalin nach inhalativer Exposition bei B6C3F1-Mäusen

Autor:	NTP 1992
Stoff:	Naphthalin (Reinheit > 99 %)
Spezies:	Maus, B6C3F1, je 75 ♂, ♀ (0, 10 ml/m ³); je 150 ♂, ♀ (30 ml/m ³)
Applikation:	Inhalation
Konzentration:	0, 10, 30 ml/m ³
Dauer:	104 Wo, 6 h/d, 5 d/Wo
Toxizität:	10, 30 ml/m ³ : ♂, ♀: Körpergewicht leicht verringert

Tab. 4 (Fortsetzung)

		Expositionskonzentration (ml/m ³)		
		0	10	30
Überlebende	♂	26/75 (37%)**	52/75 (75 %)	118/150 (89 %)
	♀	59/75 (86 %)	57/75 (88 %)	102/150 (76 %)
Tumoren				
Lunge:				
bronchiolo-alveoläre Adenome	♂	7/70 (10 %)	15/69 (22 %)	27/135 (20 %) ^{a)}
	♀	5/69 (7 %)	2/65 (3 %)	28/135 (21 %)* ^{b)}
Karzinome	♂	0/70	3/69 (4 %)	7/135 (5 %) ^{c)}
	♀	0/69	0/65	1/135 (1 %) ^{d)}
Adenome und Karzinome	♂	7/70 (10 %)	17/69 (25 %)	31/135 (23 %) ^{e)}
	♀	5/69 (7 %)	2/65 (3 %)	29/134 (22 %)* ^{f)}
Knochenmark, Milz:				
Hämangiosarkome	♀	0/69	0/69	5/135 (4 %) ^{g)}
Nicht-neoplastische Läsionen				
Lunge:				
Zelluläre Infiltration: Lymphozyten	♂	3/70 (4 %)	0/69	8/135 (6 %)
	♀	11/69 (16 %)	21/65 (32 %)	46/135 (34 %)*
Zelluläre Infiltration: Histiozyten	♂	1/70 (1 %)	12/69 (17 %)*	16/135 (12 %)*
	♀	1/69 (1 %)	5/65 (8 %)	4/135 (3 %)
Entzündung	♂	0/70	21/69 (30 %)**	56/135 (41 %)**
	♀	3/69 (4 %)	13/65 (20 %)*	52/135 (39 %)*
Granulomatöse Entzündung	♂	0/70	19/69 (28 %)**	15/135 (11 %)
	♀	0/69	38/65 (58 %)*	42/135 (31 %)*
Hyperplasie alveoläres Epithel	♂	2/70 (3 %)	7/69 (10 %)	15/135 (9 %)
	♀	3/69 (4 %)	6/65 (9 %)	12/135 (9 %)
Inflammation der Drüsen	♂	7/70 (10 %)	14/69 (20 %)	22/135 (16 %)
	♀	1/69 (1 %)	3/65 (5 %)	15/135 (11 %)*
Nase:				
Entzündung	♂	0/70	67/69 (97 %)	133/135 (99 %)
	♀	1/69 (1 %)	65/65 (100 %)	134/134 (100 %)
Metaplasie des olfaktorischen Epithels	♂	0/70	66/69 (96 %)	134/135 (99 %)
	♀	0/69	65/65 (100 %)	134/134 (100 %)
Hyperplasie des respiratorischen Epithels	♂	0/70	66/69 (96 %)	134/135 (99 %)
	♀	0/69	64/65 (98 %)	134/134 (100 %)

*p ≤ 0,01; **p ≤ 0,001

^{a)} historische Kontrolle: 6–24 %, 14,4 ± 5,5^{b)} historische Kontrolle: 0–10 %, 5,8 ± 3,2^{c)} historische Kontrolle: 0–14 %, 6,3 ± 5,5^{d)} historische Kontrolle: 0–6 %, 2,8 ± 2,7^{e)} historische Kontrolle: 10–30 %, 19,7 ± 8,1^{f)} historische Kontrolle: 0–12 %, 8,4 ± 3,5^{g)} historische Kontrolle: 0–6 %, 2,6 ± 2,2 %

In einer weiteren Studie wurden jeweils 49 männliche und weibliche F344-Ratten 105 Wochen lang, sechs Stunden pro Tag, fünf Tage in der Woche inhalativ gegen 0, 10, 30 oder 60 ml Naphthalin/m³ exponiert (NTP 2000). Im Vergleich zur Kontrolle waren bei den exponierten Tieren das mittlere Körpergewicht um weniger als 10 % reduziert und die Überlebensdauer ähnlich lang. Die Inzidenz an Adenomen des respiratorischen Epithels der Nase war bei männlichen Tieren in allen Expositionsgruppen gegenüber der Kontrolle statistisch signifikant erhöht und auch im Trend-Test; bei weiblichen Tieren traten diese Tumoren nur bei Exposition gegen 30 und 60 ml/m³ auf, jedoch ohne statistische

Signifikanz. Die Inzidenz an Neuroblastomen im olfaktorischen Epithel war bei den exponierten Tieren erhöht (positiver Trend-Test): bei männlichen Tieren ab 30 ml/m³ und bei weiblichen in allen Konzentrationsgruppen. Gegenüber der Kontrolle waren die Inzidenzen nur bei den weiblichen Tieren in der höchsten Konzentrationsgruppe statistisch signifikant erhöht. Im olfaktorischen Epithel traten atypische Hyperplasie, chronische Entzündung sowie Hyalinisierung auf. Auch im respiratorischen Epithel wurden Hyperplasie, Plattenepithelzellmetaplasie, Hyalinisierung, Becherzellhyperplasie sowie glanduläre Hyperplasie beobachtet. In der Datenbank des NTP zur Tumorzinzidenz bei Kontrolltieren sind Neuroblastome an der Nase nur bei einer einzigen weiblichen Wistar-Han-Ratte in einer Gavage-Studie (durchgeführt 2007–2008) (NTP 2014) gelistet. Adenome des respiratorischen Epithels bei Ratten wurden für kein Kontrolltier beobachtet. Die Ursache der Entwicklung der seltenen Neuroblastome ist nicht abschließend geklärt (NTP 2000).

5.7.2.2 Dermale Applikation

Lebenslange dermale Applikation von 0,5% Naphthalin in Benzol (k. w. A.) führte bei 25 Mäusen zu einer erhöhten Inzidenz an Lungenadenomen. Weiter traten fünf Tumore des lymphatischen Systems auf, welche möglicherweise auf die gleichzeitige Applikation von Benzol zurückgeführt werden können. Weder bei den unbehandelten Tieren dieses Versuches, noch bei 170 anderen Kontrolltieren wurden Lungenadenome beschrieben (Knake 1956 in Greim 1995). Naphthalin zeigte einen inhibitorischen Effekt auf BaP-induzierte Hauttumore bei 78-wöchiger dermalen Applikation von 0,25%iger Naphthalinlösung zusammen mit einer 0,003%igen BaP-Lösung dreimal pro Woche bei ICR/Ha-Sprague-Dawley-Mäusen (Schmeltz et al. 1978 in Greim 1995).

5.7.2.3 Metaboliten

In einer Studie von 1940, die in einem Review zitiert wurde, führte die 200 Tage lange dermale Applikation (täglich oder alle zwei Tage; keine genaue Angabe) von **1,4-Naphthochinon**, gelöst in 1% v/v Benzol auf die rasierte Haut von Mäusen (k. A. zu Anzahl oder Stamm) bei den 77 überlebenden Mäusen bei 14 (18%) zu Papillomen und bei drei (4%) zu Hautkrebs (k. w. A.). Der Bildung von Papillomen vorhergehend ist das Auftreten von Depilation, Keratinisierung, Ulzeration und Nekrose. In der Kontrollgruppe fand sich bei einem (2%) von 46 überlebenden Tieren ein Papillom; keines entwickelte Hautkrebs. Obwohl bei den Papillomen der 1,4-Naphthochinon-behandelten Gruppe atypische Proliferation mit Ausweitung in tiefere Gewebeschichten und das subkutane Muskelgewebe beschrieben wurde, war keiner dieser Tumore transplantabel. Da keine anderen systemischen Effekte berichtet wurden, postulieren die Autoren des Reviews, dass die beobachteten Hautläsionen auf die chronische Irritation (Nekrose, Ulzeration) zurückzuführen sein könnten (Fowler et al. 2018).

5.7.3 Fazit

In vitro induziert Naphthalin keine Zelltransformation.

Naphthalin verursacht speziesspezifisch Tumore bei Nagern, wobei zudem Unterschiede in der Empfindlichkeit bei weiblichen und männlichen Tieren zu beobachten sind. So bilden sich bei der weiblichen Ratte vorwiegend maligne Neuroblastome des olfaktorischen Epithels, bei der männlichen Adenome des respiratorischen Epithels und bei weiblichen Mäusen bronchiolo-alveoläre Adenome sowie ein Lungenkarzinom bei einem einzelnen Tier bei der höchsten Konzentration. Auch männliche Mäuse zeigen eine erhöhte Inzidenz von Adenomen und Karzinomen in der Lunge, welche jedoch nicht statistisch signifikant ist. Das gleichzeitige Auftreten starker Entzündungen in den jeweiligen Zielgeweben der Kanzerogenität und die hohen Inzidenzen an Hyper- und Metaplasien in der Rattennase schon ab der niedrigsten Konzentration deuten darauf hin, dass die krebserzeugende Wirkung von Naphthalin bei Ratten und Mäusen im Wesentlichen durch Zytotoxizität aufgrund der Überlastung detoxifizierender Mechanismen hervorgerufen wird. Eine Humanrelevanz ist trotz speziesspezifischer Unterschiede in der Aktivierung nicht auszuschließen (siehe [Abschnitt 2](#)).

6 Bewertung

Kritischer Effekt ist die kanzerogene Wirkung von Naphthalin an der Nase von Ratten und der Lunge von Mäusen.

Krebserzeugende Wirkung. Nach Inhalation werden bei der weiblichen Ratte maligne Neuroblastome des olfaktorischen Epithels, bei der männlichen Ratte Adenome des respiratorischen Epithels und bei weiblichen Mäusen bronchiolo-alveoläre Adenome sowie ein Lungenkarzinom bei einem einzelnen Tier bei der höchsten Konzentration beobachtet. Bei männlichen Mäusen zeigt sich eine nicht statistisch signifikant erhöhte Inzidenz an Adenomen und Karzinomen in der Lunge. Eine Humanrelevanz der Tumore beim Nager ist trotz speziesspezifischer Unterschiede nicht auszuschließen. Valide Daten aus epidemiologischen Untersuchungen liegen nicht vor.

Zahlreiche neue Studien und Übersichtsartikel deuten auf einen nicht-genotoxischen Wirkungsmechanismus bei der kanzerogenen Wirkung von Naphthalin hin, nachdem eine starke lokale Entzündungsreaktion durch zytotoxische Metaboliten des Naphthalins und dadurch gesteigerte Zellproliferation als Ursache der Tumoren bei Ratte und Maus angesehen wird. Diese tritt erst in höheren Konzentrationen durch Proteinbindung der Metaboliten nach Erschöpfung detoxifizierender Mechanismen, wie GSH-Konjugation, auf. Auch viele Genotoxizitätstests zeigen erst mit Auftreten von Zytotoxizität ein positives Ergebnis. Jedoch sind genotoxische Effekte vereinzelt auch im nicht-zytotoxischen Bereich zu beobachten. Das Auftreten von DNA-Bindung in Explantaten der Zielgewebe der Kanzerogenität ist hinsichtlich ihres Beitrags zur Kanzerogenität aufgrund fehlender aussagekräftiger Mutagenitätstests in den Zielgeweben nicht eindeutig zu bewerten. Ebenso verhält es sich mit den beobachteten spezifischen DNA-Addukten in der Mäusehaut, da valide Kanzerogenitätsstudien mit dermalen Applikation fehlen. Eine primäre genotoxische Wirkung von Naphthalin kann daher zurzeit nicht ganz ausgeschlossen werden und es fehlen Untersuchungen, aus denen sich eine Effektschwelle beim Tier oder beim Menschen ableiten lässt. Naphthalin verbleibt somit in Kanzerogenitäts-Kategorie 2.

Keimzellmutagene Wirkung. Naphthalin ist nicht mutagen in Bakterien und humanen Lymphoblasten. Es fehlen jedoch Studien in Bakterienstämmen, welche sensitiv für oxidative Schäden sind, und aussagekräftige Mutagenitätstests mit Zielzellen/-geweben der Kanzerogenität *in vitro* wie *in vivo*.

Positive Indikatortests in Säugerzellen (SCE, UDS, DNA-Strangbrüche) gehen mit Zytotoxizität und teilweise mit oxidativen Prozessen (Lipidperoxidation) einher. Auch *in vivo* induzierte DNA-Strangbrüche in Leber und Gehirn sowie in der Lunge traten entweder gleichzeitig mit vermehrter Lipidperoxidation und GSH-Depletion auf bzw. nach Schädigungen am Lungenepithel. Ein UDS-Test an der Leber bei Ratten verlief negativ. Naphthalin induzierte in humanen Lymphoblasten *in vitro* auch bei nicht-zytotoxischen Konzentrationen Mikronuklei, jedoch nicht *in vivo*.

In somatischen Zellen verursacht Naphthalin DNA-Bindung. Insgesamt treten überwiegend erst bei zytotoxischen Konzentrationen, vereinzelt aber auch darunter, genotoxische Wirkungen auf (siehe [Abschnitt 5.6.4](#)). Studien zur Keimzellmutagenität liegen nicht vor, ebenso wenig wie Angaben zur Erreichbarkeit der Keimzellen. Naphthalin verbleibt daher weiterhin in der Keimzellmutagenitäts-Kategorie 3B.

Hautresorption. Es liegen mehrere *In-vivo*- und *In-vitro*-Studien vor, die zum einen eine Aufnahme von Naphthalin über die Haut dokumentieren und zum anderen adverse Effekte nach dermalen Applikation zeigen. Sowohl die *In-vitro*- als auch die *In-vivo*-Hautpenetrationsstudien weisen Flux-Werte in der gleichen Größenordnung auf. Eine *In-vivo*-Studie am Menschen ergab für die Hautresorption einen Flux-Wert von 0,159 µg/cm² pro Stunde. Darauf basierend würde eine einstündige Exposition von 2000 cm² Haut zu einer dermalen Aufnahme im Bereich von 0,32 mg Naphthalin führen. Auch bei diesen geringen Resorptionsmengen kann derzeit ein genotoxisches Risiko nicht ausgeschlossen werden. Daher wird Naphthalin weiterhin mit „H“ markiert.

Sensibilisierende Wirkung. Zur sensibilisierenden Wirkung liegen weiterhin keine belastbaren Befunde beim Menschen und keine positiven Ergebnisse aus experimentellen Untersuchungen am Tier oder aus *In-vitro*-Untersuchungen vor. Naphthalin wird daher weiterhin weder mit „Sh“ noch mit „Sa“ markiert.

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

- AGS (Ausschuss für Gefahrstoffe) (2018) AGW-Begründung zu Naphthalin (CAS-Nr 91-20-3) in TRGS 900. Dortmund: Bundesanstalt für Arbeitsschutz und Arbeitsmedizin. https://www.baua.de/DE/Angebote/Rechtstexte-und-Technische-Regeln/Regelwerk/TRGS/pdf/900/900-naphthalin.pdf?__blob=publicationFile&v=1, abgerufen am 12 Dez 2019
- Aoshiha K, Tsuji T, Itoh M, Semba S, Yamaguchi K, Nakamura H, Watanabe H (2014) A murine model of airway fibrosis induced by repeated naphthalene exposure. *Exp Toxicol Pathol* 66(4): 169–177. <https://doi.org/10.1016/j.etp.2014.01.001>
- ATSDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry) (2005) Toxicological profile for naphthalene, 1-methylnaphthalene, and 2-methylnaphthalene. Atlanta, GA: ATSDR. <https://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp67.pdf>, abgerufen am 12 Mai 2020
- Bagchi D, Bagchi M, Balmoori J, Vuchetich PJ, Stohs SJ (1998 a) Induction of oxidative stress and DNA damage by chronic administration of naphthalene to rats. *Res Commun Mol Pathol Pharmacol* 101(3): 249–257
- Bagchi M, Bagchi D, Balmoori J, Ye X, Stohs SJ (1998 b) Naphthalene-induced oxidative stress and DNA damage in cultured macrophage J774A.1 cells. *Free Radic Biol Med* 25(2): 137–143. [https://doi.org/10.1016/s0891-5849\(98\)00063-x](https://doi.org/10.1016/s0891-5849(98)00063-x)
- Bagchi D, Balmoori J, Bagchi M, Ye X, Williams CB, Stohs SJ (2000) Role of p53 tumor suppressor gene in the toxicity of TCDD, endrin, naphthalene, and chromium (VI) in liver and brain tissues of mice. *Free Radic Biol Med* 28(6): 895–903. [https://doi.org/10.1016/s0891-5849\(00\)00173-8](https://doi.org/10.1016/s0891-5849(00)00173-8)
- Bailey LA, Rhomberg LR (2020) Incorporating ToxCast™ data into naphthalene human health risk assessment. *Toxicol In Vitro* 67: 104913. <https://doi.org/10.1016/j.tiv.2020.104913>
- Bailey LA, Nascarella MA, Kerper LE, Rhomberg LR (2016) Hypothesis-based weight-of-evidence evaluation and risk assessment for naphthalene carcinogenesis. *Crit Rev Toxicol* 46(1): 1–42. <https://doi.org/10.3109/10408444.2015.1061477>
- Belzer RB, Bus JS, Cavalieri EL, Lewis SC, North DW, Pleus RC (2008) The naphthalene state of the science symposium: objectives, organization, structure, and charge. *Regul Toxicol Pharmacol* 51(2 Suppl): S1–S5. <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2007.10.017>
- Bogen KT, Benson JM, Yost GS, Morris JB, Dahl AR, Clewell HJ III, Krishnan K, Omiecinski CJ (2008) Naphthalene metabolism in relation to target tissue anatomy, physiology, cytotoxicity and tumorigenic mechanism of action. *Regul Toxicol Pharmacol* 51(2 Suppl): S27–S36. <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2007.10.018>
- Bos RP, Theuvs JLG, Jongeneelen FJ, Henderson PT (1988) Mutagenicity of bi-, tri- and tetra-cyclic aromatic hydrocarbons in the „taped-plate assay“ and in the conventional salmonella mutagenicity assay. *Mutat Res* 204(2): 203–206. [https://doi.org/10.1016/0165-1218\(88\)90090-0](https://doi.org/10.1016/0165-1218(88)90090-0)
- Boysen G, Pachkowski BF, Nakamura J, Swenberg JA (2009) The formation and biological significance of N7-guanine adducts. *Mutat Res* 678(2): 76–94. <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2009.05.006>
- Brusick D (2008) Critical assessment of the genetic toxicity of naphthalene. *Regul Toxicol Pharmacol* 51(2 Suppl): S37–S42. <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2007.08.013>
- Brusick D, Small MS, Cavalieri EL, Chakravarti D, Ding X, Longfellow DG, Nakamura J, Rogan EC, Swenberg JA (2008) Possible genotoxic modes of action for naphthalene. *Regul Toxicol Pharmacol* 51(2 Suppl): S43–S50. <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2007.12.002>
- Buchholz BA (2016) Mechanism for clastogenic activity of naphthalene. LLNL-TR-695881. Livermore, CA: Lawrence Livermore National Lab. (LLNL). <https://doi.org/10.2172/1281678>
- Buchholz BA, Carratt SA, Kuhn EA, Collette NM, Ding X, Van Winkle LS (2019) Naphthalene DNA adduct formation and tolerance in the lung. *Nucl Instrum Methods Phys Res B* 438: 119–123. <https://doi.org/10.1016/j.nimb.2018.07.004>
- Buckpitt A, Buonarati M, Avey LB, Chang AM, Morin D, Plopper CG (1992) Relationship of cytochrome P450 activity to Clara cell cytotoxicity. II. Comparison of stereoselectivity of naphthalene epoxidation in lung and nasal mucosa of mouse, hamster, rat and rhesus monkey. *J Pharmacol Exp Ther* 261(1): 364–372
- Buckpitt A, Morin D, Murphy S, Edwards P, Van Winkle L (2013) Kinetics of naphthalene metabolism in target and non-target tissues of rodents and in nasal and airway microsomes from the Rhesus monkey. *Toxicol Appl Pharmacol* 270(2): 97–105. <https://doi.org/10.1016/j.taap.2013.04.006>
- Carr BA, Wan J, Hines RN, Yost GS (2003) Characterization of the human lung CYP2F1 gene and identification of a novel lung-specific binding motif. *J Biol Chem* 278(18): 15473–15483. <https://doi.org/10.1074/jbc.M300319200>

- Carratt SA, Morin D, Buckpitt AR, Edwards PC, Van Winkle LS (2016) Naphthalene cytotoxicity in microsomal epoxide hydrolase deficient mice. *Toxicol Lett* 246: 35–41. <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2016.01.019>
- Carratt SA, Hartog M, Buchholz BA, Kuhn EA, Collette NM, Ding X, Van Winkle LS (2019 a) Naphthalene genotoxicity: DNA adducts in primate and mouse airway explants. *Toxicol Lett* 305: 103–109. <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2019.01.009>
- Carratt SA, Kovalchuk N, Ding X, Van Winkle LS (2019 b) Metabolism and lung toxicity of inhaled naphthalene: effects of postnatal age and sex. *Toxicol Sci* 170(2): 536–548. <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfz100>
- Cho M, Chichester C, Morin D, Plopper C, Buckpitt A (1994) Covalent interactions of reactive naphthalene metabolites with proteins. *J Pharmacol Exp Ther* 269(2): 881–889
- Cho TM, Rose RL, Hodgson E (2006) In vitro metabolism of naphthalene by human liver microsomal cytochrome P450 enzymes. *Drug Metab Dispos* 34(1): 176–183. <https://doi.org/10.1124/dmd.105.005785>
- Chukwunonyelum I, Arome O, Edeke A, Anunobi O, Ukegbu C (2016) Liver enzymes and total protein levels as index of hepatotoxicity of naphthalene. *IOSR J Pharm Biol Sci* 11(2): 28–31
- Cichocki JA, Smith GJ, Mendoza R, Buckpitt AR, Van Winkle LS, Morris JB (2014) Sex differences in the acute nasal antioxidant/antielectrophilic response of the rat to inhaled naphthalene. *Toxicol Sci* 139(1): 234–244. <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfu031>
- Cleaver JE, Feeney L, Revet I (2011) Phosphorylated H2Ax is not an unambiguous marker for DNA double-strand breaks. *Cell Cycle* 10(19): 3223–3224. <https://doi.org/10.4161/cc.10.19.17448>
- Clewell HJ, Efremenko A, Campbell JL, Dodd DE, Thomas RS (2014) Transcriptional responses in the rat nasal epithelium following subchronic inhalation of naphthalene vapor. *Toxicol Appl Pharmacol* 280(1): 78–85. <https://doi.org/10.1016/j.taap.2014.06.015>
- Connor TH, Theiss JC, Hanna HA, Monteith DK, Matney TS (1985) Genotoxicity of organic chemicals frequently found in the air of mobile homes. *Toxicol Lett* 25(1): 33–40. [https://doi.org/10.1016/0378-4274\(85\)90097-9](https://doi.org/10.1016/0378-4274(85)90097-9)
- Cruzan G, Bus J, Banton M, Gingell R, Carlson G (2009) Mouse specific lung tumors from CYP2F2-mediated cytotoxic metabolism: an endpoint/toxic response where data from multiple chemicals converge to support a mode of action. *Regul Toxicol Pharmacol* 55(2): 205–218. <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2009.07.002>
- Delgado-Rodriguez A, Ortíz-Marttelo R, Graf U, Villalobos-Pietrini R, Gómez-Arroyo S (1995) Genotoxic activity of environmentally important polycyclic aromatic hydrocarbons and their nitro derivatives in the wing spot test of *Drosophila melanogaster*. *Mutat Res* 341(4): 235–247. [https://doi.org/10.1016/0165-1218\(95\)90095-0](https://doi.org/10.1016/0165-1218(95)90095-0)
- DeStefano-Shields C, Morin D, Buckpitt A (2010) Formation of covalently bound protein adducts from the cytotoxicant naphthalene in nasal epithelium: species comparisons. *Environ Health Perspect* 118(5): 647–652. <https://doi.org/10.1289/ehp.0901333>
- Dodd DE, Gross EA, Miller RA, Wong BA (2010) Nasal olfactory epithelial lesions in F344 and SD rats following 1- and 5-day inhalation exposure to naphthalene vapor. *Int J Toxicol* 29(2): 175–184. <https://doi.org/10.1177/1091581809357955>
- Dodd DE, Wong BA, Gross EA, Miller RA (2012) Nasal epithelial lesions in F344 rats following a 90-day inhalation exposure to naphthalene. *Inhal Toxicol* 24(1): 70–79. <https://doi.org/10.3109/08958378.2011.636086>
- EU (European Union) (2003) European Union Risk Assessment Report. Naphthalene. CAS No. 91-20-3, EINECS No. 202-049-5. Luxembourg: Office for Official Publications of the European Communities. <https://echa.europa.eu/documents/10162/4c955673-9744-4d1c-a812-2bf97863906a>, abgerufen am 10 Apr 2020
- Florin I, Rutberg L, Curvall M, Enzell CR (1980) Screening of tobacco smoke constituents for mutagenicity using the Ames' test. *Toxicology* 15(3): 219–232. [https://doi.org/10.1016/0300-483x\(80\)90055-4](https://doi.org/10.1016/0300-483x(80)90055-4)
- Flowers-Geary L, Blecinko W, Harvey RG, Penning TM (1996) Cytotoxicity and mutagenicity of polycyclic aromatic hydrocarbon o-quinones produced by dihydrodiol dehydrogenase. *Chem Biol Interact* 99(1–3): 55–72. [https://doi.org/10.1016/0009-2797\(95\)03660-1](https://doi.org/10.1016/0009-2797(95)03660-1)
- Fowler P, Meurer K, Honarvar N, Kirkland D (2018) A review of the genotoxic potential of 1,4-naphthoquinone. *Mutat Res Genet Toxicol Environ Mutagen* 834: 6–17. <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2018.07.004>
- Fukami T, Katoh M, Yamazaki H, Yokoi T, Nakajima M (2008) Human cytochrome P450 2A13 efficiently metabolizes chemicals in air pollutants: naphthalene, styrene, and toluene. *Chem Res Toxicol* 21(3): 720–725. <https://doi.org/10.1021/tx700325f>
- Gatehouse D (1980) Mutagenicity of 1,2 ring-fused acenaphthenes against *S. typhimurium* TA1537 and TA1538: structure-activity relationships. *Mutat Res* 78(2): 121–135. [https://doi.org/10.1016/0165-1218\(80\)90091-9](https://doi.org/10.1016/0165-1218(80)90091-9)
- Genter MB, Marlowe J, Kerzee JK, Dragin N, Puga A, Dalton TP, Nebert DW (2006) Naphthalene toxicity in mice and aryl hydrocarbon receptor-mediated CYPs. *Biochem Biophys Res Commun* 348(1): 120–123. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2006.07.025>
- Gollahon LS, Iyer P, Martin JE, Irvin TR (1990) Chromosomal damage to preimplantation embryos in vitro by naphthalene. *The Toxicologist*. 29th Annual Meeting of the Society of Toxicology. Band 10. Oxford: Oxford University Press. S. 274
- Greim H, Hrsg (1995) Naphthalin. In: *Gesundheitsschädliche Arbeitsstoffe, Toxikologisch-arbeitsmedizinische Begründung von MAK-Werten*. 21. Lieferung. Weinheim: VCH. Auch erhältlich unter <https://doi.org/10.1002/3527600418.mb9120d0021>
- Greim H, Hrsg (2001) Naphthalin. In: *Gesundheitsschädliche Arbeitsstoffe, Toxikologisch-arbeitsmedizinische Begründung von MAK-Werten*. 33. Lieferung. Weinheim: Wiley-VCH. Auch erhältlich unter <https://doi.org/10.1002/3527600418.mb9120d0033>

- Gurbani D, Kukshal V, Laubenthal J, Kumar A, Pandey A, Tripathi S, Arora A, Jain SK, Ramachandran R, Anderson D, Dhawan A (2012) Mechanism of inhibition of the ATPase domain of human topoisomerase II α by 1,4-benzoquinone, 1,2-naphthoquinone, 1,4-naphthoquinone, and 9,10-phenanthroquinone. *Toxicol Sci* 126(2): 372–390. <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfr345>
- Hajdinák P, Szabó M, Kiss E, Veress L, Wunderlich L, Szarka A (2020) Genetic polymorphism of GSTP-1 affects cyclophosphamide treatment of autoimmune diseases. *Molecules* 25(7): 1542. <https://doi.org/10.3390/molecules25071542>
- Hakura A, Mochida H, Tsutsui Y, Yamatsu K (1994) Mutagenicity and cytotoxicity of naphthoquinones for Ames Salmonella tester strains. *Chem Res Toxicol* 7(4): 559–567. <https://doi.org/10.1021/tx00040a012>
- Han X, Zhou N, Cui Z, Ma M, Li L, Cai M, Li Y, Lin H, Li Y, Ao L, Liu J, Cao J (2011) Association between urinary polycyclic aromatic hydrocarbon metabolites and sperm DNA damage: a population study in Chongqing, China. *Environ Health Perspect* 119(5): 652–657. <https://doi.org/10.1289/ehp.1002340>
- Hartwig A, Arand M, Epe B, Guth S, Jahnke G, Lampen A, Martus H-J, Monien B, Rietjens IMCM, Schmitz-Spanke S, Schriever-Schwemmer G, Steinberg P, Eisenbrand G (2020) Mode of action-based risk assessment of genotoxic carcinogens. *Arch Toxicol* 94(6): 1787–1877. <https://doi.org/10.1007/s00204-020-02733-2>
- Ho YL, Ho SK (1981) Screening of carcinogens with the prophage lambda clts857 induction test. *Cancer Res* 41(2): 532–536
- Ho CH, Clark BR, Guerin MR, Barkenbus BD, Rao TK, Epler JL (1981) Analytical and biological analysis of test materials from the synthetic fuel technologies : IV. Studies of chemical structure-mutagenic activity relationships of aromatic nitrogen compounds relevant to synfuels. *Mutat Res* 85(5): 335–345. [https://doi.org/10.1016/0165-1161\(81\)90224-7](https://doi.org/10.1016/0165-1161(81)90224-7)
- Hong J-H, Lee W-C, Hsu Y-M, Liang H-J, Wan C-H, Chien C-L, Lin C-Y (2014) Characterization of the biochemical effects of naphthalene on the mouse respiratory system using NMR-based metabolomics. *J Appl Toxicol* 34(12): 1379–1388. <https://doi.org/10.1002/jat.2970>
- Hu J, Sheng L, Li L, Zhou X, Xie F, D'Agostino J, Li Y, Ding X (2014) Essential role of the cytochrome P450 enzyme CYP2A5 in olfactory mucosal toxicity of naphthalene. *Drug Metab Dispos* 42(1): 23–27. <https://doi.org/10.1124/dmd.113.054429>
- IARC (International Agency for Research on Cancer) (2002) Naphthalene. In: Some traditional herbal medicines, some mycotoxins, naphthalene and styrene. IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. Band 82. Lyon: IARC Press. S. 367–435. https://publications.iarc.fr/_publications/media/download/2618/a48798b1ac1f630be9fcb30ffb2d56b790c08d.pdf, abgerufen am 08 Mai 2020
- Kaden DA, Hites RA, Thilly WG (1979) Mutagenicity of soot and associated polycyclic aromatic hydrocarbons to Salmonella typhimurium. *Cancer Res* 39(10): 4152–4159
- Kanikkannan N, Burton S, Patel R, Jackson T, Shaik MS, Singh M (2001 a) Percutaneous permeation and skin irritation of JP-8+100 jet fuel in a porcine model. *Toxicol Lett* 119(2): 133–142. [https://doi.org/10.1016/s0378-4274\(00\)00311-8](https://doi.org/10.1016/s0378-4274(00)00311-8)
- Kanikkannan N, Patel R, Jackson T, Shaik MS, Singh M (2001 b) Percutaneous absorption and skin irritation of JP-8 (jet fuel). *Toxicology* 161(1–2): 1–11. [https://doi.org/10.1016/s0300-483x\(00\)00402-9](https://doi.org/10.1016/s0300-483x(00)00402-9)
- Kapuci M, Ulker Z, Gurkan S, Alpsoy L (2014) Determination of cytotoxic and genotoxic effects of naphthalene, 1-naphthol and 2-naphthol on human lymphocyte culture. *Toxicol Ind Health* 30(1): 82–89. <https://doi.org/10.1177/0748233712451772>
- Karagiannis TC, Li X, Tang MM, Orlowski C, El-Osta A, Tang MLK, Royce SG (2012) Molecular model of naphthalene-induced DNA damage in the murine lung. *Hum Exp Toxicol* 31(1): 42–50. <https://doi.org/10.1177/0960327111407228>
- Kim D, Andersen ME, Nylander-French LA (2006) Dermal absorption and penetration of jet fuel components in humans. *Toxicol Lett* 165(1): 11–21. <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2006.01.009>
- Kitchin KT, Brown JL, Kulkarni AP (1992) Predictive assay for rodent carcinogenicity using in vivo biochemical parameters: operational characteristics and complementarity. *Mutat Res* 266(2): 253–272. [https://doi.org/10.1016/0027-5107\(92\)90193-6](https://doi.org/10.1016/0027-5107(92)90193-6)
- Klaassen CD, Hrsg (2007) Casarett & Doull's toxicology: the basic science of poisons, 7. Aufl. New York, NY: McGraw Hill Professional
- Klotz K, Drexler H, Hartwig A, MAK Commission (2016) Naphthalin. BAT Value Documentation in German language. MAK Collect Occup Health Saf 1(4): 2698–2714. <https://doi.org/10.1002/3527600418.bb9120d0022>
- Klotz K, Zobel M, Schäferhenrich A, Hebisch R, Drexler H, Göen T (2018) Suitability of several naphthalene metabolites for their application in biomonitoring studies. *Toxicol Lett* 298: 91–98. <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2018.07.008>
- Klotz K, Weiß T, Zobel M, Bury D, Breuer D, Werner S, Sucker K, Zschesche W, Göen T, Brüning T, Drexler H (2019) Validity of different biomonitoring parameters in human urine for the assessment of occupational exposure to naphthalene. *Arch Toxicol* 93(8): 2185–2195. <https://doi.org/10.1007/s00204-019-02468-9>
- Klotz K, Drexler H, Hartwig A, MAK Commission (2022) Naphthalin – Addendum: Evaluierung von EKA. Beurteilungswerte in biologischem Material. MAK Collect Occup Health Saf 7(4): Doc078. https://doi.org/10.34865/bb9120d7_4ad
- Kovalchuk N, Kelty J, Li L, Hartog M, Zhang Q-Y, Edwards P, Van Winkle L, Ding X (2017) Impact of hepatic P450-mediated biotransformation on the disposition and respiratory tract toxicity of inhaled naphthalene. *Toxicol Appl Pharmacol* 329: 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.taap.2017.05.015>

- Kovalchuk N, Zhang Q-Y, Kelty J, Van Winkle L, Ding X (2019) Toxicokinetic interaction between hepatic disposition and pulmonary bioactivation of inhaled naphthalene studied using Cyp2abfgs-null and CYP2A13/2F1-humanized mice with deficient hepatic cytochrome P450 activity. *Drug Metab Dispos* 47(12): 1469–1478. <https://doi.org/10.1124/dmd.119.088930>
- Krieg EF Jr, Mathias PI, Toennis CA, Clark JC, Marlow KL, B'hymmer C, Singh NP, Gibson RL, Butler MA (2012) Detection of DNA damage in workers exposed to JP-8 jet fuel. *Mutat Res* 747(2): 218–227. <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2012.05.005>
- Kucab JE, Zou X, Morganello S, Joel M, Nanda AS, Nagy E, Gomez C, Degasperi A, Harris R, Jackson SP, Arlt VM, Phillips DH, Nik-Zainal S (2019) A compendium of mutational signatures of environmental agents. *Cell* 177(4): 821–836.e16. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2019.03.001>
- Lakritz J, Chang A, Weir A, Nishio S, Hyde D, Philpot R, Buckpitt A, Plopper C (1996) Cellular and metabolic basis of Clara cell tolerance to multiple doses of cytochrome P450-activated cytotoxicants. I: Bronchiolar epithelial reorganization and expression of cytochrome P450 monooxygenases in mice exposed to multiple doses of naphthalene. *J Pharmacol Exp Ther* 278(3): 1408–1418
- Lanosa MJ, Willis DN, Jordt S, Morris JB (2010) Role of metabolic activation and the TRPA1 receptor in the sensory irritation response to styrene and naphthalene. *Toxicol Sci* 115(2): 589–595. <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfq057>
- 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>
- Lee MG, Phimister A, Morin D, Buckpitt A, Plopper C (2005) In situ naphthalene bioactivation and nasal airflow cause region-specific injury patterns in the nasal mucosa of rats exposed to naphthalene by inhalation. *J Pharmacol Exp Ther* 314(1): 103–110. <https://doi.org/10.1124/jpet.105.084517>
- Lee S-H, Hong S-H, Tang C-H, Ling YS, Chen K-H, Liang H-J, Lin C-Y (2018) Mass spectrometry-based lipidomics to explore the biochemical effects of naphthalene toxicity or tolerance in a mouse model. *PLoS One* 13(10): e0204829. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0204829>
- Lewis RJ (2012) Naphthalene animal carcinogenicity and human relevancy: overview of industries with naphthalene-containing streams. *Regul Toxicol Pharmacol* 62(1): 131–137. <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2011.12.004>
- Li L, Wei Y, Van Winkle L, Zhang Q-Y, Zhou X, Hu J, Xie F, Kluztzman K, Ding X (2011) Generation and characterization of a Cyp2f2-null mouse and studies on the role of CYP2F2 in naphthalene-induced toxicity in the lung and nasal olfactory mucosa. *J Pharmacol Exp Ther* 339(1): 62–71. <https://doi.org/10.1124/jpet.111.184671>
- Li L, Carratt S, Hartog M, Kovalchuk N, Jia K, Wang Y, Zhang Q-Y, Edwards P, Van Winkle L, Ding X (2017) Human CYP2A13 and CYP2F1 mediate naphthalene toxicity in the lung and nasal mucosa of CYP2A13/2F1-humanized mice. *Environ Health Perspect* 125(6): 067004. <https://doi.org/10.1289/EHP844>
- Lin C-H, Huang C-C, Wang T-W, Wang Y-J, Lin P-H (2007) Disparity in the induction of glutathione depletion, ROS formation, poly(ADP-ribose) polymerase-1 activation, and apoptosis by quinonoid derivatives of naphthalene in human cultured cells. *Chem Biol Interact* 165(3): 200–210. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2006.12.005>
- Lin C-Y, Huang F-P, Ling YS, Liang H-J, Lee S-H, Hu M-Y, Tsao P-N (2015) Use of nuclear magnetic resonance-based metabolomics to characterize the biochemical effects of naphthalene on various organs of tolerant mice. *PLoS One* 10(4): e0120429. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0120429>
- Luczak MW, Zhitkovich A (2018) Monoubiquitinated γ -H2AX: Abundant product and specific biomarker for non-apoptotic DNA double-strand breaks. *Toxicol Appl Pharmacol* 355: 238–246. <https://doi.org/10.1016/j.taap.2018.07.007>
- Magee B, Samuelian J, Haines K, Chappel M, Penn I, Chin D, Anders D, Hinz J (2010) Screening-level population risk assessment of nasal tumors in the US due to naphthalene exposure. *Regul Toxicol Pharmacol* 57(2–3): 168–180. <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2010.02.004>
- Mamber SW, Bryson V, Katz SE (1983) The Escherichia coli WP2/WP100 rec assay for detection of potential chemical carcinogens. *Mutat Res* 119(2): 135–144. [https://doi.org/10.1016/0165-7992\(83\)90121-5](https://doi.org/10.1016/0165-7992(83)90121-5)
- Mamber SW, Bryson V, Katz SE (1984) Evaluation of the Escherichia coli K12 inductest for detection of potential chemical carcinogens. *Mutat Res* 130(3): 141–151. [https://doi.org/10.1016/0165-1161\(84\)90116-x](https://doi.org/10.1016/0165-1161(84)90116-x)
- Martinez GR, Loureiro APM, Marques SA, Miyamoto S, Yamaguchi LF, Onuki J, Almeida EA, Garcia CCM, Barbosa LF, Medeiros MHG, Di Mascio P (2003) Oxidative and alkylating damage in DNA. *Mutat Res* 544(2–3): 115–127. <https://doi.org/10.1016/j.mrr.2003.05.005>
- McCann J, Choi E, Yamasaki E, Ames BN (1975) Detection of carcinogens as mutagens in the Salmonella/microsome test: assay of 300 chemicals. *Proc Natl Acad Sci U S A* 72(12): 5135–5139
- Meeker JD, Barr DB, Serdar B, Rappaport SM, Hauser R (2007) Utility of urinary 1-naphthol and 2-naphthol levels to assess environmental carbaryl and naphthalene exposure in an epidemiology study. *J Expo Sci Environ Epidemiol* 17(4): 314–320. <https://doi.org/10.1038/sj.jes.7500502>
- Meng F, Wang Y, Myers MB, Wong BA, Gross EA, Clewell HJ III, Dodd DE, Parsons BL (2011) p53 codon 271 CGT to CAT mutant fraction does not increase in nasal respiratory and olfactory epithelia of rats exposed to inhaled naphthalene. *Mutat Res* 721(2): 199–205. <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2011.02.004>
- Mitchell AE, Lakritz J, Jones AD (2000) Quantification of individual glutathione S-transferase isozymes in hepatic and pulmonary tissues of naphthalene-tolerant mice. *Arch Toxicol* 74(4–5): 215–221. <https://doi.org/10.1007/s002040000120>

- Morris JB (2013) Nasal dosimetry of inspired naphthalene vapor in the male and female B6C3F1 mouse. *Toxicology* 309: 66–72. <https://doi.org/10.1016/j.tox.2013.04.009>
- Morris JB, Buckpitt AR (2009) Upper respiratory tract uptake of naphthalene. *Toxicol Sci* 111(2): 383–391. <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfp138>
- Mortelmans K, Haworth S, Lawlor T, Speck W, Tainer B, Zeiger E (1986) Salmonella mutagenicity tests: II. Results from the testing of 270 chemicals. *Environ Mutagen* 8(Suppl 7): 1–119
- Nakamura SI, Oda Y, Shimada T, Oki I, Sugimoto K (1987) SOS-inducing activity of chemical carcinogens and mutagens in *Salmonella typhimurium* TA1535/pSK1002: examination with 151 chemicals. *Mutat Res* 192(4): 239–246. [https://doi.org/10.1016/0165-7992\(87\)90063-7](https://doi.org/10.1016/0165-7992(87)90063-7)
- Narbonne JF, Cassand P, Alzieu P, Grolier P, Mrlina G, Calmon JP (1987) Structure-activity relationships of the N-methylcarbamate series in *Salmonella typhimurium*. *Mutat Res* 191(1): 21–27. [https://doi.org/10.1016/0165-7992\(87\)90165-5](https://doi.org/10.1016/0165-7992(87)90165-5)
- Nie J, Li J, Cheng L, Li Y, Deng Y, Yan Z, Duan L, Niu Q, Perera F, Tang D (2018) Maternal urinary 2-hydroxynaphthalene and birth outcomes in Taiyuan, China. *Environ Health* 17(1): 91. <https://doi.org/10.1186/s12940-018-0436-4>
- Nies E, Brüning T, Steinhausen M, Welge P, Werner SCM, Pallapies D, Bartsch R, Brinkmann B, Schriever-Schwemmer G, Hartwig A, MAK Commission (2019) Bitumen (Dampf und Aerosol bei der Heißverarbeitung). MAK Value Documentation in German language. *MAK Collect Occup Health Saf* 4(3): 1253–1371. <https://doi.org/10.1002/3527600418.mb805242d0067>
- NIH (National Institutes of Health) (2022) Tox21 samples of naphthalene (CAS Number 91-20-3). https://opendata.ncats.nih.gov/public/tox21/qc/Tox21_111023_04_NMR.pdf, abgerufen am 16 Sep 2022
- North DW, Abdo KM, Benson JM, Dahl AR, Morris JB, Renne R, Witschi H (2008) A review of whole animal bioassays of the carcinogenic potential of naphthalene. *Regul Toxicol Pharmacol* 51(2 Suppl): S6–S14. <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2007.09.022>
- NTP (National Toxicology Program) (1992) Toxicology and carcinogenesis studies of naphthalene (CAS No. 91-20-3) in B6C3F1 mice (inhalation studies). TR 410. Research Triangle Park, NC: NTP. https://ntp.niehs.nih.gov/ntp/htdocs/lt_rpts/tr410.pdf, abgerufen am 09 Nov 2019
- NTP (National Toxicology Program) (2000) NTP Technical report on the toxicology and carcinogenesis studies of naphthalene (CAS No. 91-20-3) in F344/N rats (inhalation studies). TR 500. Research Triangle Park, NC: NTP. https://ntp.niehs.nih.gov/ntp/htdocs/lt_rpts/tr500.pdf, abgerufen am 09 Nov 2019
- NTP (National Toxicology Program) (2014) NTP historical controls report, all routes and vehicles, Wistar Han rats. Research Triangle Park, NC: NTP. https://ntp.niehs.nih.gov/ntp/historical_controls/ntp2000_2014/histcont2014wistarhanrats_allroutes_508.pdf, abgerufen am 09 Nov 2019
- Okada T, Matsunaga K, Hayakawa R (1985) [Sensitization test of naphthol AS on guinea pigs]. *Nippon Hifuka Gakkai Zasshi* 95(13): 1487–1489
- Orjuela MA, Liu X, Miller RL, Warburton D, Tang D, Jobanputra V, Hoepner L, Suen IH, Diaz-Carreño S, Li Z, Sjodin A, Perera FP (2012) Urinary naphthol metabolites and chromosomal aberrations in 5-year-old children. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 21(7): 1191–1202. <https://doi.org/10.1158/1055-9965.EPI-12-0214>
- Phimister AJ, Lee MG, Morin D, Buckpitt AR, Plopper CG (2004) Glutathione depletion is a major determinant of inhaled naphthalene respiratory toxicity and naphthalene metabolism in mice. *Toxicol Sci* 82(1): 268–278. <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfh258>
- Piccirillo VJ, Bird MG, Lewis RJ, Bover WJ (2012) Preliminary evaluation of the human relevance of respiratory tumors observed in rodents exposed to naphthalene. *Regul Toxicol Pharmacol* 62(3): 433–440. <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2012.01.008>
- Preuss R, Angerer J, Drexler H (2003) Naphthalene – an environmental and occupational toxicant. *Int Arch Occup Environ Health* 76(8): 556–576. <https://doi.org/10.1007/s00420-003-0458-1>
- Recio L, Shepard KG, Hernández LG, Kedderis GL (2012) Dose-response assessment of naphthalene-induced genotoxicity and glutathione detoxication in human TK6 lymphoblasts. *Toxicol Sci* 126(2): 405–412. <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfs012>
- Saeed M, Higginbotham S, Gaikwad N, Chakravarti D, Rogan E, Cavalieri E (2009) Depurinating naphthalene-DNA adducts in mouse skin related to cancer initiation. *Free Radic Biol Med* 47(7): 1075–1081. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2009.07.020>
- Sahni M, Vibert Y, Bhandari V, Menkiti O (2019) Newborn infant with mothball toxicity due to maternal ingestion. *Pediatrics* 143(6): e20183619. <https://doi.org/10.1542/peds.2018-3619>
- Sakai M, Yoshida D, Mizusaki S (1985) Mutagenicity of polycyclic aromatic hydrocarbons and quinones on *Salmonella typhimurium* TA97. *Mutat Res* 156(1–2): 61–67. [https://doi.org/10.1016/0165-1218\(85\)90007-2](https://doi.org/10.1016/0165-1218(85)90007-2)
- Sanger Institute (2020) Mutational signatures (v3 May 2019), COSMIC (Catalogue of somatic mutations in cancer). <https://cancer.sanger.ac.uk/signatures/>, abgerufen am 09 Nov 2020
- Sasaki JC, Arey J, Eastmond DA, Parks KK, Grossovsky AJ (1997) Genotoxicity induced in human lymphoblasts by atmospheric reaction products of naphthalene and phenanthrene. *Mutat Res* 393(1–2): 23–35. [https://doi.org/10.1016/s1383-5718\(97\)00083-1](https://doi.org/10.1016/s1383-5718(97)00083-1)
- Schreiner CA (2003) Genetic toxicity of naphthalene: a review. *J Toxicol Environ Health B Crit Rev* 6(2): 161–183. <https://doi.org/10.1080/10937400306472>
- SCOEL (Scientific Committee on Occupational Exposure Limits) (2010) Recommendation from the Scientific Committee on Occupational Exposure Limits for naphthalene. SCOEL/SUM/90. Brussels: European Commission. <https://www.ser.nl/api/Mfiles/DownloadFirstDocument?Id=dde0827c-8d4f-4be0-9a44-df88e7188673>, abgerufen am 29 Apr 2020

- Seixas GM, Andon BM, Hollingshead PG, Thilly WG (1982) The aza-arenes as mutagens for *Salmonella typhimurium*. *Mutat Res* 102(3): 201–212. [https://doi.org/10.1016/0165-1218\(82\)90130-6](https://doi.org/10.1016/0165-1218(82)90130-6)
- Shafer G, Arunachalam A, Lohmann P (2020) Newborn with perinatal naphthalene toxicity after maternal ingestion of mothballs during pregnancy. *Neonatology* 117(1): 127–130. <https://doi.org/10.1159/000504345>
- Sina JF, Bean CL, Dysart R, Taylor VI, Bradley MO (1983) Evaluation of the alkaline elution/rat hepatocyte assay as a predictor of carcinogenic/mutagenic potential. *Mutat Res* 113(5): 357–391. [https://doi.org/10.1016/0165-1161\(83\)90228-5](https://doi.org/10.1016/0165-1161(83)90228-5)
- Su T, Bao Z, Zhang Q-Y, Smith TJ, Hong J-Y, Ding X (2000) Human cytochrome P450 CYP2A13: predominant expression in the respiratory tract and its high efficiency metabolic activation of a tobacco-specific carcinogen, 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone. *Cancer Res* 60(18): 5074–5079
- Sucker K, Zschiesche W, Hummel T, Breuer D, Werner S, Friedrich C, Weiss T, Raulf M, Pallapies D, Bünger J, Brüning T (2017) Naphthalin: Chronische Exposition am Arbeitsplatz – Relevanz für die Grenzwertableitung. Ergebnisse der Querschnittsstudie zur Naphthalinexposition in der Schleifmittelindustrie. *Gefahrst Reinhalt Luft* 77: 439–441
- Sucker K, Zschiesche W, Aziz M, Drews T, Hummel T, Raulf M, Weiss T, Bury D, Breuer D, Werner S, Friedrich C, Bünger J, Pallapies D, Brüning T (2021) Naphthalene: irritative and inflammatory effects on the airways. *Int Arch Occup Environ Health* 94: 889–899. <https://doi.org/10.1007/s00420-020-01636-0>
- Tingle MD, Pirmohamed M, Templeton E, Wilson AS, Madden S, Kitteringham NR, Park BK (1993) An investigation of the formation of cytotoxic, genotoxic, protein-reactive and stable metabolites from naphthalene by human liver microsomes. *Biochem Pharmacol* 46(9): 1529–1538. [https://doi.org/10.1016/0006-2952\(93\)90319-r](https://doi.org/10.1016/0006-2952(93)90319-r)
- US EPA (US Environmental Protection Agency) (2020) ToxCast & Tox21 Summary Files from invitrodb_v3. Dataset on naphthalene (CAS Number 91-20-3). <https://comptox.epa.gov/dashboard/chemical/invitrodb/DTXSID8020913>, abgerufen am 16 Apr 2020
- Van Winkle LS, Cichocki J, Mendoza R, Edwards P, Morris JB (2014) Sex differences in glutathione levels and cytotoxicity following naphthalene or acrolein exposure in nasal epithelium. *Toxicologist* 138(1): 322
- Vuchetich PJ, Bagchi D, Bagchi M, Hassoun EA, Tang L, Stohs SJ (1996) Naphthalene-induced oxidative stress in rats and the protective effects of vitamin E succinate. *Free Radic Biol Med* 21(5): 577–590. [https://doi.org/10.1016/0891-5849\(96\)00161-x](https://doi.org/10.1016/0891-5849(96)00161-x)
- Wang D, Bruyneel B, Kamelia L, Wesseling S, Rietjens IMCM, Boogaard PJ (2020) In vitro metabolism of naphthalene and its alkylated congeners by human and rat liver microsomes via alkyl side chain or aromatic oxidation. *Chem Biol Interact* 315: 108905. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2019.108905>
- Watanabe O, Tsuji T, Kikuchi R, Itoh M, Nakamura H, Aoshiba K (2016) Little evidence for epithelial-mesenchymal transition in a murine model of airway fibrosis induced by repeated naphthalene exposure. *Exp Toxicol Pathol* 68(9): 517–520. <https://doi.org/10.1016/j.etp.2016.07.007>
- Weems JM, Yost GS (2010) 3-Methylindole metabolites induce lung CYP1A1 and CYP2F1 enzymes by AhR and non-AhR mechanisms, respectively. *Chem Res Toxicol* 23(3): 696–704. <https://doi.org/10.1021/tx9004506>
- Weiss T, Breuer D, Bury D, Friedrich C, Werner S, Aziz M, Hummel T, Raulf M, Zschiesche W, Sucker K, Pallapies D, Bünger J, Brüning T (2020) (Mono-) exposure to naphthalene in the abrasives industry: air monitoring and biological monitoring. *Ann Work Expo Health* 64(9): 982–992. <https://doi.org/10.1093/annweh/wxaa062>
- West JAA, Van Winkle LS, Morin D, Fleschner CA, Forman HJ, Plopper CG (2003) Repeated inhalation exposures to the bioactivated cytotoxicant naphthalene (NA) produce airway-specific Clara cell tolerance in mice. *Toxicol Sci* 75(1): 161–168. <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfg156>
- Wilson AS, Tingle MD, Kelly MD, Park BK (1995) Evaluation of the generation of genotoxic and cytotoxic metabolites of benzo[a]pyrene, aflatoxin B1, naphthalene and tamoxifen using human liver microsomes and human lymphocytes. *Hum Exp Toxicol* 14(6): 507–515. <https://doi.org/10.1177/096032719501400608>
- Wilson AS, Davis CD, Williams DP, Buckpitt AR, Pirmohamed M, Park BK (1996) Characterisation of the toxic metabolite(s) of naphthalene. *Toxicology* 114(3): 233–242. [https://doi.org/10.1016/s0300-483x\(96\)03515-9](https://doi.org/10.1016/s0300-483x(96)03515-9)
- Yu D, Berlin JA, Penning TM, Field J (2002 a) Reactive oxygen species generated by PAH o-quinones cause change-in-function mutations in p53. *Chem Res Toxicol* 15(6): 832–842. <https://doi.org/10.1021/tx010177m>
- Yu D, Kazanietz MG, Harvey RG, Penning TM (2002 b) Polycyclic aromatic hydrocarbon o-quinones inhibit the activity of the catalytic fragment of protein kinase C. *Biochemistry* 41(39): 11888–11894. <https://doi.org/10.1021/bi020270p>
- Zhang Q-Y, Ding X (2008) The CYP2F, CYP2G and CYP2J subfamilies. In: Ioannides C, Hrsg. *Cytochromes P450. Role in the metabolism and toxicity of drugs and other xenobiotics. Issues in toxicology*. Cambridge: Royal Society of Chemistry. S. 309–353. <https://doi.org/10.1039/9781847558428-00309>
- Zhang Z, Kleinstreuer C (2011) Deposition of naphthalene and tetradecane vapors in models of the human respiratory system. *Inhal Toxicol* 23(1): 44–57. <https://doi.org/10.3109/08958378.2010.540261>
- Zheng J, Cho M, Jones AD, Hammock BD (1997) Evidence of quinone metabolites of naphthalene covalently bound to sulfur nucleophiles of proteins of murine Clara cells after exposure to naphthalene. *Chem Res Toxicol* 10(9): 1008–1014. <https://doi.org/10.1021/tx970061j>