

# Methoxychlor

[72-43-5]

Nachtrag 2014

<b>MAK-Wert (2013)</b>	<b>1 mg/m<sup>3</sup> E</b>
<b>Spitzenbegrenzung (2002)</b>	<b>Kategorie II, Überschreitungsfaktor 8</b>
<b>Hautresorption (2013)</b>	<b>H</b>
<b>Sensibilisierende Wirkung</b>	–
<b>Krebserzeugende Wirkung</b>	–
<b>Fruchtschädigende Wirkung (2013)</b>	<b>Gruppe B</b>
<b>Keimzellmutagene Wirkung</b>	–
<b>BAT-Wert</b>	–

Methoxychlor ist ein Pestizid, dessen Verwendung in Europa seit 2002 und in den USA seit 2003 aufgrund seiner Persistenz in der Umwelt und des Akkumulationsvermögens in der Nahrungskette verboten ist.

Im Jahr 1958 wurde in Analogie zum damaligen TLV-Wert ein MAK-Wert von 15 mg/m<sup>3</sup> festgesetzt. Dieser Nachtrag wurde erstellt, da neue Untersuchungen vorliegen, die eine Reevaluierung des MAK-Wertes und der Zuordnung zu einer Schwangerschaftsgruppe erfordern. Der vorliegende Nachtrag basiert in großen Teilen auf der Zusammenstellung der Daten durch die „Agency for Toxic Substances and Disease Registry“ (ATSDR 2002, 2009) und die „California Environmental Protection Agency“ (California EPA 2010). Aufgrund der Vielzahl an Untersuchungen werden vorwiegend die bewertungsrelevanten Studien beschrieben.

In den meisten Untersuchungen wurde die Substanz als „technisches“ Methoxychlor (Reinheit: 80–90%) eingesetzt, einige Untersuchungen liegen aber auch mit „Laborqualität“ (Reinheit: 98%) oder umkristallisiertem Methoxychlor (Reinheit: >99%) vor. In einigen In-vivo-Studien scheint „technisches“ Methoxychlor drei- bis viermal wirksamer bezüglich der Reproduktions- und Entwicklungstoxizität zu sein als reines Methoxychlor. Dies wird darauf zurückgeführt, dass Verunreinigungen im „technischen“ Methoxychlor, welche teilweise Metaboliten von Methoxychlor sind, direkt östrogen wirkende Substanzen sind. Methoxychlor selbst wirkt schwach östrogen (ATSDR 2002).

Sofern im Folgenden nicht spezifisch auf reines Methoxychlor oder „Laborqualität“ hingewiesen wurde, erfolgten die Studien mit „technischem“ Methoxychlor.

!-M

### 1 Allgemeiner Wirkungscharakter

Methoxychlor greift durch seine östrogene und antiandrogene Aktivität in das endokrine System ein.

Zielorgane nach wiederholter Gabe sind beim Tier männliche und weibliche Reproduktionsorgane, Immunsystem, Nervensystem sowie Leber und Nieren. Bei männlichen Ratten kommt es nach 28-tägiger oraler Gabe ab 20 mg/kg KG und Tag zu Atrophien des Acinus der Brustdrüsen und erhöhten T4(Thyroxin)-Konzentrationen. Hinweise auf Neurotoxizität werden nach 78-monatiger oraler Aufnahme ab 22 mg/kg KG und Tag beobachtet. In einer siebentägigen Schlundsondenstudie mit Untersuchungen an männlichen Ratten tritt ab 40 mg/kg KG und Tag eine verminderte Aktivität von P450<sub>scc</sub> (Cholesterin-Monooxygenase) in den Leydigzellen, sowie ein reduzierter Serum-Testosteron und -Dehydroepiandrosteron (DHEA)-Spiegel auf. In einer 2-Generationenstudie mit Gabe über das Futter sind ab 31 bzw. 44 mg/kg KG und Tag bei männlichen und weiblichen Ratten Futteraufnahme und Körpergewicht vermindert, bei den weiblichen Ratten ist der Östradiolspiegel erniedrigt.

Methoxychlor wirkt entwicklungstoxisch, betroffen sind die Reproduktionsorgane der Nachkommen. Bei Ratten treten ab 5 mg/kg KG und Tag (Schlundsonde) Effekte auf die sexuelle Entwicklung der Nachkommen auf, ab 44 mg/kg KG und Tag (Futter) eine reduzierte Zahl an Implantationen und Feten. Ab 17,8 mg/kg KG und Tag (Schlundsonde) werden Missbildungen beobachtet. Bei Kaninchen ist ab 35,5 mg/kg KG und Tag (Schlundsonde) die Körpergewichtszunahme bei den Feten erniedrigt und das Geschlechterverhältnis zu den weiblichen Tieren hin verschoben.

Es liegen keine Untersuchungen zur sensibilisierenden, haut- oder augenreizenden Wirkung vor. Nach chronischer dermaler Applikation an Mäuse wird nicht über Veränderungen der Haut berichtet.

In vitro wirkt Methoxychlor an Bakterien nicht mutagen. Ohne metabolische Aktivierung ist Methoxychlor in Säugerzellen von Mensch, Maus und Hamster nicht genotoxisch. Mit metabolischer Aktivierung sind TK<sup>+/-</sup> bzw. HPRT-Tests an Zellen von Mensch und Hamster negativ, ein TK<sup>+/-</sup>-Test an Mauslymphomzellen positiv. In-vivo-Genotoxizitätsstudien (DNA-Strangbrüche in der Rattenleber, Chromosomenaberrationen in Knochenmarkszellen oder Spermien der Maus) geben keinen Hinweis auf ein genotoxisches Potenzial, sind jedoch nicht bis zur maximal verträglichen Dosis durchgeführt worden.

Negativen Zelltransformationstests mit und ohne Zusatz eines metabolischen Aktivierungssystems an Zellen des Hamsters und der Ratte steht ein positives Ergebnis an Mausfibroblasten nach Zusatz eines metabolischen Aktivierungssystems entgegen.

Kanzerogenitätsstudien mit oraler Gabe an Ratten und Mäuse oder mit dermaler Gabe an Mäuse geben keinen Hinweis auf ein kanzerogenes Potenzial von Methoxychlor. Die Studien haben nur eine begrenzte Aussagekraft und entsprechen nicht den heutigen Prüfrichtlinien. Methoxychlor zeigt weder einen tumorpromovierenden Effekt an Brustdrüse oder Schilddrüse von Ratten noch an der Haut von Mäusen.

## 2 Wirkungsmechanismus

### Reproduktionstoxizität

Nach wiederholter oraler Gabe sind die Zielorgane männliche und weibliche Reproduktionsorgane, was aus der direkten endokrinen Aktivität von Methoxychlor und hormonellen Rückkopplungsmechanismen resultiert. So wird das Uterusgewicht durch die östrogene Wirkung erhöht, während das Testesgewicht reduziert wird, was vermutlich aus indirekten Effekten der Metaboliten auf das androgene Gewebe resultiert. Die Wirkung auf die Hypothalamus-Hypophysen-Achse (erhöhte Prolaktinwerte) männlicher Ratten scheint ein direkter Effekt zu sein und nicht durch einen testikulären Rückkopplungsmechanismus bedingt (California EPA 2010).

Methoxychlor selbst, vorwiegend aber seine demethylierten Metaboliten, besitzen östrogene und antiandrogene Aktivität. Der Wirkmechanismus scheint ähnlich wie der von  $17\beta$ -Östradiol zu sein. Die Bindung an den Östrogenrezeptor wurde in Tierversuchen und an humanem Gewebe nachgewiesen (California EPA 2010). In MCF-7-Zellen ist die Bindungsaffinität an den Östrogenrezeptor 10 000 bis 100 000-mal niedriger als die von Diethylstilbestrol (vom Saal et al. 1995).

Methoxychlor erhöht die Bindungsaffinität des EGF („epidermal growth factor“-) Rezeptors im Uterus von unreifen weiblichen Ratten. EGF und sein Rezeptor spielen eine Rolle als Mediator für Östrogen-induziertes zelluläres Wachstum und eventuell auch bei weiteren uterinen Funktionen (California EPA 2010).

Die veränderte Proteinsekretion in der uterinen Flüssigkeit während der Implantation und Trächtigkeit kann Ursache für die verminderte Fertilität sein (ATSDR 2002).

Es kann angenommen werden, dass Methoxychlor wie andere exogene Östrogene die Zahl der hepatischen Östrogenrezeptoren und dadurch den hepatischen Östrogenmetabolismus verändert (California EPA 2010).

Die endokrine bzw. östrogene Wirkung von Methoxychlor führt somit nach subchronischer oder chronischer Gabe an adulte Tiere zu einer Beeinträchtigung der Reproduktionsorgane und damit der Fertilität männlicher und weiblicher Tiere (California EPA 2010; siehe Abschnitt 5.5.1). Zudem hat der Stoff entwicklungstoxische Effekte nach Exposition von Nachkommen in utero, während oder nach der Laktationszeit zur Folge. Die Vielzahl von Mechanismen und Effekten, die strukturelle sowie funktionelle Bereiche und das Verhalten betreffen, sind detailliert in ATSDR (2002) dargestellt und werden hier nicht weiter aufgeführt.

Folgende nicht in ATSDR (2002) oder California EPA (2010) beschriebenen Untersuchungen weisen ebenfalls auf Mechanismen hin, die an der Störung der Reproduktionsorgane beteiligt sind.

Männlichen adulten Wistar-Ratten, denen einmalig oral 50 mg Methoxychlor/kg KG verabreicht wurde, zeigten in den Testes 6 bis 12 Stunden nach der Behandlung eine signifikante Reduktion von ABP („androgen binding protein“), StAR („steroidogenic acute regulatory protein“),  $3\beta$ -Hydroxysteroiddehydrogenase und der  $17\beta$ -Hydroxysteroiddehydrogenase, mit gleichzeitigem Anstieg des testikulären  $H_2O_2$ , was bekanntermaßen antisteroidogene Effekte anzeigt. Die Befunde waren nach 72 Stunden reversibel (Vaithinathan et al. 2008).

Die einmalige Gabe von 50 mg Methoxychlor/kg KG und Tag an adulte Ratten induzierte in den Testes zudem eine Veränderung der Konzentration von Stressproteinen,



## 4 Methoxychlor

Hitzeschockprotein (HSP), Clusterin und Parametern des oxidativen Stresses. Der NOAEL betrug 25 mg/kg KG und Tag (Vaithinathan et al. 2009).

Auch Untersuchungen an weiblichen Mäusen lassen vermuten, dass Methoxychlor durch oxidativen Stress eine Atresie der ovarialen Follikel verursacht. Nach 20-tägiger Gabe war ab 16 mg/kg KG und Tag die mitochondriale Atmung beeinträchtigt, ab 32 mg/kg KG und Tag der  $H_2O_2$ -Wert angestiegen, Nitrotyrosin und 8-Hydroxy-2'-deoxyguanosin in den antralen Follikeln waren erhöht sowie Expression und Aktivität von Superoxiddismutase (SOD1), Glutathionperoxidase und Katalase erniedrigt (Gupta et al. 2006).

### **Effekte auf die Reproduktionsorgane der Nachkommen**

Mehrere Untersuchungen zeigen toxische Effekte auf die Reproduktionsorgane der Nachkommen von weiblichen und männlichen Nagetieren, die oral gegen Methoxychlor exponiert waren (Chapin et al. 1997; Gray et al. 1989; Harris et al. 1974). Dabei war jedoch in keiner Studie die Exposition ausschließlich auf die Trächtigkeit beschränkt. Untersuchungen, ob Methoxychlor und seine Metaboliten die Plazenta passieren können, liegen nicht vor. Die Effekte auf die Nachkommen könnten also durch Methoxychlor und seine Metaboliten selbst (via Plazenta) oder indirekt durch gestörte physiologische Prozesse des Muttertiers verursacht werden. Da Methoxychlor und seine Metaboliten verglichen mit den Plasma-Werten in 25 bis 215% höheren Konzentrationen in der Milch von Ratten nachgewiesen wurden (Chapin et al. 1997), kann auch dieser Expositionsweg ursächlich sein (ATSDR 2002).

### **Neurotoxizität**

Wie DDT (Dichlordiphenyltrichlorethan) führt auch Methoxychlor dazu, dass nach einem Aktionspotential die Depolarisierung verstärkt und verlängert wird. Dadurch kommt es bei sehr hohen Dosierungen (1000 mg/kg KG und höher) zu Zittern und Krämpfen wie es auch in Studien mit wiederholter Gabe an Ratten und Hunde beobachtet wurde. Effekte auf das Verhalten traten in Untersuchungen an Ratten und Mäusen auf und sind im Gegensatz zu den zuvor beschriebenen neurologischen Effekten den Metaboliten mit östrogenen Wirkung zuzuschreiben (ATSDR 2002).

### **Enzyminduktion**

In der Rattenleber wurde eine Induktion der Enzyme Cytochrom-P450(CYP)2B und CYP3A festgestellt. Die Induktion des Metabolismus führte bei chronischer Exposition zu einer Verminderung der Effekte durch Methoxychlor selbst und zu einer Verstärkung der Effekte durch die Metaboliten, beispielsweise der östrogenen Wirkung, die vorwiegend den phenolischen Metaboliten zugeschrieben wird (California EPA 2010). Methoxychlor verändert zudem den Metabolismus der Schilddrüsenhormone durch eine Induktion des CYP-Enzymsystems in der Leber (California EPA 2010).

### **Proteinaddukte**

In-vitro-Untersuchungen mit Mikrosomen der Ratte oder des Menschen zeigen, dass durch CYP2B1 oder CYP2B2 reaktive Metaboliten aus Methoxychlor entstehen, die kovalente Addukte mit hepatischen mikrosomalen Proteinen bilden (ATSDR 2002).

### Sonstiges

Endokrin wirkende Substanzen stehen im Verdacht an der Entstehung von Tumoren von Mamma, Hoden und Prostata sowie der Endometriose beteiligt zu sein (ATSDR 2002).

## 3 Toxikokinetik und Metabolismus

### 3.1 Aufnahme, Verteilung, Ausscheidung

Methoxychlor wird schnell und effizient aus dem Gastrointestinaltrakt zu mehr als 90% und zu einem geringen Ausmaß über die Haut aufgenommen (California EPA 2010).

In Studien an Ziegen und Kühen finden sich für Methoxychlor dermale Resorptionsraten zwischen 5 und 20% (ATSDR 2002). Aus den in der Studie an Ziegen (Penetrationsrate 5 bzw. 8%) angegebenen Daten (aufgebrachte Menge 200 mg Methoxychlor in 1 ml Dichlormethan, Expositionsfläche 10 cm<sup>2</sup>, Expositionsdauer 72 Stunden, Wiederfindung von 8%) lässt sich ein Flux von maximal 22 µg pro cm<sup>2</sup> und Stunde errechnen (Davison et al. 1983) Die Durchführung der Studie entspricht dabei im Wesentlichen der OECD-Prüfrichtlinie 427.

Die dermale Aufnahme von Methoxychlor ist vermutlich ähnlich wie die des strukturverwandten DDT (Dichlordiphenyltrichlorethan), für das bei Rhesusaffen im Vergleich zu einer intravenösen Gabe bei Auftragung in Aceton dermale Penetrationsraten von 9–30% bestimmt wurden (Wester et al. 1990). Dieselben Autoren geben beim Menschen für die dermale Aufnahme von DDT In-vivo-Penetrationsraten von  $10,4 \pm 3,6\%$  an.

Methoxychlor wird im ganzen Körper verteilt und reichert sich im Fett an. Die Substanz wurde auch in Gehirn, Plazenta und Muttermilch nachgewiesen. Aufgrund der schnellen Demethylierung in der Leber, akkumuliert Methoxychlor nicht so stark wie andere insektizide chlorierte Kohlenwasserstoffe, beispielsweise DDT. Etwa 90% des oral gegebenen Methoxychlores werden von Mäusen als Metaboliten mit den Faeces ausgeschieden; etwa 10% der gesamten verabreichten Dosis mit dem Urin (ATSDR 2002; California EPA 2010; Kapoor et al. 1970). Die Ausscheidung ist bereits nach etwa einem Tag vollständig erfolgt (Kapoor et al. 1970).

Eine intravenös gegebene Dosis von 1 mg radioaktiv markiertem Methoxychlor wird von Ratten nach sechs Stunden zu 50% mit der Galle ausgeschieden. Bei Ratten ist die Ausscheidung langsamer als bei Mäusen: Nach 24 Stunden sind etwa 45% mit den Faeces und dem Urin ausgeschieden, nach 96 Stunden etwa 55% (Weikel 1957). Bei 18-wöchiger Verabreichung von Futter mit 100 mg Methoxychlor/kg kommt es nach neun Wochen zu einem Gehalt von 4 bis 7 mg Methoxychlor/kg Fettgewebe. Nach vier Wochen ist noch keine Anreicherung im Fett feststellbar, nach 18 Wochen beträgt der Gehalt 1 mg/kg Fettgewebe (Kunze et al. 1950). Somit scheint die Ratte Methoxychlor nur vorübergehend im Fett anzureichern.



## 6 Methoxychlor

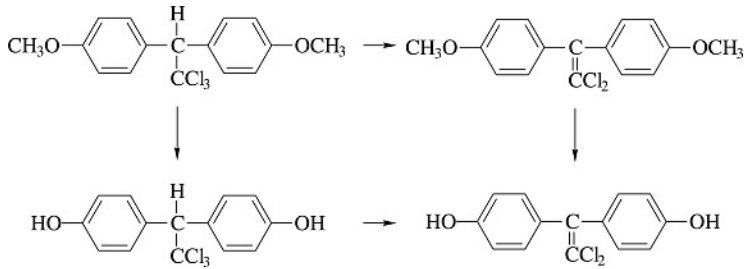


Abb. 1. Metabolismusschema von Methoxychlor (California EPA 2010)

### 3.2 Metabolismus

Methoxychlor wird in der Leber demethyliert, wobei besser wasserlösliche Phenolderivate entstehen, oder dechloriert und dehydrochloriert (siehe Abbildung 1; California EPA 2010).

## 4 Erfahrungen beim Menschen

### 4.1 Einmalige Exposition

Es liegen mehrere Fallberichte über die einmalige Einnahme von Methoxychlor-haltigen Handelsprodukten vor, aus denen keine klaren Zielorgane hervorgehen (California EPA 2010). Die geschätzte tödliche orale Dosis liegt beim Menschen bei ca. 450 g (ca. 6 g/kg KG; NLM 2006).

### 4.2 Wiederholte Exposition

Jeweils vier männliche und weibliche Probanden, die sechs Wochen lang täglich oral 2 mg Methoxychlor/kg KG aufgenommen hatten, wiesen keine substanzbedingten Befunde in histopathologischen Untersuchungen von Biopsien aus Leber, Dünndarm und Knochenmark auf. Auch hämatologische Untersuchungen waren ohne auffällige Befunde. Die Leberenzyme im Serum waren nicht verändert (ATSDR 2002; California EPA 2010).

In einer nur als Zusammenfassung vorliegenden Untersuchung wurden bei jeweils vier männlichen Probanden, die acht Wochen lang täglich oral 0; 0,5; 1,0 oder 2,0 mg Methoxychlor/kg KG und Tag erhalten hatten, keine Auffälligkeiten bei hämatologischen und biochemischen Parametern sowie der Urinanalyse festgestellt. Biopsien von Fettgewebe, Testes, Knochenmark, Leber und Dünndarm, die histochemisch, elektronenmikroskopisch und gaschromatographisch untersucht wurden, waren ohne auffälligen Befund (k. w. A.; Stein et al. 1965).

In einer weiteren Untersuchung mit sechswöchiger täglicher oraler Exposition von Probanden (k. w. A.) gegen 0,5; 1 oder 2 mg/kg KG und Tag wurden ebenfalls keine histopathologischen Veränderungen an Testes, Leber oder Dünndarm gefunden (Stein 1968).

### 4.3 Wirkungen auf Haut und Schleimhäute

Methoxychlor wirkt leicht hautreizend (NLM 2006).

### 4.4 Allergene Wirkung

Hierzu liegen keine Angaben vor.

### 4.5 Reproduktionstoxizität

In einer nur als Zusammenfassung veröffentlichten Untersuchung waren von jeweils vier männlichen Probanden, die acht Wochen lang, an sieben Tagen pro Woche oral 0; 0,5; 1,0 oder 2,0 mg Methoxychlor/kg KG und Tag zu sich genommen hatten, Biopsien der Testes, die histochemisch, elektronenmikroskopisch und gaschromatographisch untersucht wurden, ohne auffälligen Befund (k. w. A.; Stein et al. 1965).

In einer weiteren Untersuchung mit bis zu sechswöchiger, täglicher oraler Exposition (k. w. A.) gegen 0,5; 1 oder 2 mg/kg KG und Tag wurden ebenfalls keine histopathologischen Veränderungen der Testes bei 16 Probanden gefunden, von denen drei gegen die höchste Dosis von 2,0 mg Methoxychlor/kg KG exponiert waren. Der Zyklus von 16 Probandinnen, von denen vier gegen die höchste Dosis von 2,0 mg Methoxychlor/kg KG exponiert waren, war nicht beeinflusst. Eine Blutuntersuchung der 16 männlichen und 16 weiblichen Probanden war bei den Parametern Glucose, Harnstoff-Stickstoff, Harnsäure, Gesamt-Cholesterin, Natrium, Kalium, Gesamtprotein, Glutamat-Oxalacetat-Transaminase, Glutamat-Pyruvat-Transaminase, Laktat-Dehydrogenase sowie Alkalische und Saure Phosphatase ohne auffälligen Befund (California EPA 2010; Stein 1968; Wills 1969).

In Analogie zu den Tierexperimenten und Beobachtungen mit anderen östrogenen Substanzen wie Diethylstilbestrol ist zu vermuten, dass Effekte bei niedrigen Dosierungen nur dann zu beobachten sind, wenn die Probanden in sensitiveren Perioden exponiert werden, wie der Entwicklung und Reifung der Reproduktionsorgane (California EPA 2010). Untersuchungen hierzu liegen jedoch nicht vor.

### 4.6 Genotoxizität

Hierzu liegen keine Angaben vor.

## **8 Methoxychlor**

### **4.7 Kanzerogenität**

In einer Fall-Kontroll-Studie an Bauern in Iowa und Minnesota waren 11 von 578 Personen mit Leukämie und 16 von 1245 Kontrollen beruflich gegen Methoxychlor exponiert. Nach der Adjustierung für mehrere Faktoren wie Alter, Rauchen, familiäre Anamnese für Krebserkrankungen des lymphopoetischen Systems ergab sich ein Odds-Ratio von 2,2 (California EPA 2010). Da die Bauern vermutlich gegen verschiedene Pestizide exponiert gewesen sein dürften, ist die Studie nicht für die Bewertung von Methoxychlor geeignet.

In einer anderen Fall-Kontroll-Studie wurden das Risiko von Leukämien bei Kindern und die Exposition gegen persistente Organochlor-Verbindungen, einschließlich Methoxychlor, untersucht. Die Studie wurde in 35 Ländern in Nord- und Zentral-Kalifornien von 2001 bis 2006 durchgeführt. Sie beinhaltete 184 Fälle akuter lymphozytischer Leukämie bei bis zu 7-jährigen Kindern unter 212 registrierten Geburten. Die Studienautoren sammelten Teppich-Staubproben der Räume, in denen die Kinder die meiste Zeit verbrachten. Methoxychlor (arithmetisches Mittel 31,34 ng/g) wurde in Proben von 34 Haushalten mit Leukämie-Fällen und 50 Kontrollhaushalten nachgewiesen. Zwischen der Methoxychlor-Exposition und den Leukämiefällen war keine signifikant positive Assoziation zu finden (California EPA 2010; Ward et al. 2009).

Der Zusammenhang zwischen dem Vorkommen von Non-Hodgkin-Lymphomen bei Farmern, Waldarbeitern, Chemikern, Beschäftigten in der Kosmetikindustrie, Maschinisten, Malern, Druckern und Arbeitern mit Pestizid-, Petroleum-, Gummi- und PVC-Exposition wird in verschiedenen Reviews diskutiert (Blair und Freeman 2009; Chiu und Blair 2009; Dreiherr und Kordysh 2006; Mao et al. 2000; Miligi et al. 2006; Pearce und McLean 2005; Waddell et al. 2001; Weisenburger 1994). Aufgrund der Mischexpositionen in den zahlreichen epidemiologischen Studien können keine Rückschlüsse auf einen Zusammenhang zwischen der Exposition gegen Methoxychlor und der Entstehung von Non-Hodgkin-Lymphomen gezogen werden.

## **5 Tierexperimentelle Befunde und In-vitro-Untersuchungen**

### **5.1 Akute Toxizität**

#### **5.1.1 Inhalative Aufnahme**

Hierzu liegen keine Angaben vor.

#### **5.1.2 Orale Aufnahme**

Die akuten oralen LD<sub>50</sub>-Werte von rekristallisiertem und technischem Methoxychlor liegen bei Mäusen und Ratten im Bereich von 1850 bis 7000 mg/kg KG (Begründung 1972; ATSDR 2002; California EPA 2010). Hohe Dosierungen verursachen neurologische Effekte ähnlich denen von DDT und Typ-1-Pyrethroiden (Pyrethroide ohne alpha-Cyano-Gruppe) (California EPA 2010).



### 5.1.3 Dermale Aufnahme

Hierzu liegen keine Angaben vor.

## 5.2 Subakute, subchronische und chronische Toxizität

### 5.2.1 Inhalative Aufnahme

Von zwei Kaninchen, die vier Wochen lang, an fünf Tagen pro Woche für zwei Stunden täglich gegen 430 mg Methoxychlor/m<sup>3</sup> exponiert worden waren, hatte ein Tier Lähmungen der Vorderbeine und verstreute Knoten im zerebralen Cortex (k. w. A.; Begründung 1972; ATSDR 2002). Die Studie ist wegen der geringen Tierzahl, nur einer getesteten Methoxychlor-Konzentration und des geringen Untersuchungsumfangs nicht aussagekräftig.

### 5.2.2 Orale Aufnahme

Zur oralen Aufnahme liegen zahlreiche Studien vor, die im Einzelnen hier nicht aufgeführt werden. Eine Übersicht ist in der Zusammenstellung der Daten durch die „Agency for Toxic Substances and Disease Registry“ (ATSDR 2002) zu finden. Die Zielorgane sind das Reproduktionssystem männlicher und weiblicher Tiere sowie Leber, Nieren, Immunsystem und Nervensystem (ATSDR 2002; California EPA 2010). Im Gegensatz zu DDT führt Methoxychlor nur zu geringer Enzyminduktion bei chronischer Exposition, was auf die schnellere Metabolisierung zurückzuführen ist (California EPA 2010).

Die bewertungsrelevanten Studien zur Ableitung eines NOAEL nach wiederholter oraler Gabe sind in Tabelle 1 dargestellt.

#### Weibliche Ratte

Bei weiblichen Ratten wurde über vorzeitige Vaginalöffnung und verfrühten ersten Östrus, Atrophie der Ovarien, Anstieg des Uterus- und Vaginalgewichts, unregelmäßigen Östruszyklus sowie eine verminderte Ovulationsrate berichtet (California EPA 2010).

Im Einzelnen traten die Befunde ab folgenden Dosierungen auf:

Eine verminderte Anzahl an Östruszyklen bei Long-Evans-Ratten wurde in einer 25-Tage-Schlundsondenstudie ab 50 mg/kg KG und Tag beobachtet (Reinheit: 95%; Laws et al. 2000). Ein NOAEL kann aus dieser Studie nicht abgeleitet werden.

In einer 28-Tage-Schlundsondenstudie wurde ein verlängerter Östruszyklus ab 100 mg/kg KG und Tag („Laborqualität“; Reinheit: 98%) berichtet, der NOAEL beträgt 20 mg/kg KG und Tag (Okazaki et al. 2001).

In einer 28-Tage-Studie trat ab 100 mg/kg KG und Tag ein vermindertes Ovariengewicht, Atrophie der Ovarien, Proliferation des Brustdrüsen-Acinus, eine Reduktion der Follikel und Corpora lutea sowie eine Hypertrophie des Endometriums des Uterus und des Vaginalepithels auf. Veränderungen im Hormonstatus waren ein Anstieg von T3 (Triiodthyronin) und eine Verminderung von LH (luteinisierendes Hormon). Der NOAEL beträgt 20 mg/kg KG und Tag (Okazaki et al. 2001).



## 10 Methoxychlor

Tab. 1. Effekte von Methoxychlor nach wiederholter oraler Verabreichung

Spezies, Stamm, Anzahl pro Gruppe	Dauer, Dosis	Befunde	Literatur
<b>Ratte,</b> Wistar, 4 ♂	<b>1, 4, 7 Tage,</b> 0, 50, 100, 200 mg/kg KG und Tag, Schlundsonde, Reinheit: 95%	<b>ab 50 mg/kg KG (4. Tag):</b> LOAEL, Nebenhoden: Spermienmotilität ↓, Katalase ↓, SOD ↓, Glutathionreduktase ↓, GPX ↓, H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ↑, Lipidperoxidation ↑; <b>ab 50 mg/kg KG (7. Tag):</b> Nebenhoden-, Samenbläschen- und ventrales Prostata- Gewicht ↓; <b>200 mg/kg KG (7. Tag):</b> Nebenhoden: Spermienzahl ↓	Latchoumy- candane et al. 2002
<b>Ratte,</b> Sprague Dawley, 13 ♀	<b>7 Tage,</b> 0, 5, 40, 200 mg/kg KG und Tag, Schlundsonde, Reinheit: „Laborquali- tät“, k. w. A.	<b>5 mg/kg KG:</b> NOAEL; <b>ab 40 mg/kg KG:</b> P450scc-Aktivität in Leydigzellen ↓, Serum-Testosteron- und Serum-DHEA-Spiegel ↓ (nicht signifikant); <b>ab 200 mg/kg KG:</b> KG ↓ (6%), Samenbläs- chen Nass- und Trockengewicht 44 bzw. 66% ↓; Serum-Testosteron- und Serum- DHEA-Spiegel 41% bzw. 45% ↓; Testoste- ronproduktion der Leydigzellen um 49% ↓	Murono et al. 2006
<b>Ratte,</b> Long Evans, 10 ♀	<b>25 Tage,</b> 0, 50 mg/kg KG und Tag, Schlundsonde, in Maiskeimöl, Reinheit: 95%	<b>50 mg/kg KG:</b> LOAEL, ♀: reduzierte Östruszyklen	Laws et al. 2000
<b>Ratte,</b> Crj:CD(SD) IGS, je 10 ♂/♀	<b>28 Tage,</b> 0, 20, 100, 500 mg/kg KG und Tag, 5 Tage/ Wo, Schlundsonde, in Maiskeimöl, Reinheit: „Laborqualität“, 98%; OECD-Prüfrichtlinie 407	<b>ab 20 mg/kg KG:</b> LOAEL, ♂: Atrophie des Brustdrüsen-Acinus (signifikant ab 100 mg/kg KG; 0, 3, 9, 9 Tiere bei 0, 20, 100, 500 mg/kg KG); T4 ↑ (nicht signifi- kant bei 500 mg/kg KG: 4,7; 5,7; 5,8; 5,4 µg/dl bei 0, 20, 100, 500 mg/kg KG); ♀: NOAEL; <b>ab 100 mg/kg KG:</b> ♂/♀: Hepatozyten- u. Nebennierenhypertrophie; ♂: KG-Zunahme ↓, Futteraufnahme ↓, Prostata, Samenbläs- chen u. Koagulationsdrüse: Atrophie und rel. Gewicht ↓, rel. Nebennierengewicht ↑, Se- rum: Glucose ↓, Prolaktin ↑; ♀: verlängerter Östruszyklus, rel. Ovariengewicht ↓, Prolife- ration des Brustdrüsen-Acinus, Atrophie des Ovar durch ↓ Follikel u. Corpora lutea, Hy- pertrophie des Endometriums und Vaginal- epithels, Serum: T3 ↑, LH ↓, Cholesterin ↓; <b>500 mg/kg KG:</b> ♂/♀: abnormale Reaktionen in neurologischen Tests; rel. Lebergewicht ↑, rel. Thymusgewicht ↓, Serum: GPX ↑, γ- GPX ↑; ♂: rel. Testes- u. Epididymisgewicht ↓, Thymusatrophie, Atrophie der Hodenka-	Okazaki et al. 2001

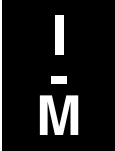
Tab. 1. Fortsetzung

Spezies, Stamm, Anzahl pro Gruppe	Dauer, Dosis	Befunde	Literatur
		nälchen, Leydigzellen u. Epididymis, histo- pat hol. Veränderungen an Nieren (basophile Tubuli, Dilatationen, Zylinder) und Hypo- physe, Spermienanzahl u. -beweglichkeit ↓, Serum: T3 ↑, TSH ↑, FSH ↑, Testosteron ↓, Retikulozyten u. Blutplättchen ↓, Phospholi- pid ↑, Albumin ↓;♀: rel. Nieren- u. Nebennie- rengewicht ↑, Hypertrophie des Uterus, Se- rum: T4 ↑, ALP ↑, Triglyceride ↑, Bilirubin ↑, Glucose ↓	
<b>Ratte,</b> Sprague Dawley, 17–25 ♀	<b>6 Wochen,</b> 0, 1000, 2500, 5000 mg/ kg Futter (ca. 65, 160 bzw. 320 mg/kg KG und Tag unter der Annahme eines Körpergewichtes von 250 g), Reinheit: 90%	<b>65 mg/kg KG: LOAEL,</b> ♀: abs. und rel. Ovariengewicht ↑	Harris et al. 1974
<b>Ratte,</b> Sprague Dawley, je 24 ♂/♀	<b>10 Wochen vor und 7 Wochen nach der Verpaarung</b> (s. auch Tabelle 3), 0, 10, 500, 1500 mg/kg Futter (♂: 0; 0,6; 31; 96 mg/kg KG und Tag; ♀: 0; 0,9; 44; 122 mg/kg KG und Tag)	<b>0,9 mg/kg KG: NOAEL;</b> <b>ab 31/44 mg/kg KG:</b> KG-Zunahme, Futter- konsum ↓; Östradiolkonz. im Serum ↓; <b>122 mg/kg KG:</b> abs. u. rel. Uterusgewicht ↓; verlängerter Östrus; F1: Fertilitätsindex (Zahl der befruchteten ♀/Zahl der begatteten ♀ x 100) 45,5% (Kontrolle 95%)	Aoyama et al. 2012
<b>Maus,</b> CWF, 5 ♀	<b>5, 50, 100, 260 Tage oder 260 Tage</b> und 40 Tage Nachbeobachtung, 60 mg/kg KG und Tag, Schlundsonde	<b>60 mg/kg KG:</b> Epithelrückbildung der Sa- menkanälchen ab 50. Tag, verminderter Durchmesser der Samenkanälchen ab 100. Tag, Zunahme der Nuklei-Volumen der Leydigzellen ab 260. Tag; alle Effekte nicht reversibel in der Nachbe- obachtungszeit	Wenda-Róze- wicka 1984

ALP: Alkalische Phosphatase; DHEA: Dehydroepiandrosteron; FSH: follikelstimulierendes Hormon; GPX: Glutathionperoxidase; LH: luteinisierendes Hormon; P450scc: P450 „Cholesterol side-chain cleavage“, Cholesterin-Monooxygenase; SOD: Superoxiddismutase; T3: Triiodthyronin; T4: Thyroxin; TSH: Thyroidea stimulierendes Hormon

Männliche Ratte

Folgende Effekte auf die männlichen Reproduktionsorgane wurden berichtet: verzögerte sexuelle Reife, vermindertes Testesgewicht, Degenerationen der Testes, Atrophie von Nebenhoden, Prostata und Samenbläschen, beeinträchtigte (testikuläre) Steroidogenese sowie verminderte Nebenhoden-Spermienzahl und -Vitalität (California EPA 2010).



## 12 Methoxychlor

Im Einzelnen traten die Befunde ab folgenden Dosierungen auf:

Nach 28-tägiger Gabe an Ratten wurde ab 20 mg/kg KG und Tag (signifikant ab 100 mg/kg KG und Tag) eine Atrophie des Acinus der Brustdrüsen berichtet („Laborqualität“; Reinheit: 98%; Okazaki et al. 2001).

Die siebentägige Schlundsondengabe an 48 Tage alte männliche Ratten führte ab 40 mg/kg KG und Tag zu einer dosisabhängig verminderten Aktivität von P450<sub>scc</sub> (P450 „cholesterol side-chain cleavage“, Cholesterin-Monooxygenase) in den Leydigzellen. Ab 40 mg/kg KG und Tag war auch ein reduzierter Serum-Testosteron und -DHEA (Dehydroepiandrosteron)-Spiegel zu sehen, beides war aber erst ab 200 mg/kg KG und Tag signifikant. Der NOAEL betrug 5 mg/kg KG und Tag („Laborqualität“, k. w. A.; Murono et al. 2006).

Ab siebentägiger Gabe, nicht aber nach einem Tag oder nach vier Tagen, verursachte die orale Gabe von 50 mg/kg KG und Tag (Reinheit: 95%) an adulte männliche Wistar-Ratten ein signifikant vermindertes Gewicht von Nebenhoden, Samenbläschen und der ventralen Prostata (Latchoumycandane et al. 2002). In einer 28-Tage-Studie wurden ab 100 mg/kg KG und Tag, nicht aber bei 20 mg/kg KG und Tag ein reduziertes Gewicht und Atrophie von Prostata, Samenbläschen und Koagulationsdrüse beobachtet („Laborqualität“; Reinheit: 98%; Okazaki et al. 2001).

Nach vier und sieben Tagen war die Spermienmotilität dosisabhängig ab der niedrigsten untersuchten Dosis von 50 mg/kg KG und Tag (Reinheit: 95%) signifikant vermindert, die Aktivitäten von Katalase, Superoxiddismutase, Glutathionreduktase und Glutathionperoxidase in den Nebenhoden waren vermindert, während der Spiegel an H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> und die Lipidperoxidation erhöht waren (Latchoumycandane et al. 2002).

Bei männlichen Ratten wurden in einer 28-Tage-Studie ab 100 mg/kg KG und Tag erhöhte Prolaktinergehalte in der Hypophyse bestimmt, nicht aber bei 20 mg/kg KG und Tag („Laborqualität“; Reinheit: 98%; Okazaki et al. 2001).

Nach siebentägiger Gabe von 200 mg/kg KG und Tag an Ratten kam es zu reduziertem Testosteron in den Leydigzellen („Laborqualität“; k. w. A. zur Reinheit; Murono et al. 2006) und verminderter Spermienzahl (Latchoumycandane et al. 2002). Auch nach 28 Tagen traten an Ratten ab 500 mg/kg KG und Tag erniedrigte Spermienzahlen sowie Atrophien der Hodenkanälchen und Leydigzellen auf („Laborqualität“; Reinheit: 98%; Okazaki et al. 2001).

Ein vermindertes Testesgewicht wurde bei männlichen Ratten ab 500 mg/kg KG und Tag festgestellt („Laborqualität“; Reinheit: 98%; Okazaki et al. 2001).

Ab 500 mg/kg KG und Tag waren nach 28-tägiger Gabe die Serum-FSH (follikelstimulierendes Hormon) und TSH (Thyroidea stimulierendes Hormon)-Werte erhöht („Laborqualität“; Reinheit: 98%; Okazaki et al. 2001).

### Ableitung eines NOAEL

#### Ratte

In einer Studie zur immuntoxischen Wirkung (siehe Abschnitt 5.5.2) zeigten trächtige Sprague-Dawley-Ratten, die 65 bis 72 Tage lang, beginnend am 7. Gestationstag, mit ca. 0; 0,5; 5 oder 50 mg/kg KG und Tag im Futter behandelt wurden, ab 50 mg/kg KG eine um 43 bis 64% erhöhte Aktivität der natürlichen Killerzellen und eine um 24% verminderte Anzahl der Milz-B-Zellen. Der NOAEL beträgt 5 mg/kg KG und Tag (NTP 1997). Zur Reinheit der Substanz und zur Tierzahl liegen keine Angaben vor.

Der NOAEL für die Effekte an Reproduktionsorganen der weiblichen erwachsenen Ratte beträgt 20 mg/kg KG und Tag (Okazaki et al. 2001). Bei juvenilen Ratten hingegen waren schon ab 12,5 mg/kg KG und Tag nach Behandlung ab dem 21. Postnataltag verfrühte Vaginalöffnung, verlängerte Zykluslänge und verminderte Körpergewichtszunahme der weiblichen Tiere zu beobachten. Ein NOAEL konnte nicht abgeleitet werden (NTP 2004; siehe Abschnitt 5.5.2, postnatale Exposition ab dem 21. PND).

Bei männlichen Ratten traten in einer 28-Tage-Studie ab 20 mg/kg KG und Tag Atrophien des Acinus der Brustdrüse auf, die bei 100 mg/kg KG und Tag, der nächsthöheren Dosis, statistisch signifikant waren. Ab 20 mg/kg KG und Tag war im Serum der Spiegel von T4 (Thyroxin) signifikant erhöht (Okazaki et al. 2001). Aus dieser Studie kann kein NOAEL abgeleitet werden. Der NOAEL liegt jedoch vermutlich nicht wesentlich unterhalb von 20 mg/kg KG und Tag, da bei dieser Dosis die Effekte nur schwach ausgeprägt waren.

Aus einer nur siebentägigen Studie mit Untersuchungen des Hormonstatus an männlichen Tieren ergibt sich ein NOAEL von 5 mg/kg KG und Tag (Muroño et al. 2006); weibliche Tiere wurden in dieser Studie nicht untersucht.

Erniedrigte Östradiolspiegel zeigten sich in der 2-Generationenstudie ab 44 mg/kg KG und Tag. Die Östradiolkonzentration im Serum war bei der weiblichen P-Generation während des Proöstrus von 31,7 pg/ml in der Kontrolle auf 17,1 pg/ml in der mittleren Dosisgruppe und auf 15,6 pg/ml in der hohen Dosisgruppe reduziert. Bei beiden Geschlechtern waren in dieser Untersuchung die Futteraufnahme und das Körpergewicht reduziert (Aoyama et al. 2012). Aus der Studie ergibt sich ein NOAEL von 0,9 mg/kg KG und Tag und ein LOAEL von 31 bzw. 44 mg/kg KG und Tag für männliche und weibliche Ratten.

## Maus

Bei männlichen CFW-Mäusen wurde nach oraler Gabe von 60 mg/kg KG und Tag ab dem 50. Tag eine Epithelrückbildung der Samenkanälchen, ab dem 100. Tag ein verminderter Durchmesser der Samenkanälchen und ab dem 260. Tag eine Zunahme der Nuklei-Volumen der Leydigzellen beobachtet (Wenda-Rózewicka 1984). Ein NOAEL kann aus der Studie nicht abgeleitet werden.

### 5.2.3 Dermale Aufnahme

In einer 2-Jahre-Studie an Mäusen aus den 1960er Jahren (siehe auch Abschnitt 5.7.2), denen zwei Jahre lang, einmal pro Woche, 10 mg rekristallisiertes Methoxychlor/kg KG auf die Haut appliziert worden war, wurde keine erhöhte Mortalität beobachtet. Bei der ausschließlich makroskopischen Untersuchung der Organe wurden keine Auffälligkeiten gefunden (k. w. A.; ATSDR 2002).

## 5.3 Wirkung auf Haut und Schleimhäute

### 5.3.1 Haut

In einer dermalen 2-Jahre-Studie an Mäusen wurde nicht über makroskopische und histopathologische Veränderungen der Haut berichtet (siehe auch Abschnitt 5.7.2).

## **14 Methoxychlor**

### **5.3.2 Auge**

Hierzu liegen keine Untersuchungen vor.

### **5.4 Allergene Wirkung**

Hierzu liegen keine Angaben vor.

### **5.5 Reproduktionstoxizität**

#### **5.5.1 Fertilität**

Methoxychlor führt zu zahlreichen Effekten, die strukturelle und funktionelle Bereiche der Reproduktionsorgane betreffen und detailliert in ATSDR (2002) dargestellt sind. Es werden bei männlichen und weiblichen Ratten und Mäusen histopathologische Veränderungen der Reproduktionsorgane und akzessorischer Drüsen, Beeinträchtigungen der pubertären Entwicklung, der Reproduktion, veränderte Hormonspiegel und Veränderungen bei einer großen Vielfalt endokrin-bedingter Parameter wie auch des Sexualverhaltens beobachtet. Diese Effekte sind Ergebnis der östrogenen Wirkung der demethylierten Metaboliten von Methoxychlor und einiger demethylierter Kontaminanten des „technischen“ Methoxychlors, jedoch weniger von Methoxychlor selbst, das eine geringere Affinität zum Östrogenrezeptor hat (ATSDR 2002; California EPA 2010). In diesem Abschnitt werden die für die Ableitung eines Grenzwertes relevanten Untersuchungen zur Fertilität dargestellt. Die Effekte auf die Reproduktionsorgane nach oraler Aufnahme sind auch im Abschnitt 5.2.2 dargestellt.

#### **Effekte auf die Fertilität männlicher Tiere**

##### **Ratte**

Je fünf männliche Wistar-Ratten wurden 70 Tage lang, je zehn weibliche Wistar-Ratten 14 Tage lang per Schlundsonde gegen 0, 100 oder 200 mg/kg KG und Tag vor der Verpaarung exponiert, anschließend 15 Tage lang wie zuvor weiterbehandelt und verpaart. Bei der Schnittentbindung jeweils der Hälfte der Tiere am 13. oder 21. Gestationstag wurden keine Implantationen nachgewiesen. Die Tiere wiesen zahlreiche histopathologische Befunde an den Reproduktionsorganen auf. Methoxychlor hemmte die Spermatogenese (Bal 1984).

Die tägliche, acht Wochen andauernde Schlundsondengabe von 0, 25, 50, 100 oder 200 mg/kg KG und Tag an weibliche und männliche Long-Evans-Ratten ab dem Alter von drei Wochen führte in der letzten Behandlungswoche ab 25 mg/kg KG und Tag bei männlichen Tieren zu einer signifikant reduzierten Körpergewichtszunahme. Die behandelten Tiere wurden untereinander verpaart. Mit steigender Dosis traten die folgenden Effekte früher auf: Ab 25 mg/kg KG und Tag waren die Prolaktin-Werte pro mg Hypophyse erhöht. Ab 50 mg/kg KG und Tag war das Gewicht der Cauda epididymis, der Samenbläschen und die Zahl der Spermien in der Cauda epididymis signifikant reduziert. Ab 100 mg/kg KG und Tag waren das absolute Leber-, Nieren- und Neben-

nierengewicht reduziert, die FSH- und TSH-Konzentration in der Hypophyse erhöht. Die LH-Werte hingegen waren unbeeinflusst. Der Zeitpunkt der Präputialseparation war verzögert. Bei 200 mg/kg KG und Tag war das Testesgewicht um 11% und das Hypophysengewicht um 19% verringert. Histologisch wiesen zwei Tiere eine reduzierte Spermatogenese ohne degenerative Veränderungen der Hoden auf. Spermienmotilität und Spermienmorphologie waren durch die Behandlung nicht beeinträchtigt. Wurden behandelte Ratten mit unbehandelten weiblichen Tieren verpaart, zeigte sich kein Effekt auf die Fertilität und die Zahl der Implantationen (Gray et al. 1989). Der NOAEL für Effekte auf die Fertilität betrug 25 mg/kg KG und Tag; ein NOAEL für systemische Toxizität kann nicht abgeleitet werden, da ab 25 mg/kg KG und Tag das Körpergewicht reduziert und die Prolaktin-Werte in der Hypophyse erhöht waren. Aufgrund der bereits ab der dritten Lebenswoche beginnenden Exposition sind die Ergebnisse zur Beurteilung der Exposition am Arbeitsplatz des Menschen nicht relevant und werden daher nicht zur Bewertung herangezogen.

### **Maus**

Nach 100-tägiger Gabe von 60 mg Methoxychlor/kg KG und Tag an männliche Mäuse wurden diese mit 30 weiblichen Tieren verpaart. Nach 31 Tagen war ein Tier tragend. Der Wurf von sechs Tieren bestand aus drei Totgeburten, die anderen drei Tiere starben innerhalb von 24 Stunden (Wenda-Rózewicka 1984).

### **Effekte auf die Fertilität weiblicher Tiere**

#### **Ratte**

Weibliche Sprague-Dawley-Ratten erhielten sechs Wochen lang Futter mit 0, 1000, 2500 oder 5000 mg Methoxychlor/kg (Reinheit: 90%). Die Futteraufnahme betrug 16 g pro Ratte und Tag, das Körpergewicht ist nicht angegeben. Bei einem Gewicht von 250 g ergibt sich eine Aufnahme von ca. 65, 160 bzw. 320 mg/kg KG und Tag. Ab 1000 mg/kg Futter waren zum Zeitpunkt der Verpaarung das absolute und relative Ovariengewicht erhöht. Die Tiere wurden anschließend mit unbehandelten männlichen Tieren zwei Wochen lang verpaart und bis zum Ende der Trächtigkeit weiterbehandelt. Ab 2500 mg/kg Futter waren die Verpaarungsrate, die Trächtigkeitsrate, die Anzahl der Implantationen und Würfe reduziert. Bei den weiblichen Nachkommen kam es ab 1000 mg/kg Futter zu einer vorzeitigen Vaginalöffnung am 23. Tag, (39. Tag in der Kontrolle) (Harris et al. 1974). Der NOAEL dieser Untersuchung für die Fertilität und der LOAEL für die Entwicklungstoxizität betrugen 1000 mg/kg Futter (ca. 65 mg/kg KG und Tag).

Eine Untersuchung mit oraler Gabe von 100 bis 500 mg/kg KG und Tag an Ratten vom 1. bis zum 3. Gestationstag zeigte ab 100 mg/kg KG und Tag einen beschleunigten Embryotransport in den Uterus, der vermutlich die Ursache der beobachteten Präimplantationsverluste war, die ab 200 mg/kg KG und Tag beobachtet wurden. Die Zahl der Corpora lutea war nicht verändert (Cummings und Gray 1989; Cummings und Perreault 1990).

Jeweils fünf männliche Wistar-Ratten wurden 70 Tage lang, je zehn weibliche Wistar-Ratten 14 Tage lang per Schlundsonde mit 0, 100 oder 200 mg/kg KG und Tag behandelt und anschließend 15 Tage lang wie zuvor weiterbehandelt und verpaart. Bei einer Untersuchung am 13. oder 21. Gestationstag (jeweils die Hälfte der Tiere untersucht) wurden keine Implantationen nachgewiesen. Die Elterntiere wiesen zahlreiche histopa-

## 16 Methoxychlor

thologische Befunde an den Reproduktionsorganen auf. Methoxychlor hemmte die Follikelgenese (Bal 1984).

Die acht Wochen dauernde tägliche Schlundsondengabe von 0, 25, 50, 100 oder 200 mg/kg KG und Tag an weibliche und männliche Long-Evans-Ratten ab dem Alter von drei Wochen führte bei weiblichen Ratten ab 25 mg/kg KG und Tag zu vorzeitiger Vaginalöffnung und verfrühtem Einsetzen des Östruszyklus. Ab 50 mg/kg KG und Tag bewirkte Methoxychlor eine erhöhte Anzahl verhornter Zellen im Vaginalausstrich und ein erhöhtes Fetengewicht am ersten Postnataltag. Ab 100 mg/kg KG und ab einwöchiger Behandlung waren die Körpergewichtszunahme und die absoluten Hypophysen-, Nebennieren- und Ovariengewichte reduziert. Nach Verpaarung behandelter Tiere nahmen die Fertilitätsrate, die Zahl der Implantationen pro Tier und die Zahl der lebenden Feten am ersten und fünften Postnataltag signifikant ab. Histologisch zeigte sich eine Abnahme der Zahl der Corpora lutea, eine erhöhte Zahl an Granulosa-Theca-Zellen im Zellzwischenraum sowie an atresischen Follikeln. Bei 200 mg/kg KG und Tag war außerdem der Pubertätsbeginn verzögert, und keines der Tiere wurde trächtig. Wurden behandelte weibliche Ratten mit unbehandelten männlichen Tieren verpaart, war die Fertilitätsrate bei 100 mg/kg KG und Tag um 40% reduziert, und es fanden sich ab 200 mg/kg KG und Tag keine Corpora lutea (Gray et al. 1989). Der LOAEL für die Fertilität beträgt 25 mg/kg KG und Tag, ein NOAEL kann nicht abgeleitet werden. Wie oben schon beschrieben kann die Studie aufgrund der bereits ab der dritten Lebenswoche beginnenden Exposition nicht zur Bewertung des Stoffs bei Arbeitsplatzexposition herangezogen werden.

Jeweils 15 weibliche junge Sprague-Dawley-Ratten wurden vom 22. bis 42. oder 43. Postnataltag per Schlundsonde mit 0; 12,5; 25 oder 50 mg Methoxychlor/kg KG und Tag behandelt und anschließend histopathologisch untersucht. Der Zeitpunkt der Vaginalöffnung war mit 27,9; 27,0 und 26,5 Tagen bei 12,5; 25 bzw. 50 mg/kg und Tag im Vergleich zur Kontrolle mit 31,9 Tagen deutlich verfrüht. Das Körpergewicht der weiblichen Tiere war zum Zeitpunkt der Vaginalöffnung reduziert. Die Zyklusdauer war ab 25 mg Methoxychlor/kg KG und Tag verlängert und der Anteil an irregulären Zyklen nahm mit steigender Dosis zu. Die absoluten Organgewichte von Leber, Ovarien und Hypophyse waren bei 50 mg/kg KG und Tag signifikant reduziert (NTP 2004). Der LOAEL für Fertilität betrug 12,5 mg/kg KG und Tag. Auch diese Untersuchung kann aufgrund der bereits ab der dritten Lebenswoche beginnenden Exposition nicht zur Bewertung des Stoffs bei Arbeitsplatzexposition herangezogen werden.

### Kaninchen

Nach Behandlung von je 17 Weißen Neuseeländer-Kaninchen per Schlundsonde mit 0; 5; 35,5 oder 251 mg/kg KG und Tag vom 7. bis zum 19. Gestationstag zeigten sich bei den Muttertieren ab 35,5 mg/kg KG und Tag Effekte auf Leber- und Körpergewicht. Außerdem nahm die Zahl der Aborte und der späten Resorptionen zu. Bei den Nachkommen war das fetale Körpergewicht um 11% reduziert und das Geschlechterverhältnis verschoben (weniger männliche Kaninchen). Der NOAEL für Fertilität betrug 5 mg/kg KG und Tag (Original liegt nicht vor; ATSDR 2002).

### Generationenstudien

Aus einer 3-Generationenstudie wurde ein NOAEL bei der weiblichen Ratte von 18 mg/kg KG und Tag und ein LOAEL von 79 mg/kg KG und Tag aufgrund von erniedrigten Fertilitätsraten abgeleitet (k. w. A.; ATSDR 2002).



In einer 2-Generationenstudie nach OECD-Prüfrichtlinie 416 wurden je 24 männliche und weibliche Sprague-Dawley-Ratten mit 0, 10, 500, 1500 mg/kg Futter, beginnend zehn Wochen vor der Verpaarung und bis zum Ende der Laktation behandelt. Die durchschnittliche Aufnahme von Methoxychlor wurde mittels des mittleren Körpergewichts und des Futterkonsums für die männlichen Tiere bestimmt; sie betrug 0; 0,6; 31 bzw. 96 mg/kg KG und Tag in der P-Generation und 0,6; 33 bzw. 105 mg/kg KG und Tag in der F1-Generation bei 0, 10, 500 oder 1500 mg Methoxychlor/kg Futter. Für die weiblichen Tiere ergaben sich in der P-Generation 0; 0,9; 44 bzw. 122 mg/kg KG und Tag und in der F1-Generation 0; 0,9; 45 bzw. 133 mg/kg KG und Tag (Aoyama et al. 2012). Als niedrigste Dosis wurde 10 statt 50 mg/kg Futter gewählt, weil in einer anderen Untersuchung (Chapin et al. 1997) bei oraler Gabe von 5 mg/kg KG und Tag (entspricht 50 mg/kg Futter) per Schlundsonde Effekte auf die Reproduktionsorgane bei den weiblichen Nachkommen (vorzeitige Vaginalöffnung, unregelmäßiger Östrus, Dysplasie des Uterus) aufgetreten waren. Ab der mittleren Dosisgruppe waren in der P-Generation und bei den F1-Elterntieren die Körpergewichtszunahme und der Futterkonsum erniedrigt. In der F1-Generation trat zusätzlich Haarverlust auf. Bei der männlichen P- und der F1-Generation waren ab der mittleren Dosisgruppe die absoluten Gewichte der Hypophyse, der Hoden und Nebenhoden reduziert, nicht aber die relativen Organgewichte. In der hohen Dosisgruppe der männlichen P- und F1-Elterntiere waren das absolute und relative Gewicht der Samenbläschen und der Prostata sowie die Zahl der Spermien in Hoden und Nebenhoden reduziert. Histopathologisch zeigte sich eine Atrophie der Samenbläschen und der Prostata, wohingegen keine histopathologischen Veränderungen in den Hoden, Nebenhoden und der Hypophyse festzustellen war. Bei der weiblichen P- und F1-Elterneneration war ab der mittleren Dosisgruppe nur das absolute, nicht aber das relative Hypophysen- und Ovariengewicht verringert; in der hohen Dosisgruppe war zudem die Zahl an follikulären Zysten erhöht. In der hohen Dosisgruppe waren nur in der P-Generation das absolute und das relative Uterusgewicht erhöht. Die Östradiolkonzentration im Serum war bei der weiblichen P-Generation während des Proöstrus von 31,7 pg/ml in der Kontrolle auf 17,1 pg/ml in der mittleren Dosisgruppe und auf 15,6 pg/ml in der hohen Dosisgruppe reduziert. Andere Hormonwerte (LH, FSH, Testosteron, Prolaktin, Progesteron) waren bei den weiblichen und männlichen Tieren der P-Generation nicht verändert. Ab der mittleren Dosisgruppe nahmen die Zahl der Implantationen und die Zahl der lebenden Nachkommen ab, und es zeigte sich in der F1-Elterneneration ein verlängerter Östruszyklus, der in der P-Generation erst in der hohen Dosisgruppe auftrat. Zudem wurde in der hohen Dosisgruppe für die F1-Eltern-Generation ein erniedrigter Fertilitätsindex von 45,5% festgestellt (Kontrolle 95%). Die Tiere, deren Verpaarung nicht zur Trächtigkeit führte, wurden mit unbehandelten Ratten nochmals verpaart und die trächtigen Tiere am 14. Gestationstag untersucht. Es zeigten sich keine Auffälligkeiten hinsichtlich der weiblichen Fertilität in der P-Generation. Bei den weiblichen F1-Tieren war in der hohen Dosisgruppe der Fertilitätsindex um 61,5% im Vergleich zur Kontrolle reduziert. In der niedrigen Dosisgruppe traten keine Veränderungen auf. Der LOAEL für systemische Toxizität betrug 31 mg/kg KG (Körpergewicht und Futterkonsum reduziert) für männliche Ratten, wobei die beobachteten absoluten Veränderungen der Hoden- und Nebenhodengewichte ohne relative Veränderungen der Organgewichte nur als Hinweis auf Effekte auf die Fertilität gewertet werden können. Hingegen war die Spermatogenese bei 96 bzw. 105 mg/kg KG und Tag bei den männlichen Tieren der P- und der F1-

## 18 Methoxychlor

Generation eindeutig beeinträchtigt. Für weibliche Ratten war der LOAEL für Fertilität und systemische Toxizität 44 mg/kg KG und Tag (Implantationsverluste erhöht, Zahl der Nachkommen, Fertilitätsindex, Körpergewicht, Futterkonsum und Östradiolkonzentration verringert) (Aoyama et al. 2012).

### Zusammenfassung

Der LOAEL der 2-Generationenstudie beträgt 31 mg/kg KG und Tag für männliche (Körpergewicht und Futterkonsum reduziert) bzw. 44 mg/kg KG und Tag für weibliche Ratten (Implantationsverluste erhöht, Zahl der Nachkommen, Fertilitätsindex, Körpergewicht, Futterkonsum und Östradiolkonzentration reduziert). Die beim LOAEL für männliche Ratten von 31 mg/kg KG und Tag beobachteten absoluten Veränderungen der Hoden- und Nebenhodengewichte sind dabei ohne relative Veränderungen der Organgewichte nur als Hinweis auf Effekte auf die Fertilität zu sehen, hingegen war die Spermatogenese bei 96 bzw. 105 mg/kg KG und Tag bei den männlichen Tieren der P- und der F1-Generation eindeutig beeinträchtigt. Bei 0,6 bzw. 0,9 mg/kg KG und Tag für männliche und weibliche Ratten waren keine Effekte festzustellen (Aoyama et al. 2012).

Für männliche Ratten beträgt der NOAEL für systemische Toxizität 0,6 mg/kg KG und Tag und für Fertilität 31 mg/kg KG und Tag, wobei Hinweise auf veränderte Hodengewichte vorliegen. Für weibliche Ratten ergibt sich ein NOAEL für Fertilität und systemische Toxizität von 0,9 mg/kg KG und Tag.

### 5.5.2 Entwicklungstoxizität

Methoxychlor wirkt entwicklungstoxisch. Bei Untersuchungen an Ratten, Kaninchen und Mäusen wurden erniedrigte Körpergewichte der Feten, erhöhte Inzidenzen von gewellten Rippen, Resorptionen und Todesfällen gefunden (ATSDR 2002).

### Pränatale Exposition

#### Untersuchungen bis zum 4. Postnataltag

Die Studien sind in Tabelle 2 im Detail dargestellt.

#### Ratte

Die Nachkommen von Ratten (k. w. A.), die vom 6. bis 15. Gestationstag mit 0; 17,8; 40,8 oder 97,3 mg Methoxychlor/kg KG und Tag behandelt worden waren, hatten ab 40,8 mg/kg KG und Tag erhöhte Inzidenzen gewellter Rippen. Bei 17,8 mg/kg KG waren die Inzidenzen ebenfalls erhöht, jedoch nicht statistisch signifikant. Angaben zur Maternaltoxizität waren nicht vorhanden („technisch“; Reinheit: 80–90%; ATSDR 2002).

Nach Behandlung von Wistar-Ratten mit 0, 50, 100, 200 oder 400 mg „technischem“ Methoxychlor vom 6. bis zum 15. Gestationstag (Schlundsonde) stieg die Anzahl gewellter Rippen (zumeist bilateral) ab 50 mg/kg KG und Tag dosisabhängig, ab 100 mg/kg KG und Tag war der Befund statistisch signifikant. Ab 200 mg/kg KG und Tag war die Zahl der lebenden Feten erniedrigt sowie die der toten Feten und Resorptionen signifikant erhöht. Die Häufigkeit weiterer Variationen und Retardierungen, wie zusätzliche Rippen und leicht verformte Skeletteile, lag im normalen Streubereich. Ab 50 mg/

Tab. 2. Entwicklungstoxizitätsstudien mit pränataler oraler Exposition gegen Methoxychlor

Spezies	Exposition	Befunde	Literatur
<b>Ratte</b> , Holtzman, ♀	<b>GD 1–8</b> , 0, 25, 50, 100, 250, 500 mg/kg KG und Tag, in Sesamöl Schlundsonde Reinheit: 98% <b>Untersuchung</b> <b>9. GD</b>	<b>25 mg/kg KG: NOAEL;</b> <b>ab 50 mg/kg KG:</b> Progesteron im Serum ↓, abs. Nebennierengewicht ↓; <b>ab 250 mg/kg KG:</b> Östradiol und Testoste- ron/g Ovar ↓, Zahl der Implantationen um 50% ↓; <b>bei 500 mg/kg KG:</b> Serum-LH ↓; keine Im- plantationen; keine Effekte auf Corpora lutea keine Untersuchung der Teratogenität	Cummings und Laskey 1993
<b>Ratte</b> , k. w. A.	<b>GD 6–15</b> , 0; 34,6; 138; 242; 346 mg/kg KG und Tag k. w. A.	<b>138 mg/kg KG: NOAEL;</b> <b>ab 242 mg/kg KG:</b> Anzahl der Resorptio- nen ↑; <b>bei 346 mg/kg KG:</b> <u>Feten:</u> KG ↓; Feten: externe, viszerale und skelettale Unter- suchung ohne auffälligen Befund; <u>Muttertiere:</u> k. A. zur Toxizität	WHO 1977
<b>Ratte</b> , k. w. A.	<b>GD 6–15</b> , 0; 17,8; 40,8 oder 97,3 mg/kg KG und Tag Reinheit: „technisch“ k. w. A.	<b>ab 17,8 mg/kg KG:</b> Anzahl gewellter Rippen ↑; nicht statistisch signifikant; <b>ab 40,8 mg/kg KG:</b> Anzahl gewellter Rippen statistisch signifikant ↑; <b>bei 97,3 mg/kg KG:</b> Postimplantationsverlus- te ↑; <u>Muttertiere:</u> k. A. zur Toxizität	ATSDR 2002
<b>Ratte</b> , Wistar, 20 ♀	<b>GD 6–15</b> , 0, 50, 100, 200, 400 mg/kg KG und Tag, in Maiskeimöl Schlundsonde Reinheit: „technisch“ <b>Untersuchung 22.</b> <b>GD</b>	<b>50 mg/kg KG:</b> <u>Muttertiere</u> (GD 15): KG-Zu- nahme ↓, Anzahl welliger oder Extra-Rippen (zumeist bilateral auftretend) ↑ (13% der Feten und 32% der Würfe, nicht signifikant; Kon- trolle 4% der Feten und 55% der Würfe); <b>100 mg/kg KG:</b> <u>Feten:</u> Anzahl welliger oder Extra-Rippen (zumeist bilateral auftretend) signifikant ↑ (20% der Feten und 55% der Würfe); <b>200 mg/kg KG:</b> <u>Feten:</u> KG ↓, Anzahl lebender Feten ↓, Anzahl toter und resorbierter Feten ↑, verzögerte Ossifikation der Schlüsselbeine	Khera et al. 1978
<b>Ratte</b> , k. w. A.	<b>GD 14–20</b> , k. w. A.	<b>30 mg/kg KG:</b> NOAEL für Entwicklungstoxi- zität (k. w. A.);	ATSDR 2002
<b>Maus</b> , CF-1, 6–10 trächtige ♀/Gruppe	<b>GD 11–17</b> , 0, 1, 100, 5000 µg/ Tier (ca. 0; 0,05; 5; 250 mg/kg KG und Tag bei Annahme eines KG von 20 g), oral, in Maiskeimöl, mittels einer Pipette zum Trinken verab- reicht (0,03 ml) Reinheit: 99%	<b>Verhaltenstoxizität</b> <b>ab 0,05 mg/kg KG:</b> <u>Nachkommen:</u> ♂: Infanti- zid, Urinmarkierungen pro h (Ausdruck für das Territorialverhalten) ↑; Einschränkung: k. A. zur Maternaltoxizität; nur 2 Nachkommen pro Wurf einmalig getes- tet, valide Basisdaten fehlen, statistische Aus- wertungsmethoden nicht beschrieben; Urin- markierung eines Tieres wird beeinflusst vom eigenen Testosteronwert und dem sozialen Status der Maus, Urinmarkierung beeinflusst	vom Saal et al. 1995



## 20 Methoxychlor

Tab. 2. Fortsetzung

Spezies	Exposition	Befunde	Literatur
	Spontangeburt k. w. A.	zudem wiederum das sexuelle Verhalten und sozialen Status innerhalb der Gruppe (ATSDR 2002)	
<b>Maus,</b> CF-1, 5–9 trächtige ♀/Gruppe	<b>GD 11–17,</b> 0; 0,02; 2 mg/kg KG und Tag, oral, mittels einer Pipette zum Trinken verab- reicht, gelöst in „to- copherol-stripped“ Maiskeimöl, Kon- trollen nur Maiskei- ml (0,03 ml) Reinheit: 99% Spontangeburt <b>Untersuchung</b> <b>1 ♂/Wurf nach</b> <b>9,5 Mo</b>	<b>ab 0,02 mg/kg KG: Nachkommen:</b> ♂: abs. Prostatagewicht ↑; abs. Lebergewicht ↓; <b>bei 2 mg/kg KG:</b> abs. Gewicht der Samen- bläschen ↑; <u>Muttertiere:</u> k. A. zur Toxizität; Anzahl untersuchter Tiere zu gering; geringe Mengen exogenes strogen oder strogen- wirkender Substanzen führen bei ♂ Nachkom- men behandelter trächtiger Mäuse ebenfalls zu erhöhten Prostatagewichten. Auch wirkt sich die intrauterine Position des männlichen Feten auf dessen Prostatagewicht aus: Tiere, die in- trauterin zwischen ♀ Feten lagen, haben als adulte Tiere höhere Prostatagewichte (ATSDR 2002)	Judy et al. 1999
<b>Maus,</b> CD-1, 6–10 trächtige ♀/Gruppe	<b>GD 11–17,</b> 0; 0,02; 0,2; 2; 20; 100 mg/kg KG und Tag, oral in Mais- keiml, mittels einer Pipette in 0,03 ml zum Trinken verab- reicht Reinheit: k. A. Spontangeburt <b>Untersuchung 12 h</b> <b>nach der Geburt,</b> <b>bis PND 10</b>	<b>Verhaltenstoxizität:</b> <b>bei 0,02 mg/kg KG: Nachkommen:</b> ♂/♀: Reaktivität bei Verhaltenstest (Aufrichten oder Vermeiden des Herabfallens von einer Kante) ↑ (keine Dosisabhängigkeit)  <b>Entwicklungstoxizität:</b> <b>bei 0,2 (LOAEL) und 2 mg/kg KG: Nach-</b> <b>kommen:</b> ♀: anogenitaler Abstand (12 h nach Geburt) ↓ (von fraglicher Relevanz); <b>bei 20 mg/kg KG: Nachkommen:</b> ♂: anogeni- taler Abstand (12 h nach Geburt) ↓; <b>bei 100 mg/kg KG: Nachkommen:</b> ♂/♀: anogenitaler Abstand (12 h nach Geburt) ↑; <u>Muttertiere:</u> k. A. zur Toxizität	Palanza et al. 2001
<b>Maus,</b> CD-1, 18–21 trächtige ♀/Gruppe	<b>GD 11–17,</b> 0; 0,02; 0,2; 2 mg/kg KG und Tag, oral in Maiskeimöl, mittels einer Pipette in 0,05 ml zum Trinken verabreicht, Behand- lung jeden zweiten Tag Reinheit: k. A. Spontangeburt <b>Untersuchung 2</b> <b>Tiere/Wurf wäh-</b> <b>rend Laktation</b> <b>und an PND 30–54</b>	<b>Verhaltenstoxizität:</b> <b>ab 0,02 mg/kg KG: Muttertiere:</b> Zeitaufwand zum Sugen der Nachkommen ↓, Zeitaufwand für Nahrungsaufnahme, Pflege und Ruhe ↑; <b>bei 0,02 mg/kg KG: Nachkommen:</b> ♂: versp- tetes Anzeigen aggressiver Interaktionen an PND 30 (reversibel an PND 54), PND 39, PND 54; ♀: Erkundung einer ungewohnten Umgebung ↑; <u>Muttertiere:</u> k. A. zur Toxizität Tierzahl gering; Dosisabhängigkeit fehlt, kein Effekt bei 0,2 und 2 mg/kg KG und Tag	Palanza et al. 2002
<b>Kaninchen,</b>	<b>GD 7–19,</b>	<b>5 mg/kg KG: NOAEL;</b> <b>35,5 mg/kg KG: Muttertiere:</b> Anorexie,	ATSDR 2002

Tab. 2. Fortsetzung

Spezies	Exposition	Befunde	Literatur
Weißer Neuseeländer, k. w. A.	0; 5; 35,5; 251 mg/kg KG und Tag per Schlundsonde „technisch“ k. w. A.	KG-Zunahme↓, Leber entfärbt und gefleckt, Anzahl der Aborte und späten Resorptionen↑; Feten: KG ↓ (10%), Anteil ♂ ↓; <b>251 mg/kg KG: Muttertiere: 2/17 tot</b>	

GD: Gestationstag; LH: Luteinisierendes Hormon; PND: Postnataltag

kg KG und Tag war die Körpergewichtszunahme der Muttertiere vom 15. bis 22. Gestationstag erniedrigt (Khera et al. 1978). Ein NOAEL kann weder für Entwicklungstoxizität noch für Maternaltoxizität abgeleitet werden, der LOAEL beträgt 50 mg/kg KG und Tag.

Ab 50 mg/kg KG und Tag wurden bei Holtzman-Ratten Effekte auf den Progesteron-Wert im Serum beobachtet. Die teratogene Wirkung wurde nicht untersucht (Cummings und Laskey 1993). In einer anderen Studie an Ratten wurden dagegen bei 138 mg/kg KG keine Effekte beobachtet. Erst bei höheren Dosierungen von 242 mg/kg KG und Tag traten vermehrt Resorptionen auf (WHO 1977). Die Behandlung von trächtigen Ratten vom 14. bis 20. Gestationstag mit 30 mg/kg KG und Tag hatte keine Effekte auf die Entwicklung zur Folge (k. w. A.; ATSDR 2002).

### Kaninchen

Nach Behandlung von Weißen Neuseeländer-Kaninchen per Schlundsonde mit 0; 5; 35,5 oder 251 mg/kg KG und Tag vom 7. bis 19. Gestationstag zeigten sich bei den Muttertieren ab 35,5 mg/kg KG und Tag erniedrigte Körpergewichtszunahme sowie entfärbte und gefleckte Leber. Außerdem nahm die Zahl der Aborte und der späten Resorptionen zu. Bei den Nachkommen war das fetale Körpergewicht um 10% reduziert und das Geschlechterverhältnis zu den weiblichen Nachkommen hin verschoben. Der NOAEL für Entwicklungstoxizität und Maternaltoxizität betrug 5 mg/kg KG und Tag (ATSDR 2002).

### Untersuchungen nach dem 4. Postnataltag

#### Maus

Es liegen nur Studien aus einer Arbeitsgruppe vor (Gioiosa et al. 2007; Judy et al. 1999; Palanza et al. 2001, 2002; vom Saal et al. 1995), bei denen nur eine geringe Zahl an Tieren eingesetzt wurde, keine klare Dosisabhängigkeit erzielt wurde, und die Ergebnisse von fraglicher biologischer Relevanz sind.

In einer Studie an CF-1-Mäusen zeigten die männlichen Nachkommen der vom 11. bis 17. Gestationstag behandelten Muttertiere nach 9,5 Monaten ab 0,02 mg Methoxychlor/kg KG und Tag erhöhte absolute Prostatagewichte und erniedrigte absolute Lebergewichte. Zur Maternaltoxizität liegen keine Angaben vor (Judy et al. 1999). Es wurde keine Positivkontrolle eingesetzt, und die Anzahl untersuchter Tiere mit einem männlichen Tier pro Wurf war gering. Geringe Mengen an exogenem Östrogen und östrogen-wirkenden Substanzen führen bei den männlichen Nachkommen behandelter trächtiger Mäuse ebenfalls zu erhöhten Prostatagewichten. Auch wirkt sich die intraute-

## 22 Methoxychlor

rine Position des männlichen Feten auf dessen Prostatagewicht aus: Tiere, die intrauterin zwischen weiblichen Feten lagen, haben als adulte Tiere höhere Prostatagewichte (ATSDR 2002).

Bei weiblichen CD-1-Mäusen war in einer weiteren Untersuchung mit demselben Design der anogenitale Abstand zwölf Stunden nach der Geburt bei 0,2 mg/kg KG und Tag verkleinert und bei 20 mg/kg KG und Tag bei den weiblichen und männlichen Mäusen vergrößert. Messungen des anognitalen Abstandes zu einem späteren Zeitpunkt wurden nicht durchgeführt. Angaben zur Maternaltoxizität liegen nicht vor (Palanza et al. 2001). Die Verkleinerung des anogenitalen Abstandes, zwölf Stunden nach der Geburt bei weiblichen Mäusen gemessen, ist von fraglicher biologischer Relevanz, da eine Vergrößerung des anogenitalen Abstandes bei weiblichen Tieren als Indikator für eine Vermännlichung angesehen wird, eine Verkleinerung hingegen keinen Indikator bei weiblichen Mäusen darstellt.

In zwei weiteren Studien (Palanza et al. 2002; vom Saal et al. 1995), in denen verhaltenstoxische Effekte untersucht wurden, fehlen ebenfalls Angaben zur Maternaltoxizität. Zudem sind die untersuchten Endpunkte, z. B. Urinmarkierungen als Ausdruck des Territorialverhaltens, von fraglicher biologischer Relevanz.

### Peri- und postnatale Exposition

Methoxychlor beeinflusst die Entwicklung des weiblichen und auch des männlichen Reproduktionssystems. Bei perinataler Behandlung reagiert das Reproduktionssystem, das sich in diesem Zeitraum schnell entwickelt, am empfindlichsten. Bei den weiblichen Nachkommen werden eine Beeinflussung der Follikulogenese, Follikelatresie, persistierender Östrus, niedrige Ovulationsrate und vorzeitige Vaginalöffnung beobachtet. Bei den männlichen Nachkommen zeigt sich eine verzögerte Präputialtrennung, eine Vergrößerung der Brustdrüsen, eine Abnahme der Zahl der Spermatogonien pro Hoden und eine Abnahme des Testesgewichts (California EPA 2010).

Die Studien sind in Tabelle 3 dargestellt.

Sprague-Dawley-Ratten wurden per Schlundsonde vom 14. Gestationstag bis zum 7. Postnataltag und die Nachkommen per Schlundsonde von 7. bis zum 42. Postnataltag mit 0, 5, 50 oder 150 mg Methoxychlor/kg KG und Tag (Reinheit: 95%) behandelt. Bei den Nachkommen zeigte sich ab 5 mg/kg KG und Tag eine verfrühte Vaginalöffnung und eine Abnahme des absoluten Ovariengewichts am 46. Postnataltag. Die FSH-Werte während des Östrus waren ab 5 mg/kg KG und Tag bei den adulten weiblichen Nachkommen nach perinataler Behandlung erniedrigt. Bei männlichen Nachkommen war die Präputialtrennung ab 50 mg/kg KG und Tag signifikant verzögert (Chapin et al. 1997). Der NOAEL für Entwicklungstoxizität beträgt für die männlichen Nachkommen 5 mg/kg KG und Tag, für die weiblichen Nachkommen ist dies der LOAEL.

In einer weiteren Studie mit den zuvor genannten Dosierungen wurden Sprague-Dawley-Ratten vom 14. Gestationstag bis zum 42. Postnataltag behandelt. Dies führte bei männlichen Nachkommen ab 5 mg/kg KG und Tag zur statistisch signifikanten Abnahme der Zahl der Spermatogonien pro Testes sowie ab 50 mg/kg KG und Tag zur Abnahme des Testesgewichts (Staub et al. 2002). Daraus ergibt sich ein LOAEL für die männlichen Nachkommen von 5 mg/kg KG und Tag.

Ähnliche Ergebnisse wurden nach Fütterung von 56 mg/kg KG und Tag vom 1. Gesta-

Tab. 3. Entwicklungstoxizitätsstudien mit peri- und postnataler Exposition gegen Methoxychlor

Spezies	Exposition	Befunde	Literatur
<b>Ratte,</b> Sprague Dawley, 8 trächtige ♀/Gruppe	<b>GD 1–PND 21</b> 0, 800 mg/kg Futter (anhand des Futterver- brauchs geschätzt; Muttertiere: ca. 56 mg/ kg KG und Tag, Nach- kommen: PND 28–31: ♂/♀: 126/116 mg/kg KG und Tag, PND 55– 58: ♂/♀: 71/68 mg/kg KG und Tag, PND 97– 100: ♂/♀: 46/56 mg/kg KG und Tag), Mutter- tiere bis PND 21 und Nachkommen bis PND 110 behandelt Reinheit: 95% Spontangeburt <b>Untersuchung der Muttertiere an PND 22, Nachkommen an PND 110</b>	<b>bei 56 mg/kg KG:</b> Muttertiere: Futterver- brauch ↓, KG ↓; <u>Nachkommen:</u> Futterver- brauch ↓, KG ↓, ♀: Geburtsgewicht ↓, ver- frühte Vaginalöffnung, Verlängerung des Östrus; ♂: verzögerte Präputialtrennung, abs. Hoden- und Nebenhodengewicht ↓ (ca. PND 110)	You et al. 2002 a
<b>Ratte,</b> Sprague Dawley, 8 trächtige ♀/Gruppe	<b>GD 1–PND 21</b> 0, 800 mg/kg Futter (anhand des Futterver- brauchs geschätzt Mut- tertiere: ca. 56 mg/kg KG und Tag; aus You et al. 2002 a), Mutter- tiere und Nachkommen bis PND 21 behandelt Reinheit: 95% Spontangeburt <b>Untersuchung an PND 22</b>	<b>bei 56 mg/kg KG:</b> <u>Nachkommen:</u> ♂: Brustdrüsen: Verlängerung der glandulären Gänge, glanduläre Fläche ↑, Anzahl der Verzweigungen, der lateralen Knospen und der terminalen Endknospen ↑; <u>Muttertiere:</u> k. A. zur Toxizität	You et al. 2002 b
<b>Ratte,</b> Sprague Dawley, 10 trächtige ♀/Gruppe	<b>GD 1–PND 21</b> 0, 800 mg/kg Futter (Muttertiere: 56 mg/kg KG und Tag, Nach- kommen: PND 28–31: ♂/♀: 126/116 mg/kg KG und Tag, PND 55– 58: ♂/♀: 71/68 mg/kg KG und Tag, PND 97– 100: ♂/♀: 46/56 mg/kg KG und Tag), Mutter- tiere bis PND 21 und Nachkommen bis PND 90 behandelt Reinheit: 95% Spontangeburt	<b>bei 56 mg/kg KG:</b> Nachkommen: ♂: duk- tale Verlängerung und lobuläre Vergröße- rung der Brustdrüsen; ♀: geringe duktale und alveoläre Proliferation der Brustdrü- sen; <u>Muttertiere:</u> k. A. zur Toxizität	Wang et al. 2006

## 24 Methoxychlor

Tab. 3. Fortsetzung

Spezies	Exposition	Befunde	Literatur
<b>Untersuchung an PND 90</b>			
<b>Ratte,</b> Sprague Dawley, 7 trächtige ♀/Gruppe	<b>GD 1–PND 21</b> 0, 800 mg/kg Futter (0, 56 mg/kg KG und Tag), Muttertiere und Nachkommen bis PND 21 behandelt Reinheit: 95% Spontangeburt	<b>Immuntoxizität:</b> <b>bei 56 mg/kg KG:</b> <u>Muttertiere:</u> KG ↓, Prozentsatz der CD4 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup> -Thymozyten ↓; <u>Nachkommen:</u> KG ↓; ♂: Prozentsatz der CD4 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup> -Thymozyten ↓; ♀: Aktivität der natürlichen Killerzellen und CD8 <sup>+</sup> -Lymphozyten ↑; <u>Nachkommen und Muttertiere:</u> abs. und rel. Milz- und Thymusgewichte ohne auffälligen Befund	Guo et al. 2002
<b>Untersuchung an PND 22</b>			
<b>Ratte,</b> Sprague Dawley, 10 trächtige ♀/Gruppe	<b>GD 7–PND 51</b> 0, 10, 100, 1000 mg/kg Futter (0; 0,6; 5,6; 56 mg/kg KG und Tag), Muttertiere bis PND 51 und Nachkommen bis PND 64 behandelt Reinheit: >99% Spontangeburt	<b>Immuntoxizität:</b> <u>Muttertiere:</u> k. A. zur Toxizität <b>0,6 mg/kg KG: NOAEL</b> <b>ab 5,6 mg/kg KG:</b> <u>Nachkommen:</u> ♂: CFU-GM/10 000 Zellen ↑; <b>bei 56 mg/kg KG:</b> <u>Nachkommen:</u> ♀: CFU-M/10 000 Zellen ↓; ♂: Knochenmarkszellen ↓, CFU-GM/Femur ↓ <u>Nachkommen:</u> DNA-Synthese in Knochenmarkszellen ohne auffälligen Befund	Guo et al. 2005
<b>Untersuchung an PND 65</b>			
<b>Ratte,</b> Sprague Dawley, 10 trächtige ♀/Gruppe	<b>GD 7–PND 51</b> 0, 10, 100, 1000 mg/kg Futter (0; 0,8; 8,0; 80 mg/kg KG und Tag), Muttertiere bis PND 51 und Nachkommen bis PND 64 behandelt Reinheit: >99% Spontangeburt	<b>Immuntoxizität:</b> <b>0,8 mg/kg KG: LOAEL,</b> <u>Nachkommen:</u> ♀ zytotoxische T-Zellen ↓; <b>ab 8 mg/kg KG:</b> <u>Muttertiere:</u> Makrophagen ↑, Splenozyten und B-Zellen ↓; <u>Nachkommen:</u> ♂ IgM Antikörper-bildende Zellantwort auf rote Blutkörperchen von Schafen in der Milz ↑, abs. Thymusgewicht ↓, B-Zellen und natürliche Killerzellen ↓; <b>bei 80 mg/kg KG:</b> <u>Muttertiere:</u> Aktivität natürlicher Killerzellen ↑, T-Zellen und T-Helfer-Zellen ↑; <u>Nachkommen:</u> ♂ Aktivität natürlicher Killerzellen ↑, absolutes KG (PND 65) ↓, abs. Milzgewicht ↓, Splenozyten ↓, zytotoxische T-Zellen ↓; ♀ absolutes KG (PND 65) ↓	White et al. 2005
<b>Untersuchung Muttertiere k. A.; Nachkommen an PND 65</b>			
<b>Ratte,</b> Sprague Dawley, 8 trächtige ♀/Gruppe	<b>GD 14–PND 7</b> 0, 5, 50, 150 mg/kg KG, 95%, Nachkommen dosiert von PND 7–42; Schlundsonde Reinheit: 95%	<b>5 mg/kg KG: LOAEL</b> für Veränderungen am Reproduktionssystem der Nachkommen; 1997 <b>ab 5 mg/kg KG:</b> <u>Nachkommen:</u> ♀: frühe Vaginalöffnung, abs. Gewicht der Ovarien ↓, unregelmäßiger Östruszyklus, Dysplasie des Uterus, FSH im Blut ↓; <b>ab 50 mg/kg KG:</b> <u>Muttertiere:</u> KG-Zunahme ↓; <u>Nachkommen:</u> ♂: (PND 46) abs. und rel. Gewichte von Thymus, Hoden, Nebenhoden, Prostata und Samenbläschen ↓, Präputialseparation verzögert; ♀: (PND 46) abs. und rel.	Chapin et al. 1997
<b>Untersuchung an PND 0-7, 21, 42, 46</b>			



Tab. 3. Fortsetzung

Spezies	Exposition	Befunde	Literatur
		Gewichte der Ovarien ↓, reduzierte Fertilität, Anzahl der Implantationen ↓ (68%), Progesteron im Blut ↓, Anzahl der Corpora lutea ↓; <b>150 mg/kg KG:</b> Wurfgröße ↓ (17%); <u>Nachkommen:</u> KG ↓ (PND 1–21), ♂: (PND 46) abs. und rel. Gewichte von Nebennieren ↑, ♀: (PND 46) abs. und rel. Gewichte von Thymus ↓	
<b>Ratte,</b> Sprague Dawley, 5–6 trächtige ♀/Gruppe	<b>GD 15–PND 10</b> 0, 24, 240, 1200 mg/kg Futter (Muttertiere: 0; 1,9; 19; 81 mg/kg KG und Tag GD 15–GD 20; 0; 3,8; 36; 168 mg/kg KG und Tag PND 2– PND 10) Reinheit: ca. 95% Spontangeburt <b>Untersuchung an PND 2-21, 70, 77</b>	<b>19 mg/kg KG: NOAEL;</b> <b>bei 81 mg/kg KG:</b> <u>Muttertiere:</u> KG-Zunahme (GD 15–20) ↓ (PND 2–10 reversibel), Futterverbrauch ↓ (PND 2–10); <u>Nachkommen:</u> ♂/♀: KG-Zunahme ↓ (PND 2–10) (PND 10–21 reversibel); ♂: abs. und rel. Testesgewicht (PND 21) ↓, abs. Testesgewicht (PND 77) ↓, vorzeitige Präputialtrennung, ♀: abs. und rel. Ovariengewicht (PND 77) ↓, vorzeitige Vaginalöffnung, Östrus- und Diöstruslänge ↑, Ovar: Anzahl Follikel ↑, Anzahl Corpora lutea (PND 77) ↓, Hyperplasie des Uterusepithels und der Vaginalschleimhaut (PND 77), diffuse Hyperplasien im vorderen Lappen der Hypophyse (PND 77)	Masutomi et al. 2003
<b>Ratte,</b> Sprague Dawley, 15 trächtige ♀/Gruppe	<b>GD 14–PND 42</b> 0, 5, 50, 150 mg/kg KG und Tag, ♂ Nachkommen von PND 7–42 behandelt; Untersuchung an PND 152, Schlundsonde, in Maiskeimöl Reinheit: 95% <b>Untersuchung der Nachkommen an PND 43</b>	<b>ab 5 mg/kg KG: LOAEL ♂; <u>Nachkommen:</u></b> ♂: A- und B-Spermatogonien/Testes und der A- und B-Spermatogonien/g testikuläres Parenchym ↓, Anzahl Spermatiden/alle Spermatogonien ↑; <b>ab 50 mg/kg KG:</b> <u>Nachkommen:</u> ♂: Hodengewicht ↓, tägliche Spermienproduktion/Testes ↓, Sertolizellen/Testes ↓, Nuklei-Volumen der Sertolizellen/Testes ↓	Staub et al. 2002
<b>Ratte,</b> Sprague Dawley, k. w.A.	<b>GD 7–PND 79–82</b> 0, 10, 100, 1000 ppm Futter (ca. 0; 0,5; 5; 50 mg/kg KG und Tag) Reinheit: k. A. <b>Untersuchung an PND 79–82</b>	<b>Immuntoxizität:</b> <b>5 mg/kg KG: NOAEL;</b> <b>50 mg/kg KG:</b> <u>Muttertiere:</u> Aktivität der NK-Zellen ↑; Anzahl an B-Zellen in der Milz ↓; <u>Nachkommen:</u> ♂/♀: KG ↓, T-Zell-Funktion ↑; ♂, Aktivität der NK-Zellen um 43–64% ↑; Anzahl an B-Zellen in der Milz um 24% ↓	NTP 1997
<b>Maus,</b> CD-1; je 9 ♀	<b>GD 11–PND 8</b> 0; 0,02 mg/kg KG und Tag; Schlundsonde <b>Untersuchung bis zur Adoleszenz</b>	<b>Verhaltenstoxizität:</b> <u>Nachkommen:</u> Geschlechtsunterschiede im Verhalten ↓ („Open-Field“; „Labyrinth“-Test); ♀ empfindlicher als ♂	Gioiosa et al. 2007



## 26 Methoxychlor

Tab. 3. Fortsetzung

Spezies	Exposition	Befunde	Literatur
<b>Generationenstudie</b>			
<b>Ratte,</b> Sprague Dawley, je 24 ♂ u. ♀/Gruppe	<b>10 Wochen vor und 7 Wochen nach Ver- paarung</b> 0, 10, 500, 1500 mg/kg Futter (für ♂: P-Genera- tion 0; 0,6; 31; 96 mg/kg KG und Tag und F1-Generation 0,6; 33; 105 mg/kg KG und Tag; für ♀: P-Genera- tion 0; 0,9; 44; 122 mg/kg KG und Tag und F1-Generation 0; 0,9; 45; 133 mg/kg KG und Tag) Nachkommen dosiert ab PND 7 <b>Untersuchung an PND 0, 7, 14, 21 , 25-27, 35</b>	<b>0,9 mg/kg KG: NOAEL</b> für Entwick- lungstox. und Maternaltox.; <b>ab 31/44 mg/kg KG: Muttertiere: P, und F1: KG-Zunahme, Futterkonsum ↓; P: Öst- radiolkonz. im Serum ↓; F1: Haarverlust, verlängerter Östrus; Nachkommen: F1. u. F2: pränatal: Zahl der Implantationen und Feten ↓; postnatal: KG ↓ ab PND 7; ♂: F1: Präputialseparation verzögert; abs. Gewicht der Hypophyse, Hoden, Nebenho- den ↓; ♀: F1: frühe Vaginalöffnung, unregelmäßiger Östruszyklus; F1: abs. u. rel. Uterusgewicht ↑; abs. Gewichte von Hypophyse und Ovar ↓; F2: abs. u. rel. Thymusgewicht ↓; abs. und rel. Uterusgewicht ↑; rel. Hirngewicht ↑; <b>122 mg/kg KG: Muttertiere: P: abs. u. rel. Uterusgewicht ↓; verlängerter Östrus; F1: Fertilitätsindex auf 45,5% ↓; Nachkommen: postnatal: F1: abs. u. rel. Thymusgewicht ↓; ♂: abs. und rel. Gewichte von Hypophyse, Samenbläschen, Prostata ↓, Atrophie der Samenbläschen und Prostata; ♀: Zahl der follikulären Zysten ↑</b></b>	Aoyama et al. 2012

CFU-GM: Granulozyten-Makrophagen-Vorläufer; FSH: follikelstimulierendes Hormon; GD: Gestationstag; PND: Postnataltag

tionstag bis zum 21. Postnataltag bei Sprague-Dawley-Ratten gleichzeitig mit Maternaltoxizität berichtet (You et al. 2002 a). Außerdem zeigten sich am 22. Postnataltag bei dieser Dosis Effekte auf die Brustdrüsen der männlichen Nachkommen (You et al. 2002 b). Die Brustdrüsen der adulten männlichen Nachkommen wiesen am 90. Postnataltag eine duktale Verlängerung und eine lobuläre Vergrößerung auf (Wang et al. 2006).

In einer Fütterungsstudie mit Dosierung vom 15. Gestationstag bis zum 10. Postnataltag zeigten sich bei den weiblichen Nachkommen bei der höchsten Dosis von 81 mg/kg KG und Tag eine Zunahme der Follikel in den Ovarien, eine Abnahme der Corpora lutea, Hypertrophie des Uterusepithels, Hyperplasie des vaginalen Epithels und der Hypophyse (Masutomi et al. 2003). Der NOAEL für Entwicklungstoxizität beträgt 19 mg/kg KG und Tag.

In einer 2-Generationenstudie (siehe Abschnitt 5.5.1; Aoyama et al. 2012) an männlichen und weiblichen Sprague-Dawley-Ratten mit 0, 10, 500 oder 1500 mg Methoxychlor/kg Futter waren die Körpergewichtszunahme und der Futterkonsum der Elterngenerationen ab der mittleren Dosisgruppe reduziert. Ab der mittleren Dosisgruppe nahm die Zahl der Implantationen (P-Generation: 15,6; 15,7; 13,4 oder 10,1 bei 0; 0,9; 44 oder 122 mg/kg KG und Tag; F1-Generation: 15,4; 15,8; 12,1 oder 8,2 bei 0; 0,9;

45 oder 133 mg/kg KG und Tag) und die Zahl der lebenden Nachkommen (P-Generation: 13,7; 13,1; 11,1 oder 7,6 bei 0; 0,9; 44 oder 122 mg/kg KG und Tag; F1-Generation 12,9; 14,2; 10,5 oder 7,0 bei 0; 0,9; 45 oder 133 mg/kg KG und Tag) dosisabhängig ab.

Die Tiere, deren Verpaarung nicht zur Trächtigkeit führte, wurden mit unbehandelten Ratten nochmals verpaart und die trächtigen Tiere am 14. Gestationstag untersucht. Es zeigten sich keine Auffälligkeiten auf die Wurfparameter außer bei den weiblichen F1-Tieren in der hohen Dosisgruppe, bei denen der Fertilitätsindex um 61,5% und die Zahl der Implantationen und der Feten reduziert war.

Effekte auf die F1- und F2-Nachkommen zeigten sich in einer reduzierten Körpergewichtszunahme ab der mittleren Dosisgruppe während der Laktation beginnend am 7. Postnataltag. Bei den F1-Nachkommen waren am 25. Postnataltag ab der mittleren Dosisgruppe das absolute und relative Uterusgewicht erhöht und in der hohen Dosisgruppe das absolute und das relative Thymusgewicht erniedrigt. Bei den F2-Nachkommen waren ab der mittleren Dosisgruppe das absolute und das relative Thymusgewicht erniedrigt und das relative Hirngewicht sowie das absolute und das relative Uterusgewicht erhöht.

Die sexuelle Entwicklung der männlichen F1-Nachkommen war beeinträchtigt, es trat eine dosisabhängige Verzögerung der Präputialtrennung auf. Bei den weiblichen F1-Nachkommen kam es ab der mittleren Dosierung zu einer vorzeitigen Vaginalöffnung. Zudem wurden in der F1-Generation ein verlängerter Östruszyklus und ein erniedrigter Fertilitätsindex von 45,5% beobachtet. Der anogenitale Abstand und die weiteren entwicklungstoxischen Parameter, z. B. die Reflexe, waren nicht verändert.

In der niedrigen Dosierung traten im Vergleich zur Kontrolle keine Veränderungen auf. Damit ergab sich ein NOAEL für pränatale und postnatale Entwicklungstoxizität sowie für Maternaltoxizität von 0,9 mg/kg KG und Tag (Aoyama et al. 2012).

### Neurotoxizität und Verhaltenstoxizität

Endokrine Disruptoren stehen in Wechselwirkung mit der Entwicklung des Reproduktionssystems und anderen Organsystemen, einschließlich des Gehirns, die unter dem Einfluss von Sexualhormonen reifen. Der frontale Cortex ist in dieser Hinsicht von besonderer Bedeutung, da er einer der letzten Regionen im Gehirn ist, die ausreifen. Diese Reifung vollzieht sich bis weit in die Adoleszenz. Der präfrontale Cortex gilt als Zielorgan der Östrogenwirkung für die kognitiven Fähigkeiten. Bei Ratten, Mäusen, Hamstern und Hunden führt die orale Gabe von Methoxychlor zu neurotoxischen Effekten (ATSDR 2002; California EPA 2010;).

Die Studien mit pränataler und postnataler Behandlung sind in Tabelle 2 und Tabelle 3, Studien mit Behandlung während der Pubertät in Tabelle 4 aufgeführt und im Weiteren kurz dargestellt.

Bei den männlichen Nachkommen behandelter CD-1-Mäuse wurden ab 0,05 mg/kg KG und Tag Verhaltensauffälligkeiten wie Infantizid und geändertes Urin-Markierungsverhalten beobachtet (vom Saal et al. 1995). Die Tierzahl und die Messgenauigkeit des Urin-Markierungsverhalten sind jedoch mit nur zwei einmalig getesteten Nachkommen pro Wurf ungenügend. Zudem wurde das Verhalten nur zu einem Zeitpunkt, am 60. Postnataltag, untersucht. Es liegen zu diesem Test keine validen Grunddaten vor, und die statistischen Auswertungsmethoden sind nicht beschrieben. Die Urinmarkierung eines Tieres wird vom eigenen Testosteronwert und dem sozialen Status beeinflusst. Ebenso hat die Urinmarkierung eines Tieres wiederum Einfluss auf das

sexuelle Verhalten und den sozialen Status der anderen Mäuse in der Gruppe, die mit dem Urin in Berührung kommen (ATSDR 2002).

Perinatale Gabe vom 11. bis zum 17. Gestationstag an trächtige CD-1-Mäuse in Maiskeimöl (mittels einer Pipette oral verabreicht) von 0; 0,02; 0,2 oder 2 mg/kg KG und Tag führte zu leichten Veränderungen im Verhalten der Muttertiere während der Aufzucht. Bei den Nachkommen war das Verhalten bei der Erkundung einer ungewohnten Umgebung verändert (Palanza et al. 2002). Die Beschreibung der Behandlung ist widersprüchlich, und es bleibt unklar, ob die Tiere alle zwei Tage oder jeden Tag behandelt wurden. Zudem wurden nur zwei Tiere pro Wurf untersucht.

Nach Behandlung von trächtigen CD-1-Mäusen mit 0,02 mg/kg KG und Tag vom 11. Gestationstag bis zum 8. Postnataltag war bei den Nachkommen im Vergleich zur Kontrolle eine Verringerung des Geschlechtsunterschiedes im Verhalten festzustellen. Die weiblichen Mäuse reagierten empfindlicher auf die Behandlung als die männlichen Nachkommen (Gioiosa et al. 2007). Es wurden nur neun Tiere eingesetzt.

Verhaltenstests an Rhesusaffen, die jeweils sechs Monate vor und nach der Menarche mit 25 oder 50 mg Methoxychlor/kg KG und Tag behandelt wurden, zeigten eine verlangsamte Diskriminierung von visuellen Mustern und ab 50 mg/kg KG und Tag ein verlangsamtes räumliches Gedächtnis (Golub et al. 2004 a).

### Immuntoxizität

Die Studien zur Immuntoxizität sind in Tabelle 2 und Tabelle 3 dargestellt.

In einer Studie zur immuntoxischen Wirkung wurden weibliche Sprague-Dawley-Ratten für 65 bis 72 Tage mit 0, 10, 100 oder 1000 mg/kg im Futter (ca. 0; 0,5; 5 bzw. 50 mg/kg KG und Tag unter der Annahme eines Körpergewichtes von 400 g und eines täglichen Futterverbrauchs von 20 g) und deren Nachkommen 14 Tage lang in utero und 65 bis zu 72 Tage nach der Geburt behandelt. Die Muttertiere wiesen nach einer Dosierung mit 50 mg/kg KG eine erhöhte Aktivität der natürlichen Killerzellen und eine verringerte Anzahl an B-Zellen in der Milz auf. Bei derselben Dosis hatten männliche und weibliche Nachkommen ein um 12 bis 14% reduziertes Körpergewicht und eine erhöhte T-Zell-Funktion, bei den männlichen Ratten war zudem die Anzahl der B-Zellen in der Milz sowie die Aktivität der natürlichen Killerzellen erhöht (NTP 1997). Es ergibt sich ein NOAEL für immuntoxische Effekte von 5 mg/kg KG und Tag. Bei Sprague-Dawley-Ratten führte die Behandlung vom 7. Gestationstag bis zum 51. Postnataltag bei den männlichen Nachkommen ab 8 mg/kg KG und Tag zu immunologischen Veränderungen. Die Zahl der Antikörper-bildenden Zellen und die natürliche Killerzellaktivität nahm zu und die Zahl an B-Zellen, zytotoxischen T-Zellen (Tc-Zellen, veraltet: T-Killerzellen) und NK-Zellen in der Milz war erniedrigt. Bei den weiblichen Nachkommen trat bei 0,8 mg/kg KG und Tag eine Abnahme zytotoxischer T-Zellen auf (White et al. 2005). In einer Studie mit gleichem Versuchsaufbau erwies sich 0,6 mg/kg KG und Tag als NOAEL für immuntoxische Wirkungen an Muttertieren und Nachkommen (Guo et al. 2005). Bei 56 mg/kg KG und Tag waren nach Behandlung ab dem 1. Gestationstag der Muttertiere bis zum 51. Postnataltag bei den Nachkommen das Körpergewicht und der Prozentsatz der CD4<sup>+</sup>CD8<sup>-</sup>-Thymozyten bei den männlichen Nachkommen reduziert und die Aktivität der natürlichen Killerzellen und CD8<sup>+</sup>-Lymphozyten bei den weiblichen Nachkommen erhöht (Guo et al. 2002).

Bei Rhesusaffen, die sechs Monate vor und nach der Menarche mit 0, 25 oder 50 mg Methoxychlor/kg KG und Tag behandelt worden waren, wurden im Alter von einem

Jahr ab 25 mg/kg KG und Tag Effekte auf das Blutbild wie Erniedrigung des MCV („mean corpuscular volume“ = Hämatokrit/Erythrozytenzahl) und MCH („mean corpuscular hemoglobin“ = Hämoglobin/Erythrozytenzahl) sowie eine Erhöhung der Triglyceride beobachtet. Ab 50 mg/kg KG und Tag traten Effekte auf das Immunsystem wie Erniedrigung der Zahl der CD4<sup>+</sup>/CD29<sup>+</sup>-T-Lymphozyten auf (Golub et al. 2004 b).

Postnatale Exposition ab 21. Postnataltag

Der zeitliche Pubertätsverlauf ist bei Nagetieren und Primaten grundsätzlich verschieden. Ähnlich dem Menschen haben nicht-humane Primaten eine lange und komplexe Periode der Reifung während des Heranwachsens. Dagegen verläuft die Pubertät bei Ratten rasch, und im Alter von 6 Wochen ist die Geschlechtsreife erreicht (California EPA 2010).

Die Studien mit Expositionsbeginn ab dem 21. Postnataltag sind in Tabelle 4 zusammengefasst.

Die tägliche Schlundsondengabe von 0, 25, 50, 100 oder 200 mg/kg KG und Tag, über

Tab. 4. Entwicklungstoxizitätsstudien mit Exposition gegen Methoxychlor ab dem 21. Postnataltag

Spezies	Exposition	Befunde	Literatur
<b>Ratte,</b> Long Evans, je 15–20 ♂/♀	<b>ab PND 21</b> 59–76 Tage 0, 25, 50, 100, 200 mg/ kg KG und Tag, Schlundsonde Reinheit: „technisch“, 80–90% <b>Untersuchung an PND</b> <b>0, 4, 21, 25-27, 35</b>	<b>25 mg/kg KG:</b> ♀: verfrühter erster Östrus; <b>ab 25 mg/kg KG:</b> ♂: KG-Zunahme ↓, Pro- laktin-, FSH- und TSH-Gehalt in Hypo- physe ↑; ♀: vorzeitige Vaginalöffnung; <b>ab 50 mg/kg KG:</b> ♂: abs. Testesgewicht ↓, abs. Nebenhodengewicht und -Spermien- zahl ↓; ♀: Verhornung des Vaginalepitheliums ↑; <u>Nachkommen:</u> Gewicht an PND 1 ↓, vorzei- tige Vaginalöffnung, Östruszyklus gestört, Fertilität ↓; <b>ab 100 mg/kg KG:</b> ♂/♀: Fertilität auf 20% ↓ Paarung mit gleichbehandelten ♂/♀; ♂: verzögerte Präputialtrennung; Fertilität auf 50% ↓ bei Paarung mit unbehandelten ♀; ♀: KG-Zunahme ↓, Fertilität auf 60% ↓ bei Paarung mit unbehandelten ♂; <b>200 mg/kg KG:</b> ♀: verspäteter erster Östrus, persistierender Östrus, Pseudoträchtigkeiten	Gray et al. 1989
<b>Ratte,</b> Sprague Dawley, je 15 ♀	<b>PND 22–42/43</b> 0, 12,5; 25; 50 mg/kg KG und Tag; Schlund- sonde Reinheit: 99,2% <b>Untersuchung der</b> <b>Jungtiere (k. w. A.)</b>	<b>ab 12,5 mg/kg KG und Tag: LOAEL</b> vorzeitige Vaginalöffnung (27,9 Tage im Vgl. zur Kontrolle mit 31,9 Tage); KG bei Vaginalöffnung ↓; Zykluslänge und irregu- läre Zyklen dosisabh. ↑; <b>ab 50 mg/kg KG:</b> abs. Leber- u. Ovarienge- wicht und abs. und rel. Hypophysengewicht ↓	NTP 2004

einen Zeitraum von acht Wochen, ab dem Alter von drei Wochen, führte bei männ-



### 30 Methoxychlor

Tab. 4. Fortsetzung

Spezies	Exposition	Befunde	Literatur
<b>Ratte,</b> Long Evans, ♂, k. w. A., 21 Tage alt	<b>8 Wochen</b> 0, 25, 50 mg/kg KG, in Maiskeimöl, Schlundsonde Reinheit 90% <b>Untersuchung der Jungtiere am Ende der Behandlung (am PND 77)</b>	<b>25 mg/kg KG:</b> ♂: Prolaktingehalt der Hypophyse ↑; <b>50 mg/kg KG:</b> ♂: Gonadotropin im Hypo- thalamus ↑	Goldman et al. 1986
<b>Affe,</b> Rhesus, je 8 ♀, präpubertär, 24 Monate alt	<b>1 Jahr</b> 6 Monate vor und 6 Monate nach der ersten Menarche 0, 25 oder 50 mg/kg KG und Tag Reinheit: 98% <b>Untersuchung wäh- rend der Behandlung und nach 9 Monaten Nachbeobachtungs- zeit</b>	<b>ab 25 mg/kg KG:</b> ♀: KG-Zunahme und Wachstum ↓ (Stamm mehr betroffen als lange Röhrenknochen); <b>bei 50 mg/kg KG:</b> ♀: Brustwarzen verklei- nert, Beginn erster Menstruation zeitverzö- gert (5,2 vs. 3,4 Monate in Kontrolle), Knochendichte ↓ (Femur); <u>nach 9 Monaten Erholung:</u> Zahl der Affen mit normalem Östrus ↓; kürzere Follikelpha- sen (<11 Tage)	Golub et al. 2003
		<b>Verhaltenstoxizität:</b> <b>ab 25 mg/kg KG:</b> Defizite in kognitiven Tests: Durchführung visueller Unterschei- dung und „Memory“ Effekt ↓, „Auditory brainstem response“ ↓; <b>ab 50 mg/kg KG:</b> „Spatial working memo- ry“ ↓; Anzahl der Sitzungen zum Erreichen des „Self-ordered sequential search“ ↑	Golub et al. 2004 a
		<b>Immuntoxizität:</b> <b>25 mg/kg KG:</b> MCV und MCH ↓; Na-, Cl- und Bicarbonat-Konzentration im Serum ↑ nur nach 3 Monaten; Triglyceride ↓; <b>50 mg/kg KG:</b> CD4 <sup>+</sup> /CD29 <sup>+</sup> T-Lymphozyten absolut und in % ↓; Knochendichte im Kopf und proxima- len Teil des Femur ↓; keine weiteren Effekte auf die hämatologi- schen und klinisch-chemischen Parameter	Golub et al. 2004 b

FSH: follikelstimulierendes Hormon; TSH: thyroideastimulierendes Hormon; MCH: „mean corpuscular hemoglobin“ = Hämoglobin/Erythrozytenzahl; MCV: „mean corpuscular volume“ = Hämatokrit/Erythrozytenzahl

lichen und weiblichen Long-Evans-Ratten ab der niedrigsten Dosis von 25 mg/kg KG und Tag zu Effekten auf die Reproduktionsorgane wie im Abschnitt 5.5.1 (Gray et al. 1989) beschrieben.

In einer Untersuchung ab der Pubertät wurden je 15 weibliche Sprague-Dawley-Ratten vom 22. bis zum 42. oder 43. Postnataltag per Schlundsonde mit 0; 12,5; 25 oder 50 mg Methoxychlor/kg KG und Tag behandelt mit anschließender histopathologischer

Untersuchung der Reproduktionsorgane (siehe Abschnitt 5.5.1; NTP 2004). Der Zeitpunkt der Vaginalöffnung war ab 12,5 mg/kg und Tag deutlich verfrüht, das Körpergewicht der behandelten weiblichen Tiere war zum Zeitpunkt der Vaginalöffnung reduziert, der Zyklus war nach Exposition gegen Methoxychlor verlängert und der Anteil an irregulären Zyklen nahm mit steigender Dosis zu (NTP 2004).

Nach 8-wöchiger Behandlung männlicher Long-Evans-Ratten waren bei 25 mg/kg KG die Prolaktinergehalte der Hypophyse und ab 50 mg/kg KG die Gonadotropingehalte im Hypothalamus erhöht (Goldman et al. 1986).

In einer Untersuchung der pubertären Entwicklung und Reifung des Reproduktionssystems wurde jeweils acht weiblichen Rhesus-Affen pro Dosisgruppe ein Jahr lang täglich 0, 25 oder 50 mg Methoxychlor/kg KG, gemischt in Babykost, oral verabreicht. Ab 25 mg/kg KG und Tag traten ein verzögertes Wachstum und eine verringerte Körpergewichtszunahme als auch eine verlangsamte pubertäre Entwicklung auf. Die niedrige Dosis verursachte teils stärkere Effekte (verringerte Körpergröße, früheres Auftreten von Färbungen der Perineums, strukturelle Veränderungen der Ovarien) als die hohe Dosis (Golub et al. 2003).

## Zusammenfassung

Die Ergebnisse der Studien an Affen sind aufgrund der Behandlung im juvenilen Alter nicht relevant zur Beurteilung der Wirkungen von Methoxychlor am Arbeitsplatz.

Die Studien an Mäusen wurden nur von einer Arbeitsgruppe und im niedrigen Dosisbereich durchgeführt. Nach peri- und postnataler Exposition ab 0,02 mg/kg KG und Tag zeigten sich Effekte auf die absoluten Prostata- und Lebergewichte, verspätetes Auftreten des aggressiven Verhaltens, verringerte Unterschiede im Verhalten der Geschlechter bei den Nachkommen (Gioiosa et al. 2007; Judy et al. 1999; Palanza et al. 2001, 2002; vom Saal et al. 1995). Die Studien sind aufgrund methodischer Mängel (geringe Tierzahl, nicht validierte Testsysteme) sowie fehlender Reproduzierbarkeit nicht geeignet, das entwicklungstoxische Potential von Methoxychlor für Mäuse zu bewerten. Valide Entwicklungstoxizitätsstudien an Mäusen liegen nicht vor.

Für Ratten lässt sich aus einer 2-Generationenstudie ein NOAEL von 0,9 mg/kg KG und Tag für die pränatale Entwicklungstoxizität ableiten. Ab 44 mg/kg KG und Tag nahm die Zahl der Implantationen und die Zahl der lebenden Nachkommen dosisabhängig ab, wobei auch maternale Toxizität auftrat (Aoyama et al. 2012). Ab 17,8 mg/kg KG werden Missbildungen in Form von bilateral welligen Rippen bei Ratten festgestellt (ATSDR 2002; Khera et al. 1978). Der NOAEL für pränatale Entwicklungstoxizität bei Kaninchen liegt bei 5 mg/kg KG und Tag (ATSDR 2002). Beim LOAEL von 35,5 mg/kg KG und Tag war bei gleichzeitiger Maternaltoxizität die Körpergewichtszunahme der Feten vermindert und das Geschlechterverhältnis zu den weiblichen Tieren hin verschoben (ATSDR 2002).

Auch der NOAEL für postnatale Entwicklungstoxizität bei Ratten kann aus der 2-Generationenstudie (Aoyama et al. 2012) abgeleitet werden. Der NOAEL beträgt 0,9 mg/kg KG und Tag, ab 44 mg/kg KG und Tag wurden postnatale Effekte auf die Körpergewichtsentwicklung, auf die absoluten oder relativen Thymus- und Uterusgewichte sowie auf die sexuelle Entwicklung der Nachkommen (vorzeitige Vaginalöffnung, verzögerte Präputialtrennung, verlängerter Östruszyklus) beobachtet. In weiteren Studien zur postnatalen Entwicklungstoxizität traten ab Dosierungen von 5 mg/kg KG und Tag



## 32 Methoxychlor

bei den weiblichen Ratten Effekte in Form von vorzeitiger Vaginalöffnung, unregelmäßiger Östruszyklen sowie Dysplasie des Uterus (Chapin et al. 1997) und bei den männlichen Nachkommen in Form von erniedrigter Anzahl an Spermatogonien und Spermatiden auf (Staub et al. 2002).

Für die immuntoxische Wirkung nach peri- und postnataler Behandlung ergibt sich für Ratten ein NOAEL von 0,8 mg/kg KG und Tag für die männlichen Nachkommen (White et al. 2005), für die weiblichen Nachkommen beträgt der NOAEL 0,6 mg/kg KG und Tag (Guo et al. 2005). Erste Effekte treten bei den männlichen Ratten ab 8 mg/kg KG und Tag (Zunahme der Antikörper-bildenden Zellen, Abnahme des absoluten Thymusgewichts, der B-Zellen und der natürlichen Killerzellen; White et al. 2005) und bei den weiblichen Ratten ab 5,6 mg/kg KG und Tag auf (Abnahme der Zahl der Granulozyten-Makrophagen-Vorläuferzellen; Guo et al. 2005).

Zur Bewertung der fruchtschädigenden Wirkung wird wie zur Ableitung des MAK-Wertes (siehe Abschnitt 6) der NOAEL von 0,9 mg/kg KG und Tag aus der 2-Generationenstudie an Ratten (Aoyama et al. 2012) herangezogen. Der NOAEL für immuntoxische Wirkungen auf die Nachkommen von Ratten (0,8 bzw. 0,6 mg/kg KG und Tag für die männlichen und weiblichen Nachkommen liegt im gleichen Dosisbereich wie der NOAEL für Entwicklungstoxizität.

## 5.6 Genotoxizität

### 5.6.1 In vitro

#### Bakterien

In zwei Tests auf differenzielle Abtötung mit *E. coli* und *Bacillus subtilis* führte Methoxychlor mit Zusatz eines metabolischen Aktivierungssystems zu negativen Ergebnissen (k. w. A.; ATSDR 2002).

In mehreren bakteriellen Mutagenitätstest an *S. typhimurium* und *E. coli* mit und ohne Zusatz eines metabolischen Aktivierungssystems war Methoxychlor nicht mutagen (k. w. A.; ATSDR 2002; California EPA 2010).

#### Säugerzellen

Methoxychlor induzierte bei testikulären Zellen der Ratte oder des Menschen ohne Zusatz eines metabolischen Aktivierungssystems keine Einzelstrangbrüche (ATSDR 2002; California EPA 2010).

In einem UDS-Test an Rattenhepatozyten oder humanen Lungenfibroblasten führte Methoxychlor mit oder ohne Zusatz eines metabolischen Aktivierungssystems nicht zu einer Erhöhung der DNA-Reparatursynthese (ATSDR 2002; California EPA 2010).

Hohe Konzentrationen von Methoxychlor (k. w. A.) inhibierten, niedrige stimulierten die DNA-Synthese, die mittels Thymidin-Einbau bestimmt wurde, in kultivierten Uterus-Epithelzellen oder -Stromazellen von Rindern (Tiemann et al. 1996).

In einem TK<sup>+/-</sup>-Test war Methoxychlor an menschlichen TK-6-Lymphomzellen mit und ohne Zusatz eines metabolischen Aktivierungssystem bis 100 bzw. 300 µg/ml weder genotoxisch noch zytotoxisch. Ab ca. 80 µg/ml war eine Präzipitation der Testsubstanz zu erkennen. An Mauslymphomzellen hingegen führte Methoxychlor im Versuchsansatz mit metabolischer Aktivierung bei gleichzeitiger Zytotoxizität zu einem



positiven Testergebnis. Konzentrationen von mehr als 30 µg/ml wirkten zytotoxisch. Ohne metabolische Aktivierung war bis zur Präzipitation der Testsubstanz bei 80 µg/ml keine erhöhte Mutationsrate zu beobachten (Caspary et al. 1988). Die Ergebnisse sind teilweise nur aus graphischen Darstellungen herauszulesen. Aufgrund der nicht ausreichenden Dokumentation (keine Einzeldaten, keine Angaben zu den eingesetzten Dosierungen) ist der Test nicht zur Beurteilung der genotoxischen Wirkung geeignet.

In drei weiteren TK<sup>+/-</sup>-Mutationstests an Mauslymphomzellen wirkte Methoxychlor unter Zusatz eines metabolischen Aktivierungssystems in einem Test ab 20 µg/ml bei einem relativen Gesamtwachstum der Zellen von unter 20% dosisabhängig genotoxisch. Die Mutationsrate stieg im Vergleich zur Kontrolle um das 2,2- bis maximal 3-Fache an, wobei die Mutationsrate bei der Wiederholung in der Kontrolle um das 4-Fache höher lag (Mitchell et al. 1988). In zwei anderen Tests zeigte sich keine Dosisabhängigkeit, sondern ein Plateau ab der ersten signifikanten Konzentration (nahe der Zytotoxizität) (Myhr und Caspary 1988; Oberly et al. 1993). Ohne metabolische Aktivierung verliefen die Tests negativ (Mitchell et al. 1988; Myhr und Caspary 1988; Oberly et al. 1993).

In CHO-Zellen induzierte Methoxychlor weder mit noch ohne Zusatz eines metabolischen Aktivierungssystems im Konzentrationsbereich von 5 bis 100 µg/ml vermehrte Mutationen am HPRT-Lokus. Mit metabolischer Aktivierung trat ab 60 µg/ml Zytotoxizität auf (Oberly et al. 1993). In keiner der Genmutationsstudien liegen Angaben zur Reinheit der Substanz vor.

### Zusammenfassung

An Bakterien zeigte Methoxychlor in mehreren Tests keine mutagene Wirkung. Ohne metabolische Aktivierung erwies sich Methoxychlor als nicht genotoxisch in Säugerzellen von Mensch, Maus und Hamster. Hingegen lieferte eine In-vitro-Untersuchung mit metabolischer Aktivierung im TK<sup>+/-</sup>-Test an Mauslymphomzellen ein dosisabhängig positives Ergebnis. In zwei weiteren TK<sup>+/-</sup>-Tests zeigte sich keine Dosiswirkungsbeziehung, sondern ein Plateau, was als beginnende Zytotoxizität zu werten ist. Ein weiterer Test ist aufgrund schlechter Dokumentation nicht zur Bewertung des genotoxischen Potenzials geeignet.

### 5.6.2 In vivo

#### Somazellen

Die fünftägige intraperitoneale Gabe von 170 mg/kg KG und Tag an Mäuse (k. w. A.) führte nicht zu einer Erhöhung der DNA-Einzelstrangbrüche in der Leber (Umegaki et al. 1993).

Methoxychlor induzierte bei Mäusen (Q-Stamm) nach einmaliger intraperitonealer Gabe von 10 mg/kg KG keine Chromosomenaberrationen in Knochenmarkszellen (Degraeve et al. 1984).

#### Keimzellen

In drei SLRL-Tests an *Drosophila melanogaster* führte Methoxychlor zu negativen Ergebnissen (k. w. A.; ATSDR 2002; California EPA 2010).

Nach einmaliger intraperitonealer Gabe von 10 mg/kg KG an Mäuse wurde keine er-

## 34 Methoxychlor

höhte Häufigkeit von Chromosomenaberrationen in primären Spermatozyten und Spermato gonien gefunden (k. w. A.; ATSDR 2002).

### Zusammenfassung

Die In-vivo-Untersuchungen geben keinen Hinweis auf ein genotoxisches Potenzial, sind jedoch auch nicht bis zur maximal verträglichen Dosis durchgeführt worden. In vitro ergibt sich nur in einem TK<sup>±</sup>-Genmutationstest ein Verdacht auf eine klastogene Wirkung. Valide In-vivo-Untersuchungen zur Klärung liegen nicht vor.

## 5.7 Kanzerogenität

### 5.7.1 Kurzzeitstudien

#### Zelltransformationstests

In Zelltransformationstests mit Embryozellen des Syrischen Hamsters, virusinfizierten Embryozellen von Ratten und Ovarienzellen des Chinesischen Hamsters induzierte Methoxychlor mit und ohne Zusatz eines metabolischen Aktivierungssystems keine Transformationen (Dunkel et al. 1981; Pienta 1980).

Signifikant vermehrte Zelltransformationen traten nach Zusatz eines metabolischen Aktivierungssystems bei Mausfibroblasten auf (Dunkel et al. 1981).

#### Initiations-Promotions-Studien

Die 13-wöchige Gabe von 1000 mg Methoxychlor/kg Futter (entspricht ca. 50 mg/kg KG und Tag, unter der Annahme eines Körpergewichts von 400 g und eines Futterverbrauchs von 20 g pro Tag) an weibliche Sprague-Dawley-Ratten, die 28 Wochen zuvor einmalig 7,12 Dimethylbenz[ $\alpha$ ]anthracen mit der Schlundsonde erhalten hatten, führte zu einer Erniedrigung der Anzahl an Brustdrüsentumoren pro Tier. In einer weiteren Gruppe, denen 24 Wochen nach der Initiation die Ovarien entfernt wurden, hatte Methoxychlor keine Erhöhung der Inzidenzen an Brustdrüsentumoren zur Folge. Hingegen stimulierte das stärker östrogen wirksame  $\beta$ -Östradiol-3-benzoat bei subkutaner Gabe von 5 mg/Tier (k. w. A.) in beiden Versuchsanordnungen das Wachstum von Brustdrüsentumoren. Die Autoren schlossen daraus, dass Methoxychlor keine promovierenden Wirkungen auf Brustdrüsentumoren besitzt und möglicherweise einen leichten inhibierenden Effekt ausübt (Ueda et al. 2002).

Sechs Wochen alten weiblichen kastrierten F344-Ratten wurde zunächst einmalig als Initiator der Schilddrüsenkanzerogenese 2000 mg N-bis(2-Hydroxypropyl)nitrosamin/kg KG subkutan appliziert. Eine Woche später erhielten jeweils zwölf Tiere 20 Wochen lang 0 oder 1000 mg Methoxychlor/kg Futter (entspricht ca. 50 mg/kg KG und Tag), 0,5 mg 17 $\beta$ -Östradiol-3-benzoat/kg Futter oder 1000 bis 10 000 mg Bisphenol A/kg Futter. Jeweils eine Parallelgruppe zu diesen Versuchsgruppen erhielt 200 mg Sulfadimethoxin/l Trinkwasser. Mit dem Trinkwasser verabreichtes Sulfadimethoxin induzierte in anderen Versuchen Schilddrüsenadenome und -karzinome. Die Fütterung von Methoxychlor führte zu signifikant verzögerter Körpergewichtszunahme, vermindertem absoluten Lebergewicht, Anstieg der relativen Gewichte von Hypophyse, Schilddrüse und Uterus und zu reduzierten Schilddrüsenhormonen (T3 und T4), jedoch zu keiner promovierenden Wirkung auf die Schilddrüse. Auch Bisphenol A war in diesem Ver-

such ohne Effekt. Nur das stark östrogen wirksame 17 $\beta$ -Östradiol-3-benzoat induzierte Hyperplasien der Follikelzellen, Adenome und Karzinome der Schilddrüse bei den Tieren der Gruppe, die zusätzlich Sulfadimethoxin erhielten. Die Autoren vermuteten, dass für die Verringerung des T4-Spiegels eine Inhibierung der hepatischen Iodthyronin-5-monodeiodinase durch Methoxychlor verantwortlich ist (California EPA 2010).

Bei einem Initiations-Promotionsexperiment an mit 7,12-Dimethylbenz[ $\alpha$ ]anthracen induzierten Mäusen führten 300 nmol Methoxychlor (0,35  $\mu$ g) in 100  $\mu$ l Aceton, appliziert auf die rasierte Rückenhaut, nach 20-wöchiger Behandlung, zweimal pro Woche, nicht zur Bildung von Papillomen an der Haut (k. w. A.; ATSDR 2002).

### 5.7.2 Langzeitstudien

#### Oral

Die in der Begründung von 1972 zitierte 2-Jahre-Fütterungsstudie an Ratten (Hodge et al. 1952), sowie eine weitere Studie an Ratten aus den 1960er Jahren (Deichmann et al. 1967) entsprechen nicht den heutigen Prüfkriterien. In den Studien traten bei Dosierungen von bis zu etwa 80 mg/kg KG und Tag keine erhöhten Tumorinzidenzen auf (California EPA 2010).

In einer 78-Wochen-Studie des NCI (National Cancer Institute) waren die Tumorinzidenzen bei Osborne-Mendel-Ratten und B6C3F1-Mäusen, die 107 bzw. 599 mg Methoxychlor/kg KG und Tag mit dem Futter erhalten hatten, im Vergleich zu den Kontrollen statistisch nicht signifikant erhöht (ATSDR 2002; California EPA 2010).

In den Dokumenten von ATSDR (2002) und California EPA (2010) wird über eine Studie aus den 1970er Jahren (Reuber 1979 a, b, 1980) berichtet, in der nach oraler Gabe erhöhte Inzidenzen von Lebertumoren bei Ratten, Mäusen und möglicherweise auch bei Hunden, sowie testikuläre Tumoren bei Mäusen, Knochentumoren bei weiblichen Mäusen und Ovarialtumoren bei Ratten beschrieben wurden. Diese Daten wurden von IARC und EPA im Jahre 1987 überprüft und gefolgert, dass bei der Interpretation der histopathologischen Daten erhebliche Differenzen bestanden hatten und ungeeignete Kontrolldaten verwendet worden waren. Die tierexperimentellen Daten zeigen somit kein kanzerogenes Potenzial von Methoxychlor (ATSDR 2002; California EPA 2010).

#### Dermal

Mäuse, denen zwei Jahre lang, einmal pro Woche, 10 mg rekristallisiertes Methoxychlor/kg KG auf die Haut appliziert worden war, wiesen keine erhöhten Tumorinzidenzen auf. Nur die Haut wurde histopathologisch untersucht, die anderen Organe nur makroskopisch (k. w. A.; ATSDR 2002).

### Zusammenfassung und Bewertung

Es liegen negative Ergebnisse von Zelltransformationstests mit und ohne Zusatz eines metabolischen Aktivierungssystems an Embryozellen Syrischer Hamster, virusinfizierten Embryozellen von Ratten und Ovarienzellen des Chinesischen Hamsters vor. Dem entgegen steht ein positives Ergebnis im Zelltransformationstest nach Zusatz eines metabolischen Aktivierungssystems an Mausfibroblasten. Dieses positive Ergebnis ist nicht zu erklären. Unter den In-vitro-Genotoxizitätsstudien ist ebenfalls nur ein mit



## 36 Methoxychlor

Mauszellen durchgeführter TK<sup>+/−</sup>-Mutationstest mit metabolischer Aktivierung positiv ausgefallen. Möglicherweise weisen diese Ergebnisse auf Speziesunterschiede hin. In verschiedenen Untersuchungen an der Brustdrüse oder der Schilddrüse von Ratten und der Haut von Mäusen zeigte Methoxychlor keinen tumorpromovierenden Effekt. Drei Kanzerogenitätsstudien an der Ratte und eine Studie an der Maus geben keinen Hinweis auf ein tumorinduzierendes Potenzial von Methoxychlor. Jedoch ist keine der Studien nach heutigem Standard durchgeführt worden und somit nicht zur abschließenden Bewertung geeignet.

Das erhöhte Risiko für testikuläre Tumoren bei Substanzen mit östrogenen Wirkung, insbesondere bei einer Exposition während der kritischen Entwicklungsphasen, wurde mit Methoxychlor nicht untersucht.

### 5.8 Sonstige Wirkungen

Die östrogene Wirkung von Methoxychlor wurde im Rahmen eines *Uterotrophie-Tests* an 60 Tage alten ovariectomierten Sprague-Dawley-Ratten geprüft. Die Tiere erhielten drei Tage lang mit der Schlundsonde 0, 25, 50 oder 100 mg Methoxychlor/kg KG und Tag (Reinheit: 95%). Sechs Stunden nach der letzten Verabreichung war das Uterusgewicht ab einer Dosis von 50 mg/kg KG und Tag signifikant erhöht. Der NOAEL betrug 25 mg/kg KG und Tag (Laws et al. 2000).

## 6 Bewertung

Methoxychlor greift durch seine östrogene und antiandrogene Aktivität in das endokrine System ein und wirkt dadurch fertilitätsschädigend und entwicklungstoxisch. Weitere Zielorgane sind Immunsystem, Nervensystem sowie Leber und Nieren.

**MAK-Wert.** Erfahrungen beim Menschen oder valide Inhalationsstudien mit Methoxychlor sowie Angaben zur Reizwirkung liegen nicht vor. Nach 28-tägiger oraler Gabe treten Atrophien des Acinus der Brustdrüse und Erhöhung von T4 bei männlichen Ratten mit einem LOAEL von 20 mg/kg KG und Tag auf (Okazaki et al. 2001). Der NOAEL liegt vermutlich nicht wesentlich darunter, da bei dieser Dosis die Effekte nur schwach ausgeprägt sind. In einer 2-Generationen-Fütterungsstudie zeigen weibliche Ratten beeinträchtigte 17- $\beta$ -Östradiolspiegel. Der NOAEL beträgt 0,9 mg/kg KG und Tag. Beim LOAEL von 31 bzw. 44 mg/kg KG und Tag sind zudem bei männlichen und weiblichen Tieren Futteraufnahme und Körpergewicht erniedrigt (Aoyama et al. 2012). Da aus der 28-Tage-Studie kein NOAEL erhalten wurde, wird für die Ableitung des MAK-Wertes der NOAEL aus der 2-Generationenstudie herangezogen. Zur toxikokinetischen Übertragung dieses NOAEL von 0,9 mg/kg KG in eine Konzentration in der Luft am Arbeitsplatz werden berücksichtigt: die tägliche Exposition der Tiere im Vergleich zur fünftägigen Exposition pro Woche am Arbeitsplatz (7:5), der dem toxikokinetischen Unterschied zwischen der Ratte und dem Menschen entsprechende speizesspezifische Korrekturfaktor (1:4), die angenommene orale Resorption (100%),

das Körpergewicht (70 kg) und das Atemvolumen ( $10 \text{ m}^3$ ) des Menschen sowie die angenommene 100%ige inhalative Resorption. Damit errechnet sich eine entsprechende Konzentration von  $2,2 \text{ mg/m}^3$ . Da dieser Wert von einem NOAEL aus tierexperimentellen Untersuchungen stammt, kann entsprechend der Vorgehensweise der Kommission (siehe Abschnitt I der MAK- und BAT-Werte Liste) ein MAK-Wert von  $1 \text{ mg Methoxychlor/m}^3$  für die einatembare Fraktion abgeleitet werden.

**Spitzenbegrenzung.** Methoxychlor bleibt wegen der systemischen Wirkung als kritischem Effekt der Kurzzeitwert-Kategorie II zugeordnet. Die Halbwertszeit ist länger als 8 Stunden, daher wird entsprechend der Vorgehensweise der Kommission (siehe Begründung „Spitzenbegrenzung“ 2011) der bisherige Überschreitungsfaktor von 8 bestätigt.

**Fruchtschädigende Wirkung.** Methoxychlor wirkt nach oraler Gabe entwicklungstoxisch, insbesondere auf die Reproduktionsorgane der Nachkommen. Valide Entwicklungstoxizitätsstudien an Mäusen liegen nicht vor. Bei der Ratte beträgt der NOAEL für die pränatale und postnatale Entwicklungstoxizität  $0,9 \text{ mg/kg KG}$  und Tag aus der 2-Generationenstudie, aus der der MAK-Wert (siehe Abschnitt MAK-Wert) abgeleitet wurde. Ab  $44 \text{ mg/kg KG}$  und Tag (LOAEL) traten Effekte an den Nachkommen auf und es lag Maternaltoxizität vor (Aoyama et al. 2012). Nach peri- und postnataler Behandlung von Ratten ergibt sich ein NOAEL für immuntoxische Wirkungen auf die Nachkommen ( $0,8$  bzw.  $0,6 \text{ mg/kg KG}$  und Tag für die männlichen und weiblichen Nachkommen, der im gleichen Dosisbereich liegt wie der NOAEL für Entwicklungstoxizität. (siehe Abschnitt 5.5.2 Zusammenfassung)

Zur toxikokinetischen Übertragung des NOAEL für Entwicklungstoxizität bei der Ratte von  $0,9 \text{ mg/kg KG}$  und Tag und von  $5 \text{ mg/kg KG}$  und Tag beim Kaninchen in eine Konzentration in der Luft am Arbeitsplatz werden berücksichtigt: der dem toxikokinetischen Unterschied zwischen der Ratte bzw. dem Kaninchen und dem Mensch entsprechende speziesspezifische Korrekturwert ( $1:4$  bzw.  $1:2,4$ ), die angenommene orale Resorption (100%), das Körpergewicht (70 kg) und das Atemvolumen ( $10 \text{ m}^3$ ) des Menschen sowie die angenommene 100%ige inhalative Resorption. Damit errechnet sich eine entsprechende Konzentration in der Luft von  $1,6 \text{ mg/m}^3$  für die Ratte bzw.  $15 \text{ mg/m}^3$  für das Kaninchen. Das entspricht einem 2- bzw. 15-fachen Abstand dieser berechneten NOAEC für Entwicklungstoxizität zum MAK-Wert von  $1 \text{ mg/m}^3 \text{ E}$ . Da der zweifache Abstand der berechneten Luftkonzentration bei der Ratte zum MAK-Wert von  $1 \text{ mg/m}^3 \text{ E}$  nicht ausreichend groß ist, und außerdem auch mit immuntoxischen Wirkungen im gleichen Dosisbereich zu rechnen ist, erfolgt für Methoxychlor eine Umstufung von Schwangerschaftsgruppe D in Schwangerschaftsgruppe B.

**Krebserzeugende Wirkung.** Mehrere Studien mit oraler Applikation an Ratten und Mäusen und eine Studie mit dermalen Verabreichung an Mäuse geben keinen Hinweis auf ein tumorinduzierendes Potenzial von Methoxychlor. Jedoch ist keine der Studien nach heutigem Standard zur abschließenden Bewertung geeignet. Auch Tumorpromotionsexperimente weisen nicht auf eine derartige Wirkung hin. Es liegen negative Ergebnisse von Zelltransformationstests mit und ohne Zusatz eines metabolischen Aktivierungssystems an Zellen von Hamstern und Ratten vor. Dem entgegen steht ein positives Ergebnis nach metabolischer Aktivierung an Mausfibroblasten. Das erhöhte Risiko

für testikuläre Tumoren bei Substanzen mit östrogenen Wirkung, insbesondere bei Exposition während kritischer Entwicklungsphasen, wurde mit Methoxychlor nicht untersucht. Methoxychlor wird auf Basis der vorliegenden Untersuchungen nicht in eine der Kategorien für kanzerogene Arbeitsstoffe eingestuft.

**Keimzellmutagene Wirkung.** An Bakterien zeigt Methoxychlor in mehreren Tests keine mutagene Wirkung, ebenso werden keine DNA-Strangbrüche induziert. Ohne metabolische Aktivierung ist Methoxychlor in Säugerzellen von Mensch, Maus und Hamster nicht mutagen. Hingegen liefern die In-vitro-Untersuchungen mit metabolischer Aktivierung nur in einem Genmutationstest an Mäuslymphomzellen, nicht aber an Zellen von Mensch und Hamster ein positives Ergebnis, was ein Hinweis auf mögliche Speziesunterschiede ist (ATSDR 2002). Die In-vivo-Untersuchungen geben keinen Hinweis auf ein genotoxisches Potenzial, sind jedoch auch nicht bis zur maximal verträglichen Dosis durchgeführt worden. In drei SLRL-Tests an *Drosophila melanogaster* führt Methoxychlor zu negativen Ergebnissen. Methoxychlor wird daher nicht in eine der Kategorien für Keimzellmutagene eingestuft.

**Hautresorption.** Zur Beurteilung der Hautresorption von Methoxychlor liegen keine verwertbaren quantitativen Humandaten vor. In tierexperimentellen Untersuchungen mit Ziegen und Kühen fanden sich Hinweise auf eine Penetrationsfähigkeit von Methoxychlor durch die Haut. Diese liegt in einer Größenordnung wie sie bei Rhesusaffen und auch beim Menschen für die strukturverwandte Verbindung DDT gefunden wurde. Unter Zugrundelegung eines anhand von Daten aus den Experimenten mit Ziegen ermittelten Fluxes von 22 µg pro cm<sup>2</sup> und Stunde würde ein einstündiger Kontakt beider Hände und Unterarme (Fläche 2000 cm<sup>2</sup>) gegenüber einer Lösung von Methoxychlor in Dichlormethan (initiale Konzentration 200 g/l) zu einer Aufnahme von 44 mg Methoxychlor führen. Dagegen wird bei Exposition in Höhe des MAK-Werts 10 mg aufgenommen. Durch Hautresorption ist somit eine systemische Aufnahme toxikologisch relevanter Substanzmengen möglich. Methoxychlor wird deshalb mit „H“ markiert.

**Sensibilisierende Wirkung.** Zur Sensibilisierung liegen keine Daten beim Tier vor, und auch beim Menschen ist keine Sensibilisierung bekannt. Daher erfolgt weder eine Markierung mit „Sh“ noch mit „Sa“.

## 7 Literatur

- Aoyama H, Hojo H, Takahashi KL, Shimizu-Endo N, Araki M, Takeuchi-Kashimoto Y, Saka M, Teramoto S (2012) Two-generation reproduction toxicity study in rats with methoxychlor. *Congenit Anom (Kyoto)* 52: 28–41
- ATSDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry) (2002) Toxicological profile for methoxychlor. US Department of Health and Human Services, National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA
- ATSDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry) (2009) Addendum to the toxicological profile for methoxychlor. US Department of Health and Human Services, National Institutes of Health, Atlanta, GA, USA
- Bal HS (1984) Effect of methoxychlor on reproductive systems of the rat. *Proc Soc Exp Biol Med* 176: 187–196

- Blair A, Freeman LB (2009) Epidemiologic studies in agricultural populations: observations and future directions. *J Agromedicine* 14: 125–131
- Caspary WJ, Langenbach R, Penman BW, Crespi C, Myhr BC, Mitchell AD (1988) The mutagenic activity of selected compounds at the TK locus: rodent vs. human cells. *Mutat Res* 196: 61–81
- California EPA (California Environmental Protection Agency) (2010) Public health goals for Methoxychlor in drinking water. California Public Health Goal (PHG) prepared by Pesticide and Environmental Toxicology Branch Office of Environmental Health Hazard Assessment, September 2010, California Environmental Protection Agency, Sacramento, CA, USA
- Chapin RE, Harris MW, Davis BJ, Ward SM, Wilson RE, Mauney MA, Lockhart AC, Smialowicz RJ, Moser VC, Burka LT, Collins GM (1997) The effects of perinatal/juvenile methoxychlor exposure on adult rat nervous, immune, and reproductive system function. *Fundam Appl Toxicol* 40: 138–157
- Chiu BC, Blair A (2009) Pesticides, chromosomal aberrations, and non-Hodgkin's lymphoma. *J Agromedicine* 14: 250–255
- Cummings AM, Gray LE (1989) Anti-fertility effect of methoxychlor in female rats: Dose- and time-dependent blockade of pregnancy. *Toxicol Appl Pharmacol* 97: 454–462
- Cummings AM, Laskey J (1993) Effect of methoxychlor on ovarian steroidogenesis: role in early pregnancy loss. *Reprod Toxicol* 7: 17–23
- Cummings AM, Perreault SD (1990) Methoxychlor accelerates embryo transport through the rat reproductive tract. *Toxicol Appl Pharmacol* 102: 110–116
- Davison KL, Lamoureux CH, Feil VJ (1983) Methoxychlor metabolism in goats. 2. Metabolites in bile and movement through skin. *J Agric Food Chem* 31: 164–166
- Degraeve N, Chollet M-C, Moutschen J (1984) Evaluation of the mutagenic potential of four commercial mixtures of insecticides. *Food Chem Toxicol* 22: 683–687
- Deichmann WB, Keplinger M, Sala F, Glass E (1967) Synergism among oral carcinogens. IV. The simultaneous feeding of four tumorigens to rats. *Toxicol Appl Pharmacol* 11: 88–103
- Dreier J, Kordysh E (2006) Non-Hodgkin lymphoma and pesticide exposure: 25 years of research. *Acta Haematol* 116: 153–164
- Dunkel VC, Pienta RJ, Sivak A, Traul KA (1981) Comparative neoplastic transformation responses of Balb/3T3 cells, syrian hamster embryo cells, and rauscher murine leukemia virus-infected fischer 344 rat embryo cells to chemical carcinogens. *J Natl Cancer Inst* 67: 1303–1312
- Gioiosa L, Fissore E, Ghiradelli G, Parmigiani S, Palanza P (2007) Developmental exposure to low-dose estrogenic endocrine disruptors alters sex differences in exploration and emotional responses in mice. *Horm Behav* 52: 307–316
- Goldman JM, Cooper RL, Rehnberg GL, Hein JF, McElroy WK, Gray LE Jr (1986) Effects of low subchronic doses of methoxychlor on the rat hypothalamic-pituitary reproductive axis. *Toxicol Appl Pharmacol* 86: 474–483
- Golub MS, Hogrefe CE, Germann SL, Lasley BL, Natarajan K, Tarantal AF (2003) Effects of exogenous estrogenic agents on pubertal growth and reproductive system maturation in female rhesus monkeys. *Toxicol Sci* 74: 103–113
- Golub MS, Germann SL, Hogrefe CE (2004 a) Endocrine disruption and cognitive function in adolescent female rhesus monkeys. *Neurotoxicol Teratol* 26: 799–809
- Golub MS, Hogrefe CE, Germann SL, Jerome CP (2004 b) Endocrine disruption in adolescence: immunologic, hematologic, and bone effects in monkeys. *Toxicol Sci* 82: 598–607
- Gray LE, Ostby JS, Ferrell JM, Rhenberg Linder R, Cooper R, Goldman J, Slott V, Laskey J (1989) A dose-response analysis of methoxychlor-induced alterations of reproductive development and function in the rat. *Fundam Appl Toxicol* 12: 92–108
- Guo TL, Zhang XL, Bartolucci E, McCay JA, White KL Jr, You L (2002) Genistein and methoxychlor modulate the activity of natural killer cells and the expression of phenotypic markers by thymocytes and splenocytes in F0 and F1 generations of Sprague-Dawley rats. *Toxicology* 172: 205–215
- Guo TL, Germolec DR, Musgrove DL, Delclos KB, Newbold RR, Weis C, White KL Jr (2005) Myelotoxicity in genistein-, nonylphenol-, methoxychlor-, vinclozolin- or ethinyl estradiol-exposed F1 generations of Sprague-Dawley rats following developmental and adult exposures. *Toxicology* 211: 207–219

- Gupta R, Schuh R, Fiskum G, Flaws JA (2006) Methoxychlor causes mitochondrial dysfunction and oxidative damage in the mouse ovary. *Toxicol Appl Pharmacol* 216: 436–445
- Harris SJ, Cecil HC, Bitman J (1974) Effect of several dietary levels of technical methoxychlor on reproduction in rats. *J Agric Food Chem* 22: 969–973.
- Hodge HC, Maynard EA, Blanchet HJ (1952) Chronic oral toxicity tests of methoxychlor (2,2-di-(p-methoxyphenyl)-1,1,1-trichloroethane) in rats and dogs. *J Pharmacol Exp Ther* 104: 60–66
- Judy BM, Nagel SC, Thayer KA, vom Saal FS, Welshons WV (1999) Low-dose bioactivity of xenoestrogens in animals: fetal exposure to low doses of methoxychlor and other xenoestrogens increases adult prostate size in mice. *Toxicol Ind Health* 15: 12–25
- Kapoor IP, Metcalf RL, Nystrom RF, Sangha GK (1970) Comparative metabolism of methoxychlor, methiochlor and DDT in mouse, insects, and in a model ecosystem. *J Agric Food Chem* 18: 1145–1152
- Khera KS, Whalen C, Trivett G (1978) Teratogenicity studies on linuron, malathion, and methoxychlor in rats. *Toxicol Appl Pharmacol* 45: 435–444
- Kunze FM, Laug EP, Prickett CS (1950) The storage of methoxychlor in the fat of the rat. *Proc Soc Exp Biol Med* 75: 415–416
- Latchoumycandane C, Chitar KC, Mathur PP (2002) The effect of methoxychlor of the epididymal antioxidant system of adult rats. *Reprod Toxicol* 16: 161–172
- Laws SC, Carey SA, Ferrell JM, Bodman GJ, Cooper RL (2000) Estrogenic activity of octylphenol, nonylphenol, bisphenol A and methoxychlor in rats. *Toxicol Sci* 54: 154–167
- Mao Y, Hu J, Ugnat AM, et al. (2000) Non-Hodgkin's lymphoma and occupational exposure to chemicals in Canada. *Ann Oncol* 11: 69–73
- Masutomi N, Shibutani M, Takagi H, Uneyama C, Takahashi N, Hirose M (2003) Impact of dietary exposure to methoxychlor, genistein, or diisononyl phthalate during the perinatal period on the development of the rat endocrine/reproductive systems in later life. *Toxicology* 192: 149–170
- Miligi L, Costantini AS, Benvenuti A, Kriebel D, Bolejack V, Tumino R, Ramazzotti V, Rodella S, Stagnaro E, Crosignani P, Amadori D, Mirabelli D, Sommani L, Belletti I, Troschel L, Romeo L, Miceli G, Tozzi GA, Mendico I, Vineis P (2006) Occupational exposure to solvents and the risk of lymphomas. *Epidemiology* 17: 552–561
- Mitchell AD, Rudd CJ, Caspary WJ (1988) Evaluation of the L5178Y mouse lymphoma cell mutagenesis assay: intralaboratory results for sixty-three coded chemicals tested at SRI International. *Environ Mol Mutagen* 12, Suppl 13: 37–101
- Murono EP, Derk RC, Akgul Y (2006) In vivo exposure of young adult male rats to methoxychlor reduces serum testosterone levels and ex vivo Leydig cell testosterone formation and cholesterol side-chain cleavage activity. *Reprod Toxicol* 21: 148–153
- Myhr BC, Caspary WJ (1988) Evaluation of the L5178Y mouse lymphoma cell mutagenesis assay: intralaboratory results for sixty-three coded chemicals tested at Litton Bionetics, Inc. *Environ Mol Mutagen* 12, Suppl 13: 103–194
- NLM (National Library of Medicine) (2006) Hazardous Substance Data Base, Methoxychlor, <http://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/search>
- NTP (National Toxicology Program) (1997) MG96004: NTP Assessment of the immunotoxicity of methoxychlor (endocrine disruptor) (CAS No. 72-43-5) in male and female Sprague-Dawley rats. Summary, NTP, US Department of Health and Human Services, National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA, <http://ntp-server.niehs.nih.gov/index.cfm?objectid=C46C7021F1F6-975E-77A5A4AF55BA132B>
- NTP (2004) Pubertal toxicity study of vinclozolin, flutamide and phenobarbital in male Sprague-Dawley rats and methoxychlor, ethinyl estradiol and phenobarbital in female Sprague-Dawley rats when administered in corn oil by oral gavage. TherImmune Research Corporation, PB2004-105924, 28.05.2004, Gaithersburg, Maryland; USA, NTP, NIEHS, Research Triangle Park, NC, USA
- Oberly TJ, Michaelis KC, Rexroat MA, Bewsey BJ, Garriott ML (1993) A comparison of the CHO/HGPRT+ and the L5178Y/TK+/- mutation assays using suspension treatment and soft agar cloning: results for 10 chemicals. *Cell Biol Toxicol* 9: 243–257



- Okazaki K, Okazaki S, Nishimura S, Nakamura H et al. (2001) A repeated 28-day oral dose toxicity study of methoxychlor in rats, based on the „enhanced OECD test guideline 407“ for screening endocrine-disrupting chemicals. *Arch Toxicol* 75: 513–521
- Palanza P, Parmigiani S, vom Saal FS (2001) Effects of prenatal exposures to low doses of diethylstilbestrol, o,p'-DDT, and methoxychlor on postnatal growth and neurobehavioral development in male and female mice. *Horm Behav* 40: 252–265
- Palanza P, Morellini F, Parmigiani S, vom Saal FS (2002) Ethological methods to study the effects of maternal exposure to estrogenic endocrine disruptors—a study with methoxychlor. *Neurotoxicol Teratol* 24: 55–69
- Pearce N, McLean D (2005) Agricultural exposures and non-Hodgkin's lymphoma. *Scand J Work Environ Health* 31, Suppl 1: 18–25
- Pienta RJ (1980) Transformation of Syrian hamster embryo cells by diverse chemicals and correlation with their reported carcinogenic and mutagenic activities. In: de Serres FJ, Hollaender A (Hrsg) *Chemical mutagens, Principles and methods for their detection*, Plenum Press, NY, New York: 175–202
- Reuber MD (1979 a) Carcinomas of the liver in Osborne-Mendell rats ingesting methoxychlor. *Life Sci* 24: 1367–1372
- Reuber MD (1979 b) Interstitial cell carcinomas of the testis in BALB/C male mice ingesting methoxychlor. *J Cancer Res Clin Oncol* 93: 173–179
- Reuber MD (1980) Carcinogenicity and toxicity of methoxychlor. *Environ Health Perspect* 36: 205–219
- vom Saal FS, Nagel SC, Palanza P, Boechler M, Parmigiani S, Welshons WV (1995) Estrogenic pesticides: binding relative to estradiol in MCF-7 cells and effects of exposure during fetal life on subsequent territorial behaviour in male mice. *Toxicol Lett* 77: 343–350
- Staub C, Hardy VB, Chapin RE, Harris MW, Johnson L (2002) The hidden effect of estrogenic/anti-androgenic methoxychlor on spermatogenesis. *Toxicol Appl Pharmacol* 180: 129–135
- Stein AA (1968) Comparative methoxychlor toxicity in dogs, swine, rats, monkeys and man. *Ind Med Surg* 37: 540–541
- Stein AA, Serrone DM, Coulston F (1965) Safety evaluation of methoxychlor in human volunteers. *Toxicol Appl Pharmacol* 7: 499
- Tiemann U, Schneider F, Tuschler A (1996) Effects of organochlorine pesticides on DNA synthesis of cultured oviductal and uterine cells and on estrogen receptor of uterine tissue from heifers. *Arch Toxicol* 70: 490–496
- Ueda M, Takagi H, Onodera H, Yasuhara K, Takizawa T, Imai T, Mitsumori K, Matsui T, Hirose M (2002) Enhancing effects of  $\beta$ -estradiol 3-benzoate but not methoxychlor on the promotion/progression stage of chemically-induced mammary carcinogenesis in ovariectomized rats. *Jpn J Cancer Res* 93: 752–759
- Umegaki K, Ikegami S, Ichikawa T (1993) Hepatic DNA damage in mice given organochlorine chemicals (jpn, Abstract engl). *Shokuhin Eiseigaku Zasshi* 34: 68–73
- Vaithinathan S, Saradha B, Mathur PP (2008) Transient inhibitory effect of methoxychlor on testicular steroidogenesis in rat: an in vivo study. *Arch Toxicol* 82: 833–839
- Vaithinathan S, Saradha B, Mathur PP (2009) Methoxychlor-induced alteration in the levels of HSP70 and Clusterin is accompanied with oxidative stress in adult rat testis. *J Biochem Mol Toxicol* 23: 29–35
- Waddell BL, Zahm SH, Baris D, Weisenburger DD, Holmes F, Burmeister LF, Cantor KP, Blair A (2001) Agricultural use of organophosphate pesticides and the risk of non-Hodgkin's lymphoma among male farmers (United States). *Cancer Causes Control* 12: 509–517
- Wang X-J, Bartolucci-Page E, Fenton SE, You L (2006) Altered mammary gland development in male rats exposed to genistein and methoxychlor. *Toxicol Sci* 91: 93–103
- Ward M, Colt J, Metayer C, Gunier RB, Lubin J, Crouse V, Nishioka MG, Reynolds P, Buffler PA (2009) Residential exposure to polychlorinated biphenyls and organochlorine pesticides and risk of childhood leukemia. *Environ Health Perspect* 117: 1007–1013
- Weikel Jr JH (1957) The metabolism of methoxychlor (1,1,1 trichloro 2,2-bis(p-methoxyphenyl)ethane). *Arch Int Pharmacodyn Ther* 10: 423–432

## 42 Methoxychlor

- Weisenburger DD (1994) Epidemiology of non-Hodgkin's lymphoma: Recent findings regarding an emerging epidemic. *Ann Oncol* 5, Suppl 1: 19–24
- Wenda-Rózewicka L (1984) Morphometric studies of male gonads from mice receiving insecticides (Metox-30, Sadofos-30 and Foschlor-50). *Folia Biol (Krakow)* 32: 23–33
- Wester RC, Maibach HI, Bucks DA, Sedik L, Melendres J, Liao C, DiZio S (1990) Percutaneous absorption of [<sup>14</sup>C]DDT and [<sup>14</sup>C]benzo[a]pyrene from soil. *Fundam Appl Toxicol* 15: 510–516
- White Jr KL, Germolec DR, Booker CD, Hernandez DM, McCay JA, Delclos KB, Newbold RR, Weis C, Guo TL (2005) Dietary methoxychlor exposure modulates splenic natural killer cell activity, antibody-forming cell response and phenotypic marker expression in F0 and F1 generations of Sprague-Dawley rats. *Toxicology* 207: 271–281
- WHO (World Health Organization) (1977) Methoxychlor. IPCS – Evaluation of the toxicity of pesticide residues in food. JMPR, WHO, Genf
- Wills JH (1969) Effects of chlorinated hydrocarbons on smaller animals as guides in the design of experiments with human volunteers. In: Miller MW, Berg GG (Hrsg) Current research on persistent pesticides chemical fallout, Thomas, Springfield, VA, USA, 461–467
- You L, Casanova M, Bartolucci EJ, Fryczynski MW, Dorman DC, Everitt JJ, Gaido KW, Ross SM, Heck HA (2002 a) Combined effects of dietary phytoestrogen and synthetic endocrine-active compound on reproductive development in Sprague-Dawley rats: genistein and methoxychlor. *Toxicol Sci* 66: 91–104
- You L, Sar M, Bartolucci EJ, McIntyre BS, Sriperumbudur R (2002 b) Modulation of mammary gland development in prepubertal male rats exposed to genistein and methoxychlor. *Toxicol Sci* 66: 216–225

abgeschlossen am 27.02.2013