

# **Human-experimentelle Untersuchungen zur Toxikokinetik von 1,2-Dichlorbenzol nach standardisierten Expositionen**

Inaugural-Dissertation  
zur Erlangung des Grades eines Doktors der  
Humanbiologie  
des Fachbereichs Medizin  
der Justus-Liebig-Universität Gießen

vorgelegt von  
Dr. Mahboobeh Dashti Ardakani  
aus Teheran/ IRAN

Gießen, 2007

Aus dem Institut und der Poliklinik für Arbeits- und Sozialmedizin  
des Fachbereichs Medizin der Justus-Liebig-Universität Gießen  
Kommissarischer Leiter: PD Dr. med. J. Schneider

Gutachter:

Priv. Doz. Dr. rer. nat. Dr. biol. hom. U. Knecht

Gutachter:

Prof. Dr. rer. nat. W. Skrandies

Tag der Disputation:

29.11.2007

Ich erkläre: „Ich habe die vorgelegte Dissertation selbstständig, ohne unerlaubte fremde Hilfe und nur mit den Hilfen angefertigt, die ich in der Dissertation angegeben habe. Alle Textstellen, die wörtlich oder sinngemäß aus veröffentlichten Schriften entnommen sind und alle Angaben, die auf mündlichen Auskünften beruhen, sind als solche kenntlich gemacht. Bei den von mir durchgeführten und in der Dissertation erwähnten Untersuchungen habe ich die Grundsätze guter wissenschaftlicher Praxis, wie sie in der „Satzung der Justus-Liebig-Universität Gießen zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis“ niedergelegt sind, eingehalten.“

# Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b>Einleitung</b>	<b>1</b>
1.1	1,2 DCB in Arbeitswelt und Umwelt	1
1.1.1	Herstellungsverfahren und Produktionsvolumen	1
1.1.2	Verwendung	1
1.1.3	Eintrag und Vorkommen in der Umwelt	2
1.1.4	1,2-DCB in der Allgemeinbevölkerung	2
1.2	Chemische und physikalische Eigenschaften	3
1.2.1	Chemische Bezeichnung	3
1.3	Arbeitsmedizinisch-toxikologische Erfahrungen	4
1.3.1	Aufnahme und Anreicherung im Organismus	4
1.3.2	Metabolismus	5
1.3.3	Toxizität	7
1.3.2.1	Akute Toxizität	7
1.3.3.2	Chronische Toxizität	10
1.3.3.3	Erfahrungen am Menschen	11
1.3.3.4	Untersuchungen zu Kanzerogenität, Teratogenität und Fetotoxizität	11
<b>2</b>	<b>Fragestellung</b>	<b>13</b>
2.1	Sicherheitstechnische Primärprävention durch Grenzwerte am Arbeitsplatz	13
2.1.1	Der MAK-Wert von 1,2-Dichlorbenzol	13
2.1.2	Das Arbeitsziel	
<b>3</b>	<b>Methodik und Material</b>	<b>18</b>
3.1	Methodik	18
3.1.1	Expositionsversuche	18
3.1.1.1	Gleichzeitige Exposition gegenüber 1,2-DCB und Ethanol	20
3.1.2	Probennahme	21
3.1.2.1	Raumluft	21
3.1.2.2	Blut- und Urinproben	21
3.1.3	Probenaufarbeitung und Analytik	22

3.1.3.1	1,2-DCB in Kammerluft	22
3.1.3.2	1,2-DCB in Vollblut und Erythrozyten	23
3.1.3.3	2,3- und 3,4-Dichlorphenol sowie 3,4- und 4,5-Dichlorkatechol im Urin	24
3.1.3.4	Analyse der Urinproben auf deren Kreatiningehalt	25
3.1.3.5	Quantitative Auswertung	25
3.1.3.6	Standardisierung der Messergebnisse und Qualitätssicherung	26
3.1.3.7	Beurteilung des Verfahrens	26
3.2	Material	27
3.2.1	Kollektiv	27
3.2.2	Geräte, Chemikalien und Lösungen	27
3.2.2.1	Geräte	27
3.2.2.2	Chemikalien und Lösungen	28
<b>4</b>	<b>Ergebnisse</b>	<b>30</b>
4.1	Standardisierung der Messergebnisse und Qualitätssicherung	30
		32
4.1.1	Präzision	
4.1.2	Richtigkeit	33
4.1.3	Nachweisgrenzen	34
4.1.4	Externe Qualitätssicherung	35
4.2	1,2-DCB Konzentrationen	35
4.2.1	1,2-DCB in der Raumluft	35
4.2.2	1,2-DCB im Blut	36
4.2.3	1,2-DCB-Konzentrationen im Erythrozyten	38
4.3	1,2-DCB-Metabolite im Urin	40
4.3.1	2,3-Dichlorphenol im Urin	44
4.3.1.1	Halbwertszeiten der 2,3-DCP-Ausscheidung	45
4.3.2	3,4-Dichlorphenol im Urin	47
4.3.2.1	Halbwertszeiten der 3,4-DCP-Ausscheidung	48
4.3.3	3,4-Dichlorkatechol im Urin	50
4.3.3.1	Halbwertszeiten der 3,4-DCK-Ausscheidung	51
4.3.4	4,5-DCK im Urin	53
4.3.4.1	Halbwertszeit der 4,5-DCK-Ausscheidung	53

4.4	Kombinierte Einwirkung von 1,2-DCB und Trinkalkohol (Ethanol)	56
4.4.1	Konzentration von 1,2-DCB im Blut bei einfacher und mit Ethanol kombinierter Einwirkung	56
4.4.2	Die Konzentration der 1,2-DCB-Metaboliten im Urin	58
<b>5</b>	<b>Diskussion</b>	<b>63</b>
5.1	Validität der eingesetzten Analyseverfahren	63
5.1.1	1,2-DCB-Analytik in der Raumluft	63
5.1.2	1,2-DCB-Analytik in Blut- und Erythrozyten	63
5.1.3	1,2-DCB-Metaboliten-Analytik im Urin	64
5.2	Parameter einer inneren Belastung	64
5.2.1	1,2-DCB in Blut/Erythrozyten	65
5.2.2	Metaboliten-Ausscheidung im Urin	66
5.2.2.1	2,3- und 3,4-DCP im Urin	66
5.2.2.2	3,4- und 4,5-DCK im Urin	67
5.3	Konkurrierender Einfluss von Ethanol auf die 1,2-DCB-Toxikokinetik	70
<b>6</b>	<b>Schlussfolgerung</b>	<b>72</b>
<b>7</b>	<b>Zusammenfassung</b>	<b>75</b>
<b>8</b>	<b>Summary</b>	<b>77</b>
<b>9</b>	<b>Literaturverzeichnis</b>	<b>78</b>
	<b>Danksagung</b>	<b>89</b>
	<b>Lebenslauf</b>	<b>90</b>

# 1 Einleitung

## 1.1 1,2-DCB in Arbeitswelt und Umwelt

### 1.1.1. Herstellungsverfahren und Produktionsvolumen

1,2-Dichlorbenzol (1,2-DCB) ist ein aromatischer Kohlenwasserstoff, der durch Chlorierung des Benzolrings entsteht [10, 101].

Die industrielle Produktion von 1,2-DCB erfolgt zum Großteil in Westeuropa, den USA und Japan. 1983 betrug das Produktionsvolumen in diesen Ländern insgesamt ca. 48.000 t. Dabei entfielen 41 % der Produktion auf die USA; 34 % auf Westeuropa und 25 % auf Japan [40].

In der Bundesrepublik Deutschland wurden 1989 ca. 12.000 t 1,2-DCB hergestellt, demgegenüber steht ein Inlandsverbrauch von ca. 15.000 t jährlich [10,101].

Das heutige Standardverfahren zur industriellen Herstellung von 1,2-DCB ist die direkte Chlorierung von Benzol. Dabei wird Benzol in flüssiger Phase unter Katalyse einer Lewis-Säure, z. B. Eisenchlorid, mit Chlor in unterschiedlichen molaren Verhältnissen umgesetzt. Als Reaktionsprodukt fällt ein Gemisch aus chlorierten Benzolen an. Eine Aufarbeitung dieses Chlorierungsproduktes erfolgt über eine fraktionierte Destillation, dabei wird 1,2-DCB als Isomer mit dem höchsten Siedepunkt als letztes aus der Dichlorbenzolfraktion abgetrennt [10].

### 1.1.2 Verwendung

In der Industrie findet 1,2-DCB zum größten Teil Verwendung als Zwischenprodukt organischer Synthesen. Über Nitrierung zu 3,4-Dichlornitrobenzol und anschließende Reduktion erfolgt die Umwandlung von 1,2-DCB in 3,4-Dichloranilin, einem Ausgangsprodukt der Synthese wichtiger Herbizide wie Linuron, Propanil und Diuron [10]. 3,4-Dichlornitrobenzol wird ebenfalls zur Herstellung von Pflanzenschutzmitteln sowie in der Produktion von Farbstoffen und pharmazeutischen Wirkstoffen eingesetzt. Weiterhin findet 1,2-DCB direkte Verwendung als Lösungsmittel, wobei der Einsatz als inertes Lösungsmittel bei der Herstellung von Isocyanaten im Vordergrund steht. Weiterhin wird es als Medium zum Wärmeaustausch, als Entfettungs-Agens und als desinfizierendes Deodorant von Haushaltsabfällen und – abwässern benötigt [2,10, 101].

### 1.1.3 Eintrag und Vorkommen in der Umwelt

Neben seiner industriellen Herstellung und Verwendung ist 1,2-DCB auch in der Umwelt in Spuren nahezu ubiquitär vertreten. Luftuntersuchungen in den USA und in Deutschland ergaben Konzentrationshöchstwerte von  $8,3 \mu\text{g}/\text{m}^3$  für Außenluft und  $0,6 \mu\text{g}/\text{m}^3$  für Raumluft. Bei Trinkwasseruntersuchungen in New Jersey wurden bis zu  $25 \mu\text{g}$  1,2-DCB im Liter Trinkwasser festgestellt. Eine Bodenkontamination mit 1,2-DCB konnte insbesondere in der Umgebung von Mülldeponien für Haushalts- und Industriemüll beobachtet werden. Hier wurden Konzentrationen von bis zu  $50 \text{mg}/\text{kg}$  Untersuchungsmaterial gefunden [8, 10, 101]. Der Eintrag von 1,2-DCB in die Umwelt erfolgt einerseits bei seiner Produktion und Verarbeitung, andererseits soll 1,2-DCB infolge von Stoffwechselprozessen, z. B. durch den Metabolismus des Pestizids Lindan erfolgen [10, 101].

### 1.1.4 1,2-DCB in der Allgemeinbevölkerung

Über die Inkorporation und Belastung der Allgemeinbevölkerung mit 1,2-DCB sind in der Literatur nur wenige Daten verfügbar. In der Hauptsache scheint hierbei die inhalative Aufnahme, z. B. auch über den Zigarettenrauch, eine Rolle zu spielen [18]. Die Aufnahme über Nahrung und Trinkwasser bleibt trotz vermuteter Akkumulation in der Nahrungskette eher von untergeordneter Bedeutung [10, 101].

Wallace (1986) fand in der Atemluft von Bürgern der Stadt Los Angeles  $0,08$ - $0,1 \mu\text{g}/\text{m}^3$  1,2-DCB. In Blutproben von Bewohnern der besonders belasteten Love Canal Area (USA) wurden bis zu  $4 \mu\text{g}/\text{l}$  1,2-DCB festgestellt [97]. In einer Untersuchung von Mes et al. (1986), die 210 Milchproben von Müttern aus fünf verschiedenen Gebieten Kanadas untersuchten, wurden in 69 % der Proben 1,2-DCB Rückstände in von durchschnittlich  $3 \mu\text{g}/\text{kg}$  Muttermilch nachgewiesen [66].

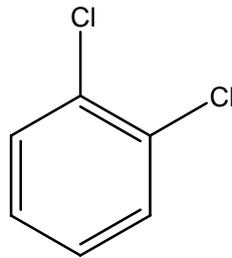
## 1.2 Chemische und physikalische Eigenschaften

### 1.2.1 Chemische Bezeichnung

Summenformel:  $C_6H_4Cl_2$

CAS-Nr.: 95-50-1

Strukturformel:



Synonym: o-Dichlorbenzol  
1,2-Dichlorbenzol

Molmasse (g/mol): 147,004 g/ mol

1,2-DCB ist eine farblose, niedrig viskose Flüssigkeit mit angenehm aromatischem Geruch, die mit den meisten organischen Lösungsmitteln mischbar und in Wasser praktisch nicht lösbar ist [2, 10, 62].

Dampfdruck bei 20 °C: 1,40 hPa

Dichte bei 20 °C: 1,3056 g/ m<sup>3</sup>

Flammpunkt: 66 °C (geschlossener Tiegel)  
74 °C (offener Tiegel)

Geruchsschwelle: 24 µg/ l (in Wasser)

1,83 mg/ m<sup>3</sup> (in Luft)

Löslichkeit in Wasser bei 20 °: 134 mg/ l

## 1.3 Arbeitsmedizinisch-toxikologische Erfahrungen

### 1.3.1 Aufnahme und Anreicherung im Organismus

1,2-DCB wird nach oraler Aufnahme, sowie nach der kutaner oder inhalativer Exposition rasch resorbiert. Seine geringe Wasserlöslichkeit und seine hohe Lipophilie begünstigen eine schnelle Membranpenetration. Die Zellgewebsmembranen der pulmonalen, gastrointestinalen und dermalen Epithelien sowie des cerebralen, hepatischen und renalen , aber auch des placentaren Parenchyms, stellen dementsprechend kaum ein Diffusionshindernis dar [2, 100]. Einen Einfluss auf die Absorptionsraten scheinen hingegen die Position der Chloratome am Benzolring auszuüben [101].

Bei dermalen Applikation auf enthaarter Rattenhaut ( Pinselung einer 10 cm<sup>2</sup> großen Fläche ) wurden nach fünfmaliger Anwendung letale Dosen aufgenommen [82]. In der Literatur wird die LD 50 nach oraler Verabreichung von 1,2-DCB für die Ratte mit 2138 mg/ kg/ KG, bzw. 1516 mg/ kg/ KG angegeben, dabei wird die gastrointestinale Resorption von Chlorbenzolen auch von exogenen Faktoren wie z. B der Anwesenheit von Nahrungsfetten oder Gallenflüssigkeit beeinflusst [31, 70]. In Bezug auf die inhalative Exposition findet sich für die Ratte ein LD 50-Wert von 9192 mg/ m<sup>3</sup> [2, 24, 101].

Die arbeitsmedizinisch relevanten Inkorporationswege stellen die inhalative und perkutane Aufnahme dar. Die orale Aufnahme von 1,2-DCB-Spuren kann im Rahmen einer weitverbreiteten Trinkwasserkontamination eher von umweltmedizinischer Bedeutung sein.

Unabhängig von der Art der Applikation erfolgt nach der Resorption von 1,2-DCB initial eine schnelle Umverteilung in gut durchblickte Gewebe. Anschließend erfolgt jedoch aufgrund seines lipophilen Charakters eine Anreicherung im Fettgewebe bzw. in fettreichem Gewebe [2, 24, 101]. Charbonneau et al. untersuchten an Ratten die Gewebeverteilung von C<sup>14</sup>-markiertem 1,2-DCB 24 Stunden nach oraler Aufnahme von 500 mg/ kg KG [17]. Bezogen auf die verabreichte Substanz enthielten das Fettgewebe 5575 nmol/ g, die Nieren 883 nmol/ g, die Leber 812 nmol/ g und das Plasma 273 nmol/ g. Dabei war ein beträchtlicher Teil der Radioaktivität kovalent an Proteine gebunden. Jacobs et al. berichteten nach der Fütterung von Ratten mit 2-4 mg/ kg KG 1,2-DCB über 4-12 Wochen von einer dosis- und zeitabhängigen Akkumulation von 1,2-DCB in Fettgewebe [49]. Bei Tieren, die im Anschluss ohne

weitere Gabe von 1,2-DCB gehalten wurden, wurde eine Woche post expositionem eine unveränderte Fettgewebkonzentration festgestellt, nach drei Wochen konnte kein 1,2-DCB mehr nachgewiesen werden.

### 1.3.2 Metabolismus

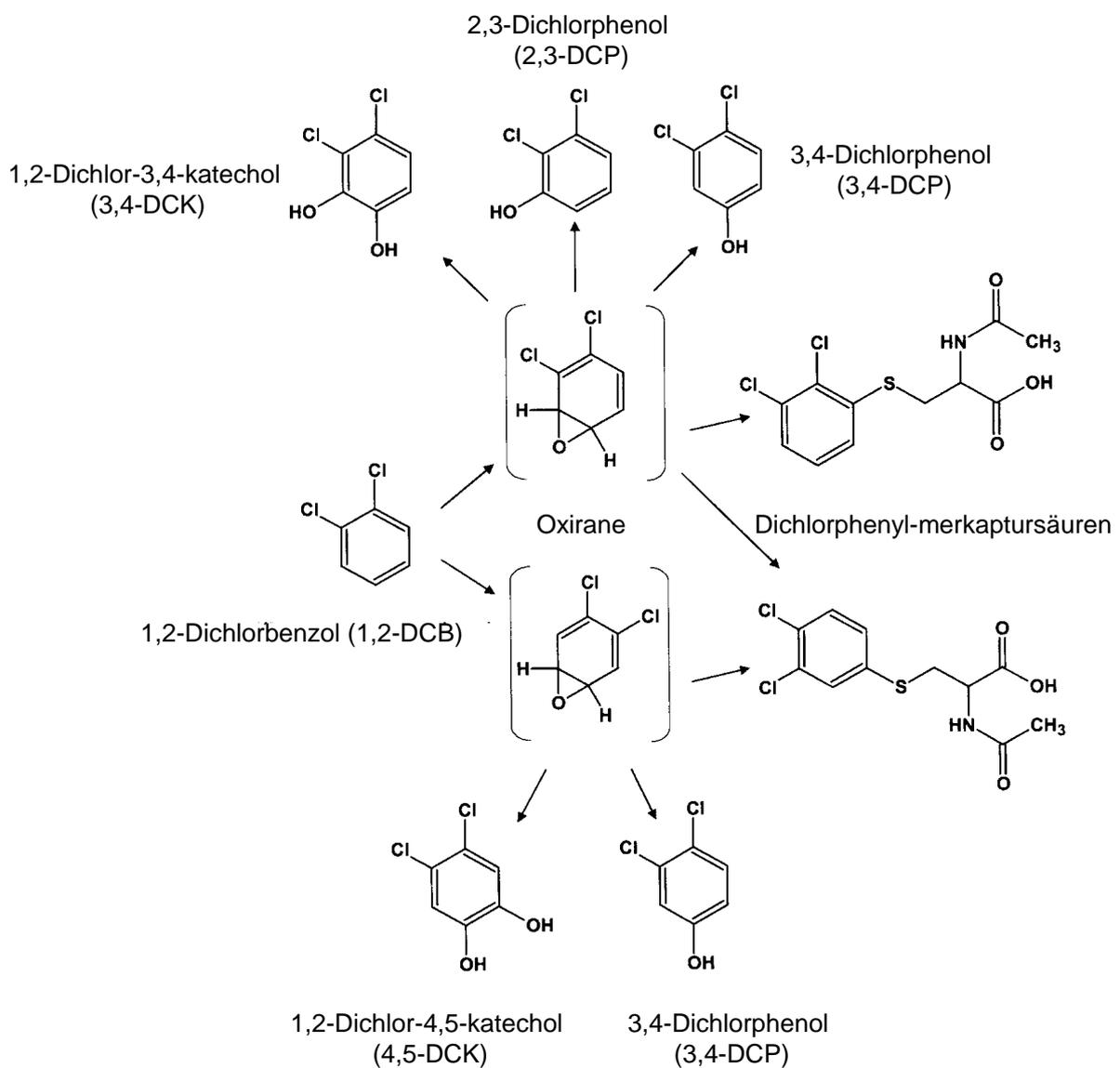
Nach oraler Verabreichung von 1,2-DCB identifizierten Azouz et al. 2,3-Dichlorphenol (2,3-DCP), 3,4-Dichlorphenol (3,4-DCP), 1,2-Dihydroxy-3,4-Dichlorbenzol (3,4-Dichlorkatechol (3,4-DCK)) und 1,2-Dihydroxy-4,5-Dichlorbenzol (4,5-Dichlorkatechol (4,5-DCK)) zum Großteil in konjugierter Form als metabolische Endprodukte von 1,2-DCB in Urin von Kaninchen [7]. Dabei wurden 30% der verabreichten Dosis als 3,4-DCP und ca. 9% als 2,3-DCP ausgeschieden. 4% der Ausgangsmenge von 1,2-DCB wurde zu den genannten Katecholen metabolisiert. Als Konjugate wurden Glucuronide (48%), Sulfate (21%) und Mercaptursäuren (5%) gefunden. Auch bei der Untersuchung von Urinproben 1,2-DCB exponierter Arbeiter wurden die genannten Metaboliten sowie, bis auf Mercaptursäuren, auch die entsprechenden Konjugate qualitativ nachgewiesen [63].

Wie die übrigen Chlorbenzole wird auch 1,2-DCB vorwiegend hepatisch metabolisiert. Im Wesentlichen scheint der Metabolismus über eine mikrosomale Oxidation zu erfolgen, an der Isoenzyme des Cytochrom P450-Monooxygenasensystems ausschlaggebend beteiligt sind [1, 19, 36, 39, 50, 94, 95]. So konnte an in vitro Testsystemen mit menschlichen und tierischen Leberdünnschnittschnitten und auch in vivo an Ratten gezeigt werden, dass die Toxizität von 1,2-DCB durch Gabe bestimmter Induktoren des Mischoxygenasensystems gesteigert wird. Reid und Krishna untersuchten den Stoffwechsel  $C^{14}$  markierten 1,2-DCB's und stellten fest, dass durch Gabe von Phenobarbital, einem bekannten Induktor der Cytochrom P450 Isoenzyme CYP2A1, CYP2A2 und CYP2E1, sowohl die Menge der kovalent an Leberproteine gebundenen Radioaktivität gesteigert werden, als auch das Verschwinden von nicht gebundener Radioaktivität aus der Leber und die renale Exkretion beschleunigt werden konnten [71, 95]. Zugabe von SKF 525A, einem Inhibitor des Mischoxygenasensystems, hatte hingegen den gegenteiligen Effekt. Ein ähnliches Ergebnis zeigen Untersuchungen von Valentovic et al., die bei Induktion des ethanol-

induzierbaren Cytochrom P450 Isoenzyms durch Pyridin einen Anstieg der Hepatotoxizität von 1,2-DCB feststellten [94, 95].

Der Abbauweg von 1,2-DCB führt über verschiedene Intermediärprodukte. Der von Azouz et al. in ihren Versuchen definierte Hauptmetabolit ist ein Monophenol mit Hydroxylgruppe in Para-Stellung zu einem Chloratom, zu einem geringeren Prozentsatz kommt es jedoch auch zu einer Hydroxylierung des Benzolringes in Meta-Stellung zu einem Chloratom [7].

Nach Parke und Williams verläuft der Metabolismus folgendermaßen s. Abbildung 1.1:



**Abb. 1.1:** Metabolismus von 1,2-DCB im Säugetierorganismus [74]

[ ] : bisher nicht nachgewiesene, hypothetische Intermediärprodukte

1. 1,2-DCB wird durch das P450-Cytochrom sowohl wie der 3,4- als auch in der 4,5-Position epoxidiert.

2. Durch spontane Hydrolyse durch die Epoxid-Hydratase zum Diol bzw. Umlagerungen zu Phenolen dieser beiden Epoxide entsteht aus dem 1,2-Dichlor-3,4-epoxybenzol das 1,2-Dichlor-3,4-dihydroxybenzol (1,2-Dichlor-3,4-katechol: 3,4-DCK) sowie die beiden 2,3- und 3,4-Dichlorphenole (2,3-DCP; 3,4-DCP).

Das 1,2-Dichlor-4,5-epoxybenzol hydrolysiert zum 1,2-Dichlor-4,5-dihydroxybenzol (1,2-Dichlor-4,5 Katechol: 4,5-DCK) und dehydriert ferner zum 2,3-Dichlorphenol (2,3-DCP).

3. In einem jedoch untergeordnetem Ausmaß können die beiden Dichlorbenzolepoxide mit Glutathion zusätzlich reagieren und als entsprechende Dichlormercaptursäuren im Harn nachgewiesen werden.

Von Azouz und Mitarbeitern wurden bis zum sechsten Tag nach Exposition 1,2-DCB Metaboliten im Urin nachgewiesen. 3,4-DCP erreichte sein Exkretionsmaximum am ersten Tag post expositionem. Gleiches gilt für 3,4- und 4,5-DCK sowie die Fraktion der konjugierten Metabolite. Die Ausscheidung der Katechole war bis zum dritten Tag nach 1,2-DCB Gabe messbar. Der Höhepunkt der Exkretion von 2,3-DCP lag am zweiten Tag, im Anschluss wurden die Phenole in nahezu gleicher Quantität im Urin nachgewiesen [7].

### **1.3.3 Toxizität**

#### **1.3.3.1 Akute Toxizität**

Akute toxische Effekte von 1,2-DCB werden in der Literatur hauptsächlich im Bereich der Haut und Schleimhäute, des ZNS, der Leber, der Nieren und des hämatologischen Systems beschrieben [24].

Ebenso wie andere Lösungsmittel aus der Reihe der aromatischen Kohlenwasserstoffe wirkt auch 1,2-DCB chemisch irritativ auf Haut und Schleimhäute [61, 104]. Nach inhalativer oder direkter Applikation von 1,2-DCB in flüssiger Form auf Haut oder Schleimhäute von Kaninchen und Ratten werden dosisabhängig Symptome beschrieben, die von einer leichten reversiblen Reizung der Bindehaut mit Tränenfluss bis hin zur Aufnahme letaler Dosen nach mehrmaliger Hautpinselung reichen [10, 82, 47].

Bezüglich der Reizwirkung auf die Epithelien des Respirationstraktes, beobachteten De Ceaurriz et al. einen reflektorischen Abfall der Atemfrequenz um 50 % bei Luftkonzentrationen von 182 ppm 1,2-DCB [20, 21].

Reid et al. beobachteten bei Mäusen nach einer einmaligen intraperitonealen Verabreichung von 1014 mg/kg KG 1,2-DCB Nekrosen von Bronchial- und Bronchiolarepithelzellen [78].

Bei Inhalationsversuchen mit hohen 1,2-DCB Luftkonzentrationen an Mäusen und Ratten wurden zunächst eine zentrale Erregung, später eine ZNS-Depression bis zur Anästhesie, Muskelzuckungen und eine unregelmäßige Atmung beobachtet [10, 47, 82, 84].

Im Vordergrund steht jedoch die hepatotoxische Wirkung von 1,2-DCB, die sowohl nach inhalativer, oraler, subkutaner als auch intraperitonealer Inkorporation auftritt. Histopathologisch drückt sich diese Schädigung in zentrilobulären Nekrosen, Leberzellverfettung und Vakuolisierung des Cytoplasmas aus [1, 10, 14, 22, 43, 94, 101]. Bei oraler Gabe von 1,2-DCB an Fischer 344 Ratten konnte bereits nach 48 Stunden eine Zunahme des Organgewichtes festgestellt werden [22, 94]. Eida et al. beobachteten nach 5-tägiger oraler Verabreichung von 500 mg/kg KG 1,2-DCB an Wistar-Ratten eine zeitabhängige Zunahme des relativen Lebergewichtes [10, 14, 22]. Als weitere Indizien für die Leberzellschädigung durch 1,2-DCB wurden bei Versuchstieren eine Erhöhung der Serumaktivität der leberspezifischen Enzyme GOT, GPT, GLDH und SDH sowie eine Abnahme der intrazellulären K<sup>+</sup>-Konzentration und der Proteinsyntheserate als Zeichen einer Zell- und Membranverletzung sowie eine Erschöpfung der hepatischen Glutathion (GSH)-Reserven beobachtet. Dabei konnte gezeigt werden, dass das Ausmaß der toxischen Wirkung sowohl zeit- als auch dosisabhängig ist [1, 22, 36, 37, 39, 43, 78, 94].

Reid und Krishna postulieren, dass es in der Leber durch das in den Mikrosomen der zentrilobulären Hepatozyten lokalisierte Cytochrom P450-Monooxygenasensystem zur Bildung eines reaktiven Epoxids kommt und sehen die kovalente Bindung dieses Intermediärproduktes an Makromoleküle, bzw. die metabolische Transformation an sich als Hauptursache für die toxische Wirkung von 1,2-DCB an [78]. Durch Versuche, bei denen durch Induktoren und Inhibitoren des Cytochrom P450-Systems die Toxizität von 1,2-DCB gesteigert bzw. gehemmt wurde, konnte diese These erhärtet werden [22, 89].

Obwohl die hepatotoxischen Symptome nach der Aufnahme von 1,2-DCB in der Literatur ausführlich beschrieben werden, sind die Mechanismen, die der initialen Aktivierung folgen, weitgehend unklar [43, 94]. Gunawardhana et al. legen die Vermutung nahe, dass bezüglich der toxischen Wirkung von 1,2-DCB Superoxidationen, die von leberspezifischen, gewebsständigen Makrophagen bei Aktivierung ausgeschüttet werden, eine Mediatoreigenschaft zukommt [43].

Eine Arbeitsgruppe um R. Fisher untersuchte an menschlichen Hepatozyten in vitro den Einfluss des Ernährungsstatus auf die Hepatotoxizität von 1,2-DCB. Dabei minderte ein reiches Nährstoffangebot im Inkubationsmedium die zellschädigende Wirkung des DCB [36].

In verschiedenen Untersuchungen wurde die Hepatotoxizität der drei Dichlorbenzolisomere 1,2-, 1,3- und 1,4-DCB verglichen [1, 12, 22, 89]. Es zeigte sich, dass bezüglich ihrer schädigenden Wirkung innerhalb einer Rasse von Versuchstieren sowie im Vergleich verschiedener Rassen und Spezies erhebliche Unterschiede bestehen. So wird das 1,4-DCB langsamer metabolisiert und besitzt eine weitaus geringere hepatotoxische Wirkung als die beiden übrigen Isomere [1, 12, 41, 36, 39, 78, 94, 95]. Vermutlich wird die Toxizität der Dichlorbenzol-Isomere durch die Stellung der Chloratome am Benzolring beeinflusst [36, 37, 38, 39, 89].

Als akut-toxische Wirkung ist auch die Affektion der Nieren zu werten. Hollingsworth et al. stellten bei Inhalationsstudien mit Meerschweinchen und Ratten, die für mindestens eine halbe Stunde 1,2-DCB Raumluftkonzentrationen von bis zu 977 ppm ausgesetzt waren, eine Erhöhung der Nierengewichte und eine trübe Schwellung des Nierentubulusepithels fest [47]. Weiterhin wurden nach oraler Aufnahme bei Fischer 344 Ratten als Zeichen einer Nierenfunktionseinschränkung eine Steigerung der Diurese, eine Erhöhung des Serumharnstoffes und eine Abnahme der PAH (Paraaminohippursäure)-Konzentration in der Nierenrinde beobachtet [95]. Valentovic et al. zeigten, dass durch Vorbehandlung der Versuchstiere mit Induktoren des Cytochrom P450-Monooxygenasesystems die nephrotoxische Symptomatik aggraviert wurde und schlossen aus dieser Beobachtung, dass auch die renale Schädigung nach 1,2-DCB-Administration von Metaboliten der Ausgangssubstanz verursacht wird [95].

Über eine akute hämatotoxische Wirkung von 1,2-DCB liegen widersprüchliche Angaben vor. Während bei subkutaner Applikation von 1,2-DCB in z. T. letalen Dosisbereichen keine pathologischen Veränderungen festgestellt werden konnten,

wird von Brondeau et al. über eine Leukopenie im peripheren Blut bei Sprague-Dawley Ratten berichtet, die bereits bei einer inhalativen 1,2-DCB Exposition in Höhe von 50 ppm, also einer dem MAK-Wert entsprechenden Konzentration, auftritt [10, 13, 80]. Robinson et al. dagegen beschreiben nach zehntägiger oraler Verabreichung von bis zu 300 mg/ kg KG 1,2-DCB eine signifikante Leukozytose bei Ratten der gleichen Art [83]. Auch bei in vitro Versuchen mit menschlichen Lymphozyten konnte eine cytotoxische Wirkung nachgewiesen werden [13, 75].

### **1.3.3.2 Chronische Toxizität**

Bisher existieren nur wenige Untersuchungen bezüglich der Auswirkungen einer langfristigen 1,2-DCB-Exposition.

Auch bei einer Exposition über einen Zeitraum von mehreren Monaten wurden nach oraler Applikation hepatotoxische Symptome, wie zentrilobuläre, hepatozelluläre Nekrosen, eine Zunahme des Organgewichtes und eine erhöhte Serumkonzentration leberspezifischer Enzyme festgestellt [10, 83].

Weiterhin kam es bei den Versuchstieren zu einer dosisabhängigen Beeinträchtigung der Körpergewichtsentwicklung. Ebenfalls wurden erniedrigte Milz und Thymusgewichte festgestellt. Diese Beobachtung deutet im Zusammenhang mit einer gleichzeitigen lymphoiden Depletion und einer Verminderung von Hämatokrit, Hämoglobingehalt und Zellvolumen der Erythrozyten auf eine Beeinträchtigung der Hämatopoese durch 1,2-DCB und eine immunotoxische Wirkung hin [10]. Bei Langzeitversuchen mit der oralen Verabreichung von 0,1 mg/ kg KG 1,2-DCB an Ratten berichtet Varshavskaya von einer beeinträchtigung des ZNS, Thrombozytose und einer Hemmung der mitotischen Aktivität im Knochenmark [96].

Die beschriebene Symptomatik wurden nach einer oralen Exposition gegenüber dem Lösungsmittel beobachtet, während bei inhalativer Verabreichung nur bei Meerschweinchen eine Erniedrigung der Milzgewichte ohne histologisches Korrelat festgestellt wurde [2,10].

### 1.3.3.3 Erfahrungen am Menschen

Über die Folgen einer 1,2-DCB Exposition im arbeitsmedizinischen Bereich liegen bisher nur wenige Angaben in Form einiger Fallberichte vor, die in Bezug auf die Umstände der Exposition nur ungenaue Daten liefern [101].

Hollingsworth et al. berichten von Arbeitern, die über einen unbestimmten Zeitraum einer 1,2-DCB Raumluftkonzentration von 1 - 44 ppm ausgesetzt waren. Bei regelmäßigen medizinischen Untersuchungen ergaben sich keine Anhaltspunkte für eine Organschädigung oder hämatologische Veränderungen. Personen, die hin und wieder in 1,2-DCB Luftkonzentrationen von ca. 100 ppm arbeiteten, klagten über eine Irritation der Schleimhäute des oberen Respirationstraktes und der Augen [47]. Bei einer 18-jährigen Frau, die in einer chemischen Reinigung beschäftigt und für längere Zeit Mischdämpfen aus 95 % 1,2-DCB und 5 % 1,4-DCB ausgesetzt war, traten eine akute hämolytische Anämie, eine Leukozytose mit Knochenmarkshyperplasie sowie Symptome wie Müdigkeit, Schwindel und Kopfschmerzen auf [10].

Nach Hautkontakt mit 1,2-DCB tritt ein mit der Zeit ein zunehmendes Brennen auf, das nach Beendigung der Applikation reversibel ist. Auf der benetzten Fläche entwickelte sich eine Kontaktdermatitis, die sich zunächst durch eine Hautrötung, nach 24 Stunden mit einem bullösen Exanthem und später durch eine über Monate bestehende braune Pigmentierung ausdrückte [82]. Downing et al. berichten von einem Arbeiter, der durch einen einmaligen Hautkontakt mit 1,2-DCB sensibilisiert wurde [33].

In der Literatur sind einige Fälle bekannt, in denen sich nach Anwendung eines 1,2-DCB-haltigen Lösungsmittelgemisches Leukämien entwickelten. Eine Zuordnung der Befunde zur 1,2-DCB Exposition sind jedoch nicht gesichert [10].

### 1.3.3.4 Untersuchungen zu Kanzerogenität, Teratogenität und Fetotoxizität

Im Rahmen von Untersuchungen des „National Toxicology Program“ und von Herren-Freund & Pereira konnten bei Ratten und Mäusen keine Anzeichen für eine kanzerogene Wirkung von 1,2-DCB gefunden werden [44, 101]. In unterschiedlichen Testsystemen mit Stämmen von *Salmonella typhimurium* und *E.coli* konnten keine Hinweise auf eine DNS schädigende oder mutagene Wirkung von 1,2-DCB

nachgewiesen werden [10]. Colacci et al. zeigten jedoch, dass es nach intraperitonealer Applikation von 1,2-DCB bei Wistar Ratten in dem Maße zu einer kovalenten Bindung von 1,2-DCB an die DNS kommt, wie es für schwache Onkogene charakteristisch ist [19]. Mohtashamipur et al. untersuchten das Knochenmark von NMRI Mäusen nach intraperitonealer 1,2-DCB Gabe und stellten dabei eine moderate clastogene Wirkung fest [68].

Bei trächtigen Ratten, die vom 6. bis 15. Tag nach Gestation inhalativ 1,2-DCB Luftkonzentrationen von bis zu 400 ppm ausgesetzt waren, kam es zu maternaltoxischen Symptomen, wie Verlust von Körpergewicht und Leberveränderungen. Am Nachwuchs kam es bis auf eine verzögerte vertebrale Ossifikation zu keiner signifikanten Erhöhung gröberer Missbildungen. Ähnlich strukturierte Untersuchungen kamen zu dem gleichen Ergebnis [10].

## 2 Fragestellung

### 2.1 Sicherheitstechnische Primärprävention durch Grenzwerte am Arbeitsplatz

#### 2.1.1 Der MAK-Wert von 1,2-Dichlorbenzol

Die Bestimmung des MAK (Maximale Arbeitsplatz Konzentration)-Wertes für 1,2-DCB entspricht einer indirekten Ableitung, da ihre Festlegung auf tierexperimentellen Untersuchungen beruht, bei denen überwiegend eine orale Applikationsform gewählt wurde. Systematische Feldstudien zur Wirkung einer 1,2-DCB-Exposition am Arbeitsplatz sowie Tierversuche, die die direkte Ableitung eines MAK-Wertes ermöglichen wurden, fehlen zur Zeit [24]. Als MAK-Wert für 1,2-DCB wurden bislang  $300 \text{ mg/m}^3$ , entsprechend  $50 \text{ ppm (ml/m}^3)$  festgelegt, da sich in diesem Konzentrationsbereich bislang auch langfristig keine Anhaltspunkte für eine Schädigung ergeben haben. Die Festlegung des Grenzwertes basiert auf den Untersuchungen, bei denen Affektion von Leber und Niere durch 1,2-DCB und seine hämatotoxische Wirkung im Vordergrund stehen. Aufgrund seiner pharmakokinetischen und systemischen Wirkung ist eine Einordnung in die Spitzenbegrenzungsgruppe II, 1 erfolgt.

Zu 1,2-Dichlorbenzol wurde eine Begründung zur Höhe des damaligen MAK-Wertes im Jahre 1988 erstellt. Seitdem durchgeführte Untersuchungen insbesondere zur Toxizität nach wiederholter Applikation haben eine erneute Bewegung erforderlich gemacht. So wurde der MAK-Wert 2001 auf  $61 \text{ mg/m}^3$  bzw.  $10 \text{ ppm}$  herabgesetzt.

Für die Ableitung dieses Wertes ist die systematische Wirkung von 1,2-Dichlorbenzol heranzuziehen, wobei toxische Effekte auf die Leber, die Niere sowie das lymphohämatopoetische System im Vordergrund stehen. So werden erste Effekte auf das Leber- und Nierengewicht in einem Dosisbereich von 20 bis 30 mg/kg KG und Tag beobachtet, die jedoch statistisch nicht signifikant bzw. nicht dosisabhängig ausfallen. Für den Menschen entspricht eine Dosis von 20 – 30 mg/kg KG und Tag unter der Annahme eines Körpergewichtes von 70 kg und eines aufgenommenen Luftvolumens von  $10 \text{ m}^3$  bei einer 8-stündiger Arbeitszeit einer Luftkonzentration von  $140 \text{ mg/m}^3$  bzw. von etwa  $23 \text{ ml/m}^3$ . Der MAK-Wert für 1,2-Dichlorbenzol wurde daher vorläufig auf  $10 \text{ ml/m}^3$  festgestellt. Die Zuordnung zu Kurzzeitwert-Kategorie II bleibt erhalten, der Überschreitungsfaktor wird auf 2 festgelegt, um mögliche Reizwirkungen, die bei Arbeitern auftraten, auszuschließen.

Wegen seiner ausgeprägt lipophilen Eigenschaften und der daraus folgenden Gefahr einer Hautresorption ist 1,2-DCB in der MAK-Werte-Liste mit der Zusatzbezeichnung „H“ versehen.

Hinsichtlich des Risikos einer Fruchtschädigung konnten bei 1,2-DCB auch bei hohen Expositionskonzentrationen keine nachteiligen Effekte bei in vitro und in vivo Versuchen nachgewiesen werden. 1,2-DCB wurde daher der Schwangerschaftsgruppe C, d. h. kein Risiko bei Einhaltung des MAK-Wertes, zugeordnet.

### **2.1.2 Das Arbeitsziel**

Von den jährlich etwa 300.000 neu entwickelten chemischen Formulierungen werden ca. 500 bis 1000 in den industriellen Prozess einbezogen [103].

Bei Betrachtung dieser Größen wird deutlich, in welchem Maße der menschliche Organismus insbesondere am Arbeitsplatz einer Vielzahl von gesundheitsschädlichen und z. T. auch krebserregenden Gefahrstoffen ausgesetzt sein kann.

Entsprechend den § 537 RVO und § 3 ASiG ist es u. a. die Aufgabe der Arbeitsmedizin, mögliche gesundheitsschädliche Auswirkungen zu erfassen und zu einer Minimierung des gesundheitlichen Risikos der Beschäftigten im Rahmen hygienischer, medizinischer und technischer Maßnahmen beizutragen [103]. Die Maßgaben zur Überwachung von Belastungsgrenzen, bis zu denen bei einer Exposition gegenüber potentiell gesundheitsschädlichen Arbeitsstoffen von keiner Gefährdung des Arbeitnehmers ausgegangen werden kann, wurden bislang in § 18 der Gefahrstoffverordnung (GefStoffV) konkretisiert.

Vorrangige Bedeutung besitzt dabei die sicherheitstechnische Primärprävention, d. h. die Begrenzung von Gefahrstoff-Konzentrationen am Arbeitsplatz durch ein sogenanntes „Ambient monitoring“. Mit den „Maximalen Arbeitsplatzkonzentrationen (MAK-Werten)“ wurden toxikologisch-arbeitsmedizinisch begründete Grenzwerte ermittelt, anhand derer eine Limitierung der Konzentration eines Arbeitsstoffes in der Luft erfolgt. Diese für nicht kanzerogene Stoffe geltenden Grenzwerte beschreiben so die äußere Belastung auf kollektiver Ebene [25, 103].

Bei dieser auf exogene Faktoren ausgerichteten Betrachtungsweise bleiben jedoch die individuellen Risiken der einzelnen Arbeitnehmer weitgehend unberücksichtigt.

Die tatsächliche Belastung des Einzelnen durch die inhalative Inkorporation eines Arbeitsstoffes kann eine erhebliche Streubreite aufweisen, die einerseits durch die am Arbeitsplatz bestehenden speziellen Randbedingungen, wie z. B. das Atemminutenvolumen in Abhängigkeit von der Schwere der körperlichen Belastung, das Ausmaß einer Hautresorption und Besonderheiten des Stoffwechsel- und Ausscheidungsverhaltens eines Arbeitsstoffes beeinflusst wird [6, 34, 71, 103].

Um diesem Umstand Rechnung zu tragen, wurden von der Arbeitsmedizin und Toxikologie zur Abschätzung der inneren Belastung „Biological Arbeitsstoff-Toleranz-Werte (BAT-Werte)“ evaluiert und in die Praxis umgesetzt [25]. Diese entsprechen Messparameter im Blut oder Harn, wie z. B. die Quantität eines Arbeitsstoffes und/oder seiner Metaboliten bzw. einer dadurch ausgelösten Abweichung eines biologischen Indikators von der Norm. Sie sind als Höchstwerte für gesunde Einzelpersonen konzipiert und werden unter Berücksichtigung einer angemessenen Sicherheitsspanne für Blut und/ oder Harn aufgestellt. Zwischen BAT- und MAK-Werten bestehen unter laborexperimentellen Bedingungen bei inhalativer Aufnahme im Fließgleichgewicht eines Arbeitsstoffes mit Funktionen der Pharmakokinetik formulierbare Beziehungen.

Bei der Betrachtung der gesundheitlichen Gefährdung des einzelnen Arbeitnehmers ist ein biologisches Monitoring anhand des BAT-Werte-Konzeptes dem „Ambient monitoring“ für eine arbeitsmedizinische Risikoabschätzung insofern vorzuziehen, da es die Möglichkeit einer individuellen medizinischen Sekundärprävention bietet und die oben erwähnten Randbedingungen am Arbeitsplatz miterfasst.

Für den Großteil der in Nutzung befindlichen Arbeitsstoffe konnten jedoch bislang keine BAT-Werte erstellt werden. Gründe hierfür liegen teils in mangelnder arbeitsmedizinisch-toxikologischer Erfahrung bezüglich der Gefahrstoffkinetik im Organismus und bestehender Dosis-Wirkungsbeziehungen, teils an dem Defizit zuverlässiger Nachweismethoden von geeigneten Indikatoren einer inneren Belastung und ungenügender Kenntnis probater Untersuchungsmedien und einer sinnvollen Probengewinnung [26, 34, 71, 93, 103].

Auch für 1,2-DCB war die individuelle Risikoabschätzung einer Exposition aufgrund eines fehlenden BAT-Wertes bislang nicht möglich. Das Ziel dieser Arbeit ist es, anhand standardisierter 8-stündiger 1,2-DCB-Expositionen einen Beitrag zur BAT-Wert-Findung für diesen Arbeitsstoff zu erbringen, um einen effektiven

Gesundheitsschutz beruflich exponierter Arbeitnehmer/Innen im Rahmen medizinischen Sekundärprävention gewährleisten zu können.

Folgende Schwerpunkte wurden dabei gesetzt:

1. Entwicklung eines sensitiven und selektiven Analysenverfahrens, das die routinemäßige Bestimmung von 1,2-DCB im Blut und seinen Metaboliten im Urin erlaubt.
2. Auswahl von stoffspezifischen Metaboliten mit hoher diagnostischer Spezifität und Sensitivität bezüglich der Einwirkung von 1,2-DCB.
3. Evaluierung von Daten zur Gefahrstoffkinetik von 1,2-DCB im Blut sowie seiner Metaboliten im Urin bei unterschiedlichen Raumlufkonzentrationen.

Ein schwerwiegendes Problem bei der Evaluation allgemeingültiger Grenzwerte eines Biomonitorings für einen Arbeitsstoff stellen individuelle Interaktionsmöglichkeiten bei der Einwirkung von Schadstoffgemischen dar [71, 103]. Zwar sind die Bat-Werte für einzelne chemische Substanzen konzipiert. Eine Interaktion ist aber häufig darin zu sehen, wenn zusätzlich solche Stoffe inkorporiert werden, von denen Konkurrenzreaktionen ausgehen können.

Vor dem Hintergrund eines ständig steigenden Alkoholkonsums mit einer Verdoppelung des Pro-Kopf-Verbrauches von im Jahre 1957 von 6,1 L Ethanol im Jahr bis 1980 von 12,67 L Ethanol im Jahr, wird auch über einen zunehmenden Konsum alkoholischer Getränke am Arbeitsplatz berichtet [86]. Bei einer repräsentativen Umfrage der Bundeszentrale für gesundheitliche Aufklärung gaben 11% der Befragten an, täglich am Arbeitsplatz Alkohol zu konsumieren und weitere 14% zumindest einmal in der Woche. Da erfahrungsgemäß die Dosis von Trinkalkohol im Vergleich zur Dosis des aufgenommenen Gefahrstoffs deutlich höher einzustufen ist, sind Konkurrenzreaktionen z. B. um metabolisierende Enzyme nicht auszuschließen.

Durch eine gleichzeitige Exposition gegenüber 1,2-DCB und Ethanol soll in dieser Arbeit daher auch ein Beitrag zur Beantwortung folgender Fragen geleistet werden:

1. Kommt es bei gleichzeitiger inhalativer 1,2-DCB-Exposition und oraler Aufnahme von Ethanol zu einer Änderung des Stoffwechselverhaltens gegenüber dem aufgenommenen 1,2-DCB?

2. Wird die Ausscheidungskinetik der 1,2-DCB Metaboliten im Urin verändert?
3. Kann sich ein Ethanolkonsum verfälschend auf die Daten auswirken, die bei einem 1,2-DCB Biomonitoring erhoben werden?

## 3 Methodik und Material

### 3.1 Methodik

#### 3.1.1 Expositionsversuche

Die anstehenden Versuche wurden unter standardisierten Bedingungen in einer Expositions-kammer von ca. 17,5 m<sup>3</sup> Rauminhalt durchgeführt.

Im Gegensatz zu Feldstudien lassen sich mittels human-experimenteller Expositionsversuche in einer Untersuchungskammer reproduzierbare quantitative Beziehung zwischen äußerer und innerer Belastung herleiten. Sie können somit eine Verknüpfung zwischen MAK- und BAT-Werten darstellen, da unter laborexperimentellen Bedingungen bei inhalativer Aufnahme in Fließgleichgewicht eines Arbeitsstoffes mit Funktionen der Pharmakokinetik formulierbare Beziehungen zwischen äußerer und innerer Belastung bestehen. Anhand von standardisierten Expositionen können vorteilhaft Randbedingungen am Arbeitsplatz, wie der Einfluss körperlicher Arbeit oder Abweichungen des Stoffwechsel- und Ausscheidungsverhaltens eines Gefahrstoffes z. B. durch konkurrierende Einwirkung durch Alkohol, berücksichtigt und im Untersuchungsansatz quantifiziert werden. Bei der Evaluierung von Feldstudien, die Beziehungen zwischen innerer und äußerer Belastung beschreiben, bestehen besondere Probleme bei direktem Kontakt mit hautresorbierbaren Arbeitsstoffen. Erfahrungsgemäß treten bei solchen Stoffen häufig Diskrepanzen zwischen verschiedenen Studien auf, die zumeist auf die unterschiedlich stark ausgeprägte Hautresorption zurückgeführt werden können. Standardisierte Expositionen schließen derartige Diskrepanzen aus.

Das Institut und die Poliklinik für Arbeits- und Sozialmedizin in Gießen besitzt auf dem Gebiet der standardisierten Expositionsversuche langjährige Erfahrungen. Die Untersuchungsergebnisse wurden großenteils zur Evaluierung bzw. Re-Evaluierung von BAT-Werten herangezogen. Berücksichtigt wurden dabei insbesondere Untersuchungen zur Bilanzierung möglicher Hautresorptionen über die Gasphase, der Einfluss der Schwere körperlicher Arbeit sowie der konkurrierende Einfluss von Alkohol auf das Metabolisierungsverhalten von Gefahrstoffen [52-58, 105].

Um die Situation am Arbeitsplatz möglichst genau nachzuvollziehen, wurden Probanden entsprechend einer eintägigen Arbeitsschicht für jeweils zweimal 4 Stunden -mit einer 45 minütigen Pause nach 4 Stunden- unterschiedlichen 1,2-DCB

Konzentrationen im Bereich von 10-100% des geltenden MAK-Wertes für 1,2-DCB von  $61 \text{ mg/ m}^3$  exponiert.

Die Luftkonzentration in der Versuchskammer wurde kontinuierlich überwacht. Außerdem wurden Raumtemperatur und relative Luftfeuchtigkeit stündlich von den Probanden protokolliert.

Die Versuchspersonen selbst verrichteten während der Exposition in der Regel sitzende Tätigkeiten. Um eine praxisorientierte körperliche Tätigkeit nachzuvollziehen, erfolgte stündlich eine 10 minütige Belastung auf dem Fahrradergometer bei 75 Watt.

Subjektive Beschwerden, insbesondere solche, die zum Abbruch des Versuches geführt hätten, wurden von den Probanden protokolliert und konnten über eine Gegensprechanlage mitgeteilt werden.

Die Innenwände der Kammer waren mit Aluminiumfolie ausgekleidet, um Adsorptionen von 1,2-DCB an den Wänden zu vermeiden. Ausgestaltet war die Kammer mit einer Lampe, einem Schreibtisch und -stuhl, einem Fahrradergometer, einem Thermohygrometer zum Ablesen der Raumtemperatur und der relativen Luftfeuchtigkeit, sowie aus einem Ventilator, der für eine ausreichende Luftumwälzung und somit auch für eine homogene Verteilung von 1,2-DCB in der Kammer sorgte. Die Luftkonzentration des Lösungsmittels wurde mittels eines air-samplers kontinuierlich überprüft.

Der optische und akkustische Kontakt zwischen Proband und Betreuer war während des gesamten Versuchszeitraumes über ein Sichtfenster und eine Gegensprechanlage gewährleistet. Die Durchführung derartiger Expositionsversuche wurde von der Ethik – Kommission der hiesigen Universität unter Antrags Nr. 63/96 genehmigt. Die Abbildung 3.1 zeigt die Innenansicht der Expositions-kammer.



Abb. 3.1 Expositions-kammer mit Fahrradergometer, Ventilator und Luftprobenahme-Vorrichtung und Sichtfenster in Hintergrund.

### 3.1.1.1 Gleichzeitige Exposition gegenüber 1,2-DCB und Ethanol

Um den konkurrierenden Einfluss von Ethanol auf das Stoffwechselverhalten von 1,2-DCB zu untersuchen, wurden zusätzlich mit 3 der exponierten Probanden weiterer Expositionsversuche in Kombination mit Trinkalkohol unternommen. Eine dieser Versuchspersonen war weiblich, zwei waren männlich.

Dabei wurden identische Luftkonzentrationen wie im ersten Versuchsdurchgang eingestellt. Die angestrebte Blutalkoholkonzentration von 0,3 ‰ wurde nach der Widmark-Formel berechnet:

$$A = \text{BAK} \times p \times r$$

A: aufzunehmende Alkoholmenge in Gramm [g]

BAK: Blutalkoholkonzentration [‰]

p: Körpergewicht [kg]

r: Widmark-Faktor, beschreibt das Verteilungsverhältnis von Ethanol in Blut und übrigen Körper:  $r = 0,7$  bei männlichen Personen  $r = 0,6$  bei weiblichen

Personen Dementsprechend nahmen die männlichen Probanden vor Expositionsbeginn eine Trinkmenge reinen Alkohols von 0,21 g/ kg KG, der weibliche Proband von 0,18 g/ kg KG zu sich. Um die mittlere stündliche Abbaurate des Organismus für Ethanol von ca. 0,15 ‰ auszugleichen und somit möglichst während des gesamten Expositionszeitraumes eine Blutalkoholkonzentration von 0,3 ‰ aufrechtzuerhalten, tranken die Versuchspersonen in jeder Stunde nach Expositionsbeginn zusätzlich eine Alkoholmenge von 0,105 g/ kg KG. Der Alkohol wurde in Form von Wodka ( 40 Vol.-% ) oder Bier ( 4,9 Vol.-% ) angeboten.

### **3.1.2 Probennahme**

#### **3.1.2.1 Raumluft**

Die Kontrolle der Konzentrationen von 1,2-DCB in der Kammerluft während der einzelnen Expositionen erfolgte über Adsorption des Lösungsmittels an Aktivkohle, indem mittels einer Pumpe stündlich für jeweils 15 Minuten bei einer Durchflussrate von 200 ml Kammerluft /min durch ein das Adsorbensmaterial enthaltendes Glasröhrchen gesaugt und laboranalytisch bestimmt wurde.

#### **3.1.2.2 Blut- und Urinproben**

##### *Blut*

Um das Verhalten von 1,2-DCB im Organismus zu untersuchen, wurden den Probanden 4 Stunden nach der ersten Exposition und am Ende des gesamten Expositionszeitraumes jeweils 15 ml venöses Blut entnommen. 5 ml wurden in ein Headspace-Röhrchen mit 50 mg Ammoniumoxalat als Antikoagulans gefüllt und bei -20°C bis zur weiteren Analytik asserviert. Um eine mögliche Aufnahme von 1,2-DCB in die Erythrozyten zu untersuchen, wurde die verbleibenden 10 ml Blut in ein EDTA-Röhrchen überführt und daraus umgehend die Erythrozyten isoliert und asserviert.

Versuchspersonen, die während der 1,2-DCB-Exposition Ethanol zu sich genommen hatten, wurden zur Bestimmung des Blutalkoholgehalts zusätzlich nach vier Stunden und nach Expositionsende je 5 ml venöses Blut entnommen und diese Proben bis zur Analyse dem hiesigen Institut für Rechtsmedizin des Justus-Liebig Universität übergeben.

Insgesamt wurden 94 Blutproben gewonnen, davon wurden 44 zur Vollblutanalyse und die gleiche Zahl zur Erythrozytenuntersuchung sowie 6 zur Bestimmung des Blutalkoholgehalts verwendet.

### *Urin*

Zur Erfassung des Ausscheidungsprofils von 1,2-DCB bzw. seiner Metaboliten im Urin gaben die Versuchspersonen unmittelbar vor Versuchsbeginn eine Urinprobe als Vergleichswert ab, um dann ab Expositionsbeginn über mindestens 36 Stunden fraktioniert Urin zu sammeln. Die Proben wurden in Polyethylenflaschen aufbewahrt, die mit dem Zeitpunkt der Probennahme und dem Probenvolumen gekennzeichnet und zunächst bei  $-20^{\circ}\text{C}$  bis zur weiterer Analytik tiefgefroren wurden. Insgesamt konnten 257 Urinproben asserviert werden.

## **3.1.3 Probenaufarbeitung und Analytik**

### **3.1.3.1 1,2-DCB in Kammerluft**

In Vorversuchen hatte sich gezeigt, dass die analytische Schicht der Aktivkohle-Sammelphasen ausreichte, um alles 1,2-DCB aus dem untersuchten Kammerluftvolumen zu adsorbieren. Die Kontrollschicht wurde somit verworfen und die analytische Schicht der Sammelphase zur Desorption des Lösungsmittels in einem 4 ml-Probengläschen mit Schwefelkohlenstoff versetzt. Für die Einstellung eines Gleichgewichts zwischen Lösungsmittel und Aktivkohle war eine Äquilibrierungszeit von 15 Minuten ausreichend. Anschließend wurde 1  $\mu\text{l}$  des Eluats im Kapillargaschromatographen mit ECD und Integrator analysiert.

Als interner Standard diente Brombenzol in Konzentrationen von 1 mg/ml Schwefelkohlenstoff.

Analytische Arbeitsbedingungen der Gaschromatographie:

Trennsäule:	CP-SIL 19CB	Länge: 50 m
		Innendurchmesser: 0,53 mm
		Filmdicke: 2 $\mu\text{m}$
Temperaturen:	180 $^{\circ}\text{C}$ / 6 min isotherm	
Trägergas:	Stickstoff	
Säulenvordruck:	50 kPa	

Zur Konzentrationsberechnung wurden die Peakflächen von 1,2-DCB und internem Standard miteinander verglichen und gegen die zuvor erstellte Eichkurve aufgetragen.

### 3.1.3.2 1,2-DCB in Vollblut und Erythrozyten

#### *Vollblut*

Um den Gehalt von 1,2-DCB im Vollblut zu untersuchen, wurden zunächst 1 ml der aufgetauten Blutprobe mit 1 ml Hexan in einem 4 ml-Probengläschen versetzt. Dem Lösungsmittel war zuvor Brombenzol in einer Konzentration von 2 µl/ ml Hexan als internen Standard zugegeben worden. Um das im Vollblut befindliche 1,2-DCB in die lipophile Phase zu überführen, wurden die Proben für 10 Minuten geschüttelt. Nach anschließender Trennung der wässrigen und organischen Hexan-Phase durch 5 minütiges Zentrifugieren wurde von der lipophilen Phase 1 µl abpipettiert, in den Gaschromatographen injiziert und unter folgenden Arbeitsbedingungen analysiert:

Trennsäule:	CP-SIL 19CB	Länge: 50 m
		Innendurchmesser: 0,53 mm
		Filmdicke: 2 µm
Temperaturen:	180 °C/ 6 min isotherm	
Trägergas:	Stickstoff	
Säulenvordruck:	50 kPa	

#### *Erythrozyten*

Zur Bestimmung des 1,2-DCB Gehaltes in den Erythrozyten wurden diese durch Zugabe von Aqua bidest. lysiert. 1 ml der so entstandenen Suspension wurde in ein 4ml-Probengläschen überführt, mit 1 ml Hexan, welches 2 µl/ml Brombenzol als internen Standard enthielt, versetzt und auf gleiche Weise, wie das Vollblut aufgearbeitet und untersucht.

Die Konzentration von 1,2-DCB in Vollblut und Erythrozyten wurde durch Integration der Peakflächen von internem Standard und Lösungsmittel und Vergleich mit der Eichgerade berechnet.

### 3.1.3.3 2,3- und 3,4-Dichlorphenol sowie 3,4- und 4,5-Dichlorkatechol im Urin

Da der größte Teil der 1,2-DCB Abbauprodukte nach ihrer Metabolisierung konjugiert wird und nur ein verschwindender Rest unkonjugiert den Körper verlässt, bestand ein wesentlicher Teil der Urinanalytik darin, die vollständige Spaltung der Konjugate durch saure Hydrolyse vorzunehmen. Dazu wurden je 2 ml des aufgetauten Urins in einem 20 ml Schraubgläschen mit 32-prozentiger Salzsäure im Verhältnis 1:1 versetzt. Als interner Standard diente 2,4,5-Trichlorphenol, das in einer Konzentration von 200 mg/ml Aceton vorgegeben wurde. Von dieser Lösung setzte man jeder Probe 0,2 ml zu. Anschließend wurden die Probenansätze zur Spaltung der Glucuronide für zwei Stunden bei 80° C Wasserbad inkubiert. Es hatte sich gezeigt, dass eine optimale Spaltung der Glykosidbindung der oben genannten Katechole bzw. Phenole und der Glucuronsäure nur durch eine Hydrolyse mittels Salzsäure durchzuführen war. Auch der Hydrolysezeitraum war in Vorversuchen optimiert worden. Nach Ablauf der Hydrolysezeit wurden 2 ml 10 N Natronlauge zur Neutralisation zugegeben. Um einer zu starken Hitzeentwicklung durch die Säure-Basenreaktion vorzubeugen, wurden die Proben zunächst auf ca. 4 °C abgekühlt und dann portionsweise mit Natronlauge versetzt.

Für die nachfolgenden Derivatisierungsreaktionen wurde zunächst 0,5 ml Pyridin als Katalysator zugesetzt. Durch diese basische Substanz stellte sich im Probenansatz ein pH-Wert von  $\geq 6,5$  ein. Die eigentliche Umsetzung erfolgte durch die Zugabe von 0,5 ml Acetanhydrid, das unter Katalyse von Pyridin eine Veresterungsreaktion mit den 1,2-DCB Metaboliten ermöglicht, um sie so gaschromatographisch analysierbar zu machen. Um die entstandenen lipophilen Ester aus der wässrigen Phase zu extrahieren, wurde diese mit 2 ml Isooctan überschichtet, fünf Minuten intensiv geschüttelt und anschließend zur Phasentrennung bei 4000 u/min zentrifugiert. Anschließend wurde der organische Lösungsanteil mit den darin angereicherten derivatisierten 1,2-DCB Metaboliten in ein 5 ml-Probengläschen pipettiert und mit wasserfreiem Natriumsulfat versetzt, um eventuell vorhandene Reste der wässrigen Phase aus dem Untersuchungsmaterial zu entfernen.

Die gaschromatographische Analyse wurde unter folgenden Bedingungen vorgenommen:

Trennsäule:	CP-SIL 19CB	Länge: 50 m
		Innendurchmesser: 0,53 mm
		Filmdicke: 2 µm

Temperaturen:	150°C/ 4 min isotherm
	25°C/ min auf 200°C
	200°C/ 2 min isotherm
	20°C/ min auf 260°C
	260°C/ 10 min isotherm
Trägergas:	Stickstoff
Säulenvordruck:	50 kPa

Zur Konzentrationsberechnung wurden die Peakflächen der 1,2-DCB Metabolite unter Berücksichtigung des internen Standards 2,4,5-Trichlorphenol mit Hilfe der Eichkurve ausgewertet.

#### **3.1.3.4 Analyse der Urinproben auf deren Kreatiningehalt**

Um diurese-bedingte Schwankungen auszugleichen, wurde neben dem Volumenbezug zusätzlich die Metabolitenausscheidung auf g-Kreatinin korrigiert [30, 84]. Anhand der Kenntnis dieser Größe können Schwankungen der Urinvolumen gegebenenfalls vernachlässigt werden, da diese linear von der glomerulären Filtrationsrate abhängt und den Vorteil einer relativen Konstanz in der täglichen Ausscheidung bietet.

Zur Bestimmung der Kreatininkonzentration der Urinproben wurden die 1:10 verdünnten Proben mittels eines von Siedel et al. entwickelten enzymatischen Farbttest in einem Autoanalyser bestimmt [88].

#### **3.1.3.5 Quantitative Auswertung**

Zur Erstellung von Kalibrierkurven für die quantitative Bestimmung des 1,2-DCB in Blut und Erythrozyten sowie der 1,2-DCB-Metaboliten im Harn wurden Vergleichsstandards in Schafsblut sowie in Poolharn angesetzt, die mit entsprechend hohen Konzentrationen dieser Analyten dotiert wurden, wie sie auch unter praktischen Gegebenheiten zu erwarten sind. Sie werden in der gleichen Weise wie die zu vermessenden Proben aufgearbeitet und gaschromatographisch analysiert. Man erstellt die Kalibriergeraden, indem der Quotient der Peakflächen des 1,2-DCB bzw. der 2,3- u. 3,4-DCP und des 3,4- u. 4,5-DCK sowie der Peakfläche des internen Standards gegen die dotierten Konzentrationen des Kontrollmaterials aufträgt. Es ist dabei nicht notwendig, bei jeder Analysenserie eine vollständige Kalibrierkurve

aufzunehmen. Die Analyse eines einzigen Vergleichsstandards ist in der Regel ausreichend. In diesem Fall setzt man die Werte, die für diesen Standard ermittelt werden, zu demjenigen Wert in das Verhältnis, der aus der vollständigen Kalibrierkurve für diesen Standard resultiert. Eine neue Eichkurve wird immer dann erstellt, wenn systematische Abweichungen erkennbar sind. Vom Kontrollmaterial kann ein Halbjahresbedarf hergestellt werden, der tiefgefroren mindesten 12 Monate haltbar ist.

Mit den ermittelten Quotienten der Peakflächen des Analyten und des internen Standards geht man in die entsprechende Kalibrierkurve und ermittelt die dazugehörige Konzentration der Metaboliten in mg pro Liter Harn. Ermittelte Reagenzienleerwerte sind vom Ergebnis der Realproben zu subtrahieren.

### **3.1.3.6 Standardisierung der Messergebnisse und Qualitätssicherung**

Zur Sicherung der Qualität der Analysenergebnisse wird gemäß den Richtlinien der Bundesärztekammer verfahren [81]. Zur Präzisionskontrolle wird bei jeder Analysenserie eine Blut- bzw. Harnkontrollprobe mit untersucht, die eine vorgegebene Konzentration an 1,2-DCB bzw. den 2,3-/3,4-DCP oder 3,4-/4,5-DCK aufweist.

### **3.1.3.7 Beurteilung des Verfahrens**

Zur Bestimmung der *Präzision* in der Serie und von Tag zu Tag wird Schafsblut und Poolharn beruflich nicht belasteter Probanden mit definierten Mengen 1,2-DCB bzw. der phenolischen und/oder katecholischen Metabolite versetzt, aufgearbeitet und analysiert. Es wurden jeweils 10-fache Analysen vorgenommen.

Zur Prüfung der *Richtigkeit* des Verfahrens wurden die aufarbeitungsbedingten Verluste bestimmt. Dazu wurde Schafsblut und Poolharn nicht belasteter Personen mit definierten Konzentrationen von 1,2-DCB sowie der Metaboliten hergestellt, aliquotiert und 10 mal nach Aufarbeitung analysiert. Daneben wurden Standards in Aceton hergestellt, die die gleichen Konzentrationen in Blut und Harn aufwiesen und die direkt gaschromatographisch analysiert werden konnten. Durch den Vergleich der Peakflächen der Aceton-Standards mit den entsprechenden Peakflächen der aufgearbeiteten Blut- und Harn-Vergleichsstandards ist der aufarbeitungsbedingte Verlust der einzelnen Analyten ersichtlich.

## 3.2 Material

### 3.2.1 Kollektiv

Als Versuchspersonen stellten sich  $n = 18$  Probanden, 6 Frauen und 12 Männer, zur Verfügung. Sie hatten die weder beruflich noch außerberuflich Umgang mit 1,2-DCB. Das Durchschnittsalter des Kollektives betrug  $\bar{x} \pm s = 29,7 \pm 9,0$  bei einem Minimum von 23 und einem Maximum von 60 Jahren. Sechs der Probanden waren Zigarettenraucher. Allgemeinverfassung und eventuelle gesundheitliche Beeinträchtigungen, insbesondere der Atemwege, wurden über einen Fragebogen erfasst.

Voraussetzung für die Aufnahme der Probanden in das Versuchsprogramm war deren subjektives Wohlbefinden, sowie ihre ausdrückliche schriftliche Einwilligung, als Versuchsperson teilzunehmen, nachdem sie einige Tage zuvor durch ein Informationsblatt und ein ausführliches persönliches Gespräch über die toxischen Wirkungen von 1,2-DCB, den Versuchsablauf und das Ziel der Untersuchungen aufgeklärt worden waren.

### 3.2.2 Geräte, Chemikalien und Lösungen

#### 3.2.2.1 Geräte

- Kammerausstattung
- Ergometer
- Thermohygrometer
- Luftprobennahmesystem
- Adsorptionsröhrchen für Luftprobennahmesysteme (SKC - Charcoal tubes Nr. 226-01)
- Airsampler Alpha-1 der Firma DuPont
  
- Kapillar-Gaschromatograph mit Splitt-/Splittles-Injektor, Flammenionisationsdetektor (FID) und Datenverarbeitungssystem
- Gaschromatographische Geräteausstattung
- Kapillargaschromatograph 5890 A mit Elektroneneinfangdetektor (ECD) der Firma Hewlett Packard
- 5  $\mu$ l-Spritze für Gaschromatographie, vorzugsweise automatischer Probengeber.

5- und 20 ml- Rollrandfläschchen mit PTFE-kaschierten Bördelkappen sowie Verschlusszange.

- GC - Auswerteinheit: Rechenintegrator SP 4100 der Firma Spectraphysics
- Kapillarsäulen: Chrompack CP-SIL 19CB, Länge: 50m, Innendurchmesser: 0,53 mm, Filmdicke: 2 µm
- Allgemeine labortechnische Ausstattung
- 10 ml EDTA-Röhrchen
- Probengläschen mit teflonkaschierten Deckscheiben, Bördel-bzw. Schraubkappen
- Eppendorf-Multipipetten für verschiedene Volumenbereiche
- Wasserbad D8 der Firma Haake
- Probenschüttler KS 500 der Firma Janke & Kunkel
- Labofuge GL der Firma Heraeus Sepatech
- Megafuge 1,0 der Firma Heraeus Sepatech
- Autoanalyser Cobas Mira der Firma Hoffmann-Roche
- Trockenschrank
- Zentrifuge

### 3.2.2.2 Chemikalien und Lösungen

Zur Probenaufarbeitung, sowie zur Erarbeitung des Analysenverfahrens wurden folgende Chemikalien verwendet:

Standardsubstanzen:

- 1,2-Dichlorbenzol ( 1,2-DCB )
- 2,3-Dichlorphenol ( 2,3-DCP )
- 3,4-Dichlorphenol ( 3,4-DCP )
- 3,4-Dichlorkatechol (3,4-DCK)
- 4,5-Dichlorkatechol ( 4,5-DCK )
- Di-tert-Butylkresol p.a.
- XAD-4 reinst 0,2-0,4 mm
- Schwefelsäure p.a. ( 96% )
- Diethylether p.a.
- Diazomethan



## 4 Ergebnisse

### 4.1 Standardisierung der Messergebnisse und Qualitätssicherung

Das zur Sicherung der Qualität der Analyseergebnisse hergestellte Kontrollmaterial auf Basis von Vergleichsstandards zeigt die in der folgenden Abbildung 4.1 dargestellte Kalibrierkurven für 1,2-DCB in Luft (A) und Blut (B).

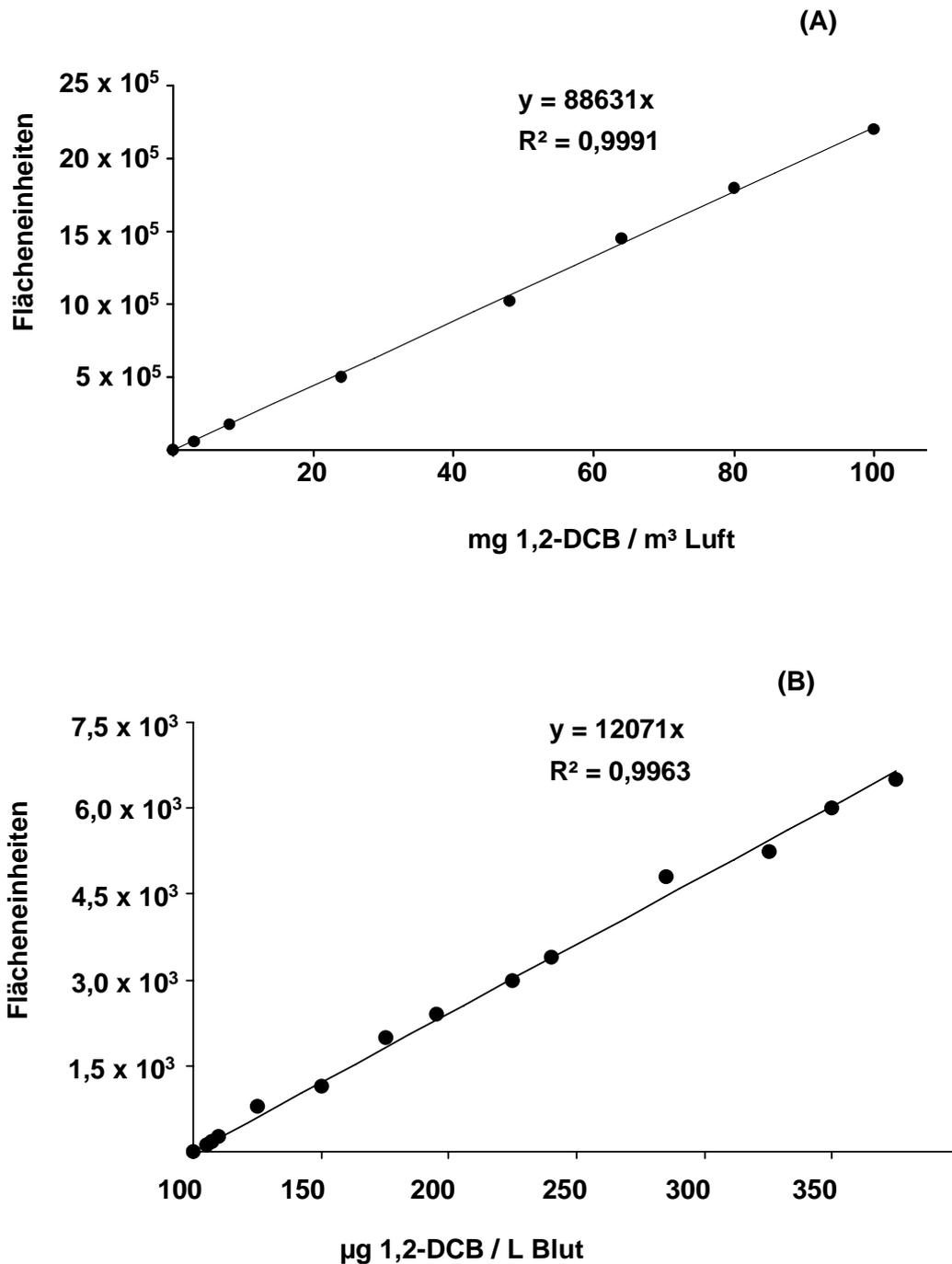
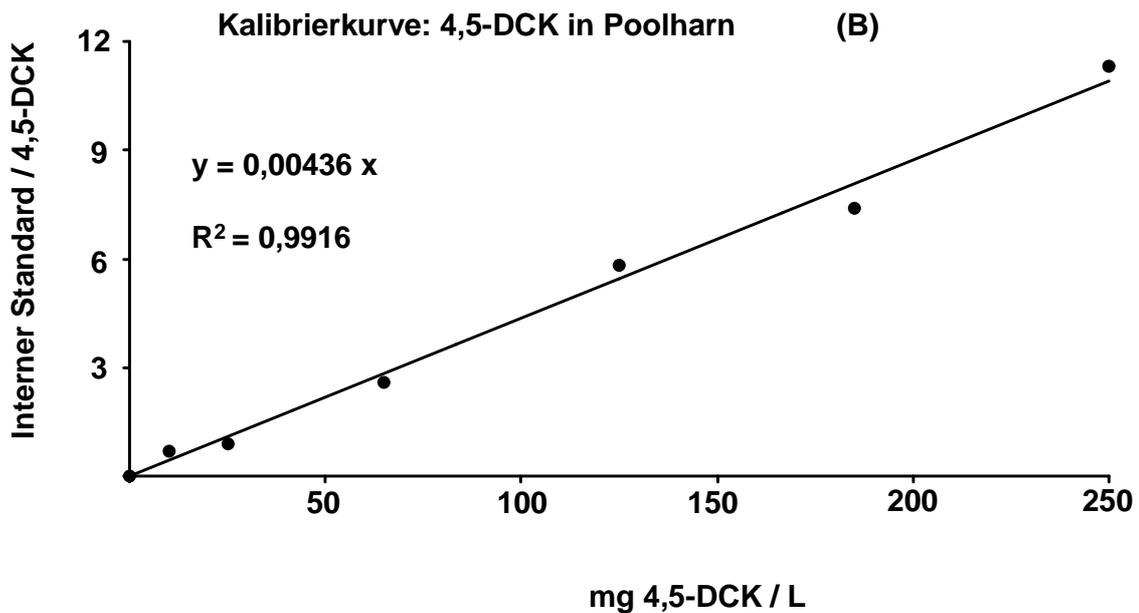
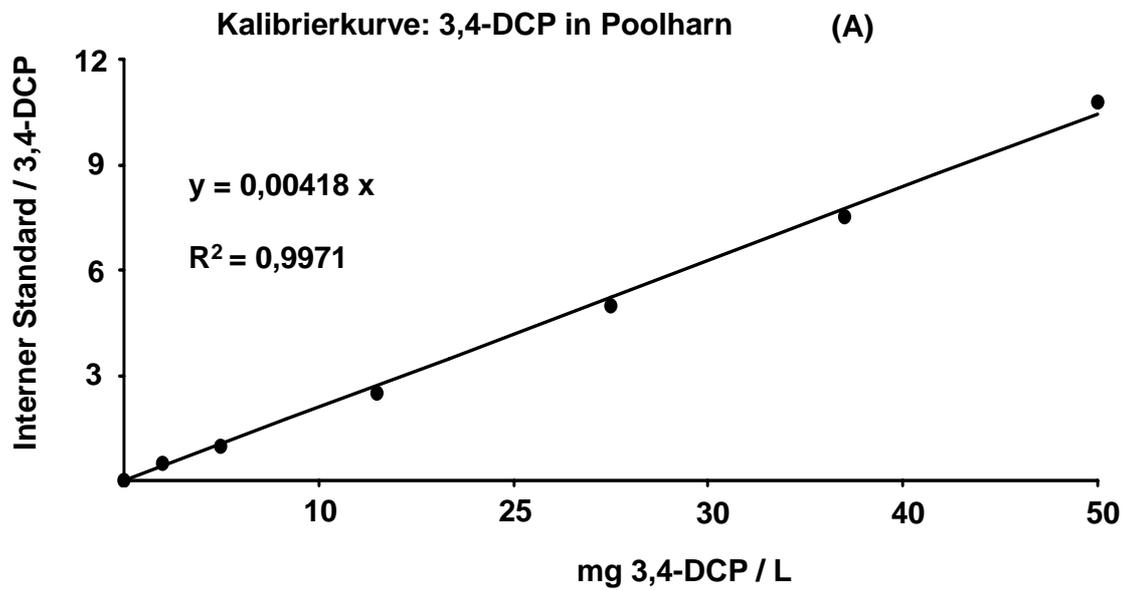


Abb. 4.1: Kalibrierkurven für 1,2-DCB in Luft (A) und Blut (B).

Abbildung 4.2 zeigt die Kalibrierkurven für die Dichlorphenole (A) und Dichlorkatechole (B), wobei stellvertretend für die isomeren Metabolite im Falle der beiden DCP die 2,3-DCP-Komponente und im Falle der zwei DCK die 4,5-DCK-Komponente dargestellt ist.



**Abb. 4.2:** Kalibrierkurven für 3,4-DCP und 4,5-DCK in Urin

### 4.1.1 Präzision

In Tabelle 4.1 sind die Ergebnisse der Präzision in Serie und in Tabelle 4.2 von Tag zu Tag für die Bestimmungen von 1,2-DCB in Luft bzw. Blut sowie für die Metaboliten 2,3- und 3,4-DCP bzw. 3,4- und 4,5-DCK dargestellt. Zur Präzisionsbestimmung wurden solche Vergleichstandards eingesetzt, deren Konzentrationen jeweils äußeren 1,2-DCB-Expositionen in Höhe des niedrigsten und höchsten MAK-Wertes angepasst waren.

**Tab. 4.1:** Präzisionen in der Serie für n = 10 Bestimmungen unterschiedlicher Konzentrationen von 1,2-DCB in Luft und Blut sowie von den 1,2-DCB-Metaboliten in Urin.

Substanz	Konzentration	Standardabweichung (rel.) [%]	Streubereich [%]
1,2-DCB in Luft	10 mg/m <sup>3</sup>	7,3	16,1
	60 mg/m <sup>3</sup>	5,6	12,3
1,2-DCB in Blut	10 µg/L	3,4	6,8
	200 µg/L	2,9	5,9
2,3-DCP in Urin	5 mg/L	4,7	9,9
	20 mg/L	4,3	9,1
3,4-DCP in Urin	5 mg/L	5,0	10,5
	20 mg/L	4,8	9,8
3,4-DCK in Urin	10 mg/L	6,1	13,6
	80 mg/L	5,7	11,4
4,5-DCK in Urin	10 mg/L	5,9	13,2
	80 mg/L	5,2	11,6

Für die Bestimmung der Präzision von Tag zu Tag wurde das gleiche Material wie zur Bestimmung der Präzision in der Serie verwendet. Die Urine wurden an 10 verschiedenen Tagen aufgearbeitet und analysiert. Tabelle 4.2 zeigt die resultierenden Ergebnisse.

**Tab. 4.2:** Präzisionen in der Serie für n = 10 Bestimmungen unterschiedlicher Konzentrationen von 1,2-DCB in Luft und Blut sowie von den 1,2-DCB-Metaboliten in Urin.

Substanz	Konzentration	Standardabweichung (rel.) [%]	Streubereich [%]
1,2-DCB in Luft	10 mg/m <sup>3</sup>	8,3	17,1
	60 mg/m <sup>3</sup>	6,6	13,8
1,2-DCB in Blut	10 µg/L	4,4	7,9
	200 µg/L	3,8	7,7
2,3-DCP in Urin	5 mg/L	5,7	11,9
	20 mg/L	6,3	12,1
3,4-DCP in Urin	5 mg/L	6,9	13,5
	20 mg/L	6,8	12,7
3,4-DCK in Urin	10 mg/L	7,4	15,5
	80 mg/L	6,9	14,4
4,5-DCK in Urin	10 mg/L	7,5	15,2
	80 mg/L	6,6	13,9

#### 4.1.2 Richtigkeit

Die Prüfung der Richtigkeit des Verfahrens infolge des Vergleichs aufarbeitungsbedingter Verluste von Luftproben und biologischem Material mit direkt analysierbaren, nicht der Probenaufarbeitung unterworfenen Vergleichsstandards ergaben die in Tabelle 4.3 aufgelisteten absoluten Wiederfindungsraten.

**Tab. 4.3:** Absolute Wiederfindungsraten für n = 10 Bestimmungen unterschiedlicher Konzentrationen von 1,2-DCB in Luft und Blut sowie von den 1,2-DCB-Metaboliten in Urin.

Substanz	Konzentration	abs. Wiederfindung [%]
1,2-DCB in Luft	10 mg/m <sup>3</sup>	97,5 – 102,6
	60 mg/m <sup>3</sup>	96,8 – 104,9
1,2-DCB in Blut	10 µg/L	96,1 – 110,7
	200 µg/L	96,9 – 105,9
2,3-DCP in Urin	5 mg/L	93,2 – 111,1
	20 mg/L	94,9 – 108,2
3,4-DCP in Urin	5 mg/L	91,0 – 109,3
	20 mg/L	93,1 – 105,5
3,4-DCK in Urin	10 mg/L	90,1 – 109,9
	80 mg/L	91,4 – 104,6
4,5-DCK in Urin	10 mg/L	97,7 – 107,1
	80 mg/L	98,3 – 111,6

#### 4.1.3 Nachweisgrenzen

Unter den angegebenen Bedingungen der Probenaufbereitung und der chromatographischen Bestimmung beträgt die analytische Nachweisgrenze für 1,2-DCB in Luft 0,1 mg/m<sup>3</sup> und in Blut ca. 1 µg/L. Für die 1,2-DCB-Metaboliten konnten Nachweisgrenzen von etwa 1 mg/L Urin ermittelt werden. Zur Ermittlung der Nachweisgrenze wurde ein dreifaches Signal/Rausch-Verhältnis zugrunde gelegt.

#### 4.1.4 Externe Qualitätssicherung

Da in dieser Arbeit erstmals die genannte Methodik zur Bestimmung der 1,2-DCB-Metaboliten zum Einsatz kam, wurde zur Qualitätssicherung zusätzlich ein externer Ringversuch mit zwei weiteren Laboratorien durchgeführt. Analysiert werden konnten stellvertretend die beiden 1,2-DCB-Metabolite 3,4-DCP und 4,5-DCK. Die Ergebnisse dieser Untersuchung sind in Tabelle 4.4 dargestellt.

**Tab. 4.4:** Ergebnisse eines internen Ringversuchs zum Nachweis der 1,2-DCB Metaboliten unterschiedlicher Konzentrationen im Harn.

Probe	3,4-DCP [mg/ L]			4,5-DCK [mg/ L]		
	Labor A	Labor B	Labor C	Labor A	Labor B	Labor C
1	< 1	0,5	<1	<1	0,5	<1
2	16,8	20,1	18,5	16,8	22,6	24,8
3	50,3	62,2	49,4	59,5	70,5	64
4	67,2	65,7	63,8	57,4	84,4	69,5
5	176,2	>100<350	148,1	160,8	>100<345	178
7	75,4	67,9	76,1	61,3	78,4	81,7
8	59,2	49,5	50,4	61,0	79,0	66,4
9	24,4	24,0	23,8	36,2	41,7	37,3
10	19,1	18,3	19,9	27,2	37,9	34,7

## 4.2 1,2-DCB Konzentrationen

### 4.2.1 1,2-DCB in der Raumluft

Tabelle 4.5 zeigt die mittleren 1,2-DCB Raumluftkonzentrationen während der einzelnen Expositionen.

Die Extremwerte der während der einzelnen Expositionen gemessenen durchschnittlichen Raumluftkonzentrationen von 1,2-DCB variierten im 1. Expositionsintervall zwischen 11,7 % des MAK-Wertes bei Proband 1 und 92,5 % des MAK-Wertes bei Proband 18. Im 2. Expositionsintervall lagen die 1,2-DCB Raumluftkonzentrationen zwischen 12,7 % (Proband 1) und 95,1 % des MAK-Wertes (Proband 18).

Bei fast allen Expositionen lag die 1,2-DCB Raumluftkonzentration in der 2. Expositionsphase über der 1. Expositionsphase, lediglich bei Proband 6 war das

Verhältnis umgekehrt. Die Differenzen betragen zwischen 1,64 % und 29,5 % der jeweiligen Mittelwerte.

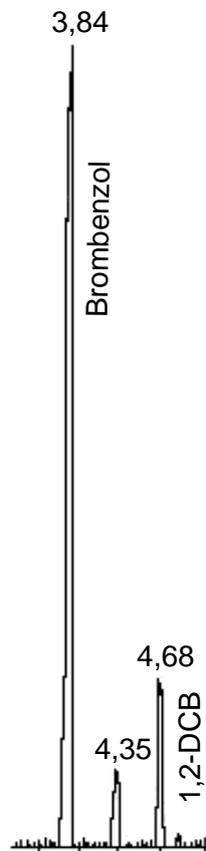
**Tabelle 4.5:** Mittlere 1,2-DCB-Konzentrationen (ppm) in der Expositions-kammer während insgesamt achtstündiger 1,2-DCB-Exposition bis etwa 100% des MAK-Wertes.

Mittlere 1,2-DCB Konzentrationen in der Raumluft [ppm]		
Proband	ppm	MAK-Wert [%]
1	1,22	12,2
2	1,24	12,4
3	1,63	16,2
4	2,24	22,3
5	4,05	40,5
6	4,52	45,1
7	4,76	47,6
8	5,49	54,9
9	6,04	60,3
10	6,55	65,4
11	6,57	65,7
12	7,36	73,6
13	7,41	74,0
14	7,98	79,8
15	8,18	81,7
16	8,44	84,2
17	8,50	88,5
18	9,38	93,8

#### 4.2.2 1,2-DCB im Blut

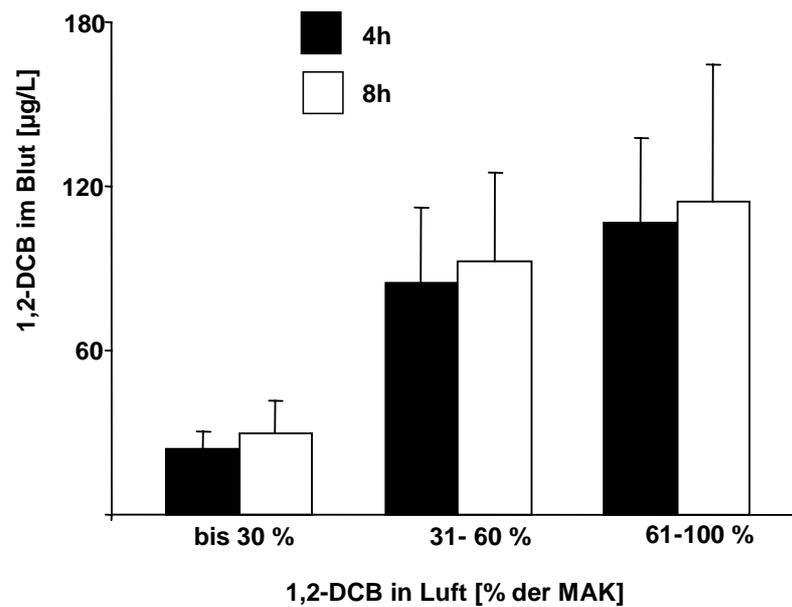
Bei der Exposition von 18 Probanden wurden jeweils unmittelbar nach der ersten vierstündigen Expositionsschicht und am Versuchsende Blutproben entnommen, aus

denen die 1,2-DCB Konzentration in den Erythrozyten und im Vollblut gaschromatographisch bestimmt wurde. Abbildung 4.3 zeigt beispielhaft ein Gaschromatogramm der 1,2-DCB Konzentration einer Blutprobe.



**Abb. 4.3:** Ausschnitt eines Gaschromatogramms einer aufgearbeiteten Blutprobe mit den charakteristischen Retentionszeiten von 1,2-DCB und Brombenzol als internem Standard

In Abbildung 4.4 sind die 1,2-DCB-Konzentrationen dargestellt, die bei Raumluftkonzentrationen bis 100% des für 1,2-DCB geltenden MAK-Wertes nach vierstündiger Expositionszeit und zum Expositionsende im Blut der Probanden gemessen wurden. Dargestellt sind die mittleren Konzentrationen, die den Bereichen bis 30%, 31 – 60 und 61 – 100% der MAK von 1,2-DCB in der Kammerluft zuzuordnen sind.



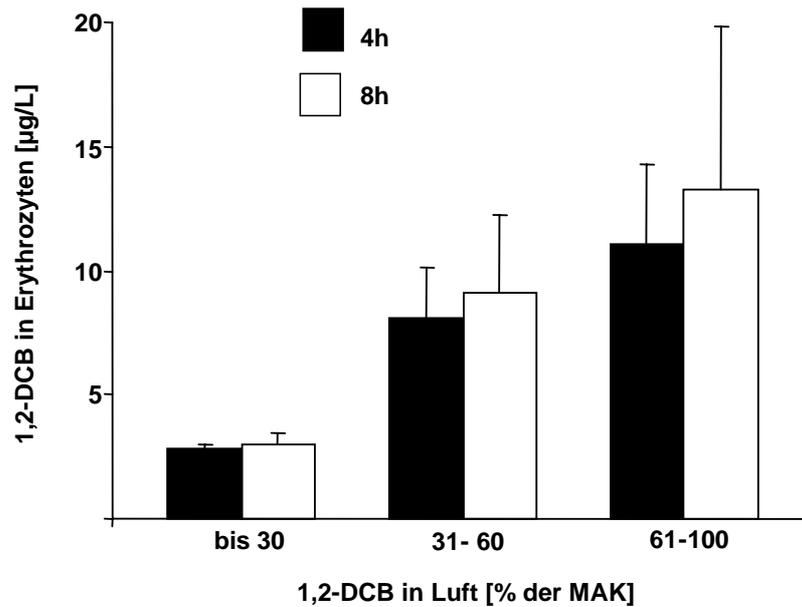
**Abb. 4.4:** Durchschnittliche 1,2-DCB-Konzentrationen ( $\mu\text{g/L}$ ) im Vollblut bei 18 Probanden nach 4- und 8-stündiger 1,2-DCB-Exposition in Höhe bis zu 100% des MAK-Wertes von 10 ppm unterteilt in drei MAK-Bereiche.

Die höchsten Einzelwerte lagen nach der ersten Expositionsphase bei 165 und nach der 2. Expositionsphase bei 182  $\mu\text{g/L}$  Blut, wobei Kammerluftkonzentrationen von 94% des MAK-Wertes gemessen wurden. Das aus allen Daten abgeleitete 95. Perzentil rangierte bei 168  $\mu\text{g}$  1,2-DCB/L Blut.

Die Differenz zwischen der am Ende der 1. und 2. Expositionsphase festgestellten 1,2-DCB-Konzentrationen betrug insgesamt bei allen Probanden im Mittel  $\bar{x} \pm s = 11,6 \pm 9,0 \%$ .

#### 4.2.3 1,2-DCB-Konzentrationen im Erythrozyten

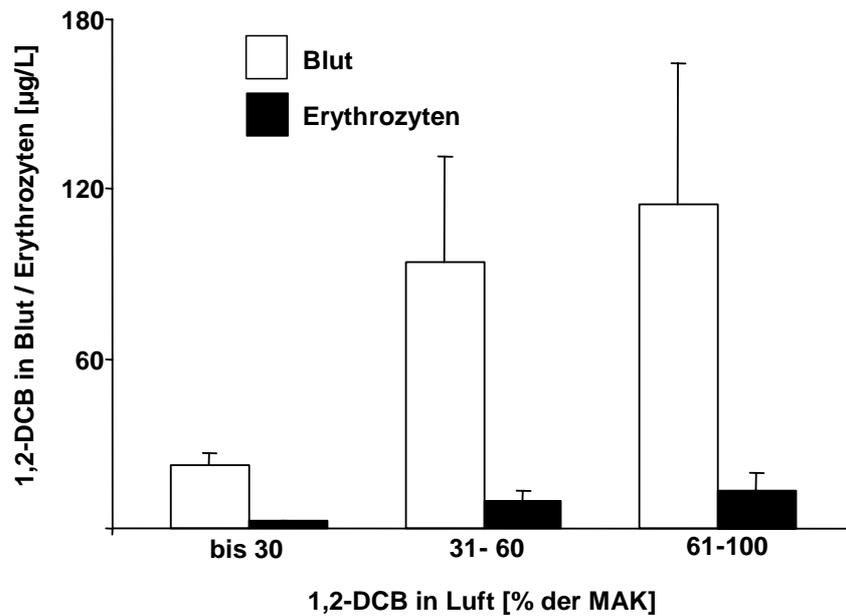
In Abbildung 4.5 sind die nach dem ersten und zweiten Expositionsintervall bei verschiedenen 1,2-DCB-Raumluftkonzentrationen ermittelten 1,2-DCB-Erythrozyten-Konzentrationen dargestellt.



**Abb. 4.5:** Durchschnittliche 1,2-DCB-Konzentrationen ( $\mu\text{g/L}$ ) in Erythrozyten bei 18 Probanden nach 4- und 8-stündiger 1,2-DCB-Exposition bis 100% des MAK-Wertes von 10 ppm unterteilt in drei MAK-Bereiche.

Die Differenz zwischen den bei den einzelnen Versuchspersonen in der ersten und zweiten Versuchsphase gemessenen 1,2-DCB Konzentrationen betrug im Mittel  $\bar{x} \pm s = 17,3 \pm 13,5 \%$ .

Es zeigte sich, dass es bei einer 4- gegenüber einer 8-stündigen Expositionsdauer zu keiner wesentlich Änderung der Konzentrationsverhältnisse von 1,2-DCB zwischen Vollblut und Erythrozyten kam. Im Mittel betragen die Erythrozytenkonzentrationen nach der ersten Expositionsphase  $\bar{x} \pm s = 10,7 \pm 1,9 \%$  und am Expositionsende  $\bar{x} \pm s = 11,1 \pm 1,5 \%$  von den im Vollblut zum gleichen Zeitpunkt gemessenen 1,2-DCB Konzentrationen. Abbildung 4.6 veranschaulicht beispielhaft das Verhältnis der erythrozytären und venösen 1,2-DCB-Konzentrationen nach 8-stündiger Exposition.



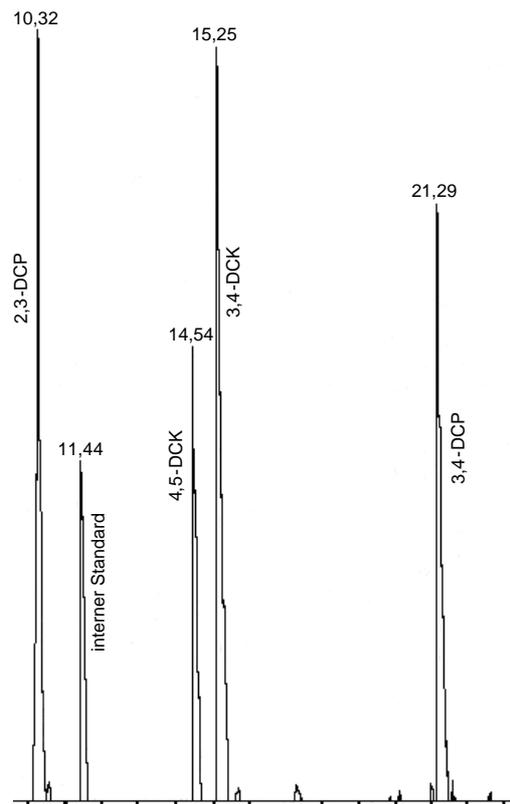
**Abb. 4.6:** Verhältnis der 1,2-DCB-Konzentrationen ( $\mu\text{g/L}$ ) in Vollblut und Erythrozytenkonzentrat am Ende der Expositionen bis 100% des MAK-Wertes von 1,2-DCB.

Die 95-Perzentile für 1,2-DCB-Expositionen im Konzentrationsbereich bis 100% des MAK-Wertes lagen am Expositionsende für Vollblut bei  $168 \mu\text{g/L}$  und für die erythrozytären Konzentrationen bei  $18 \mu\text{g/L}$ .

### 4.3 1,2-DCB-Metabolite im Urin

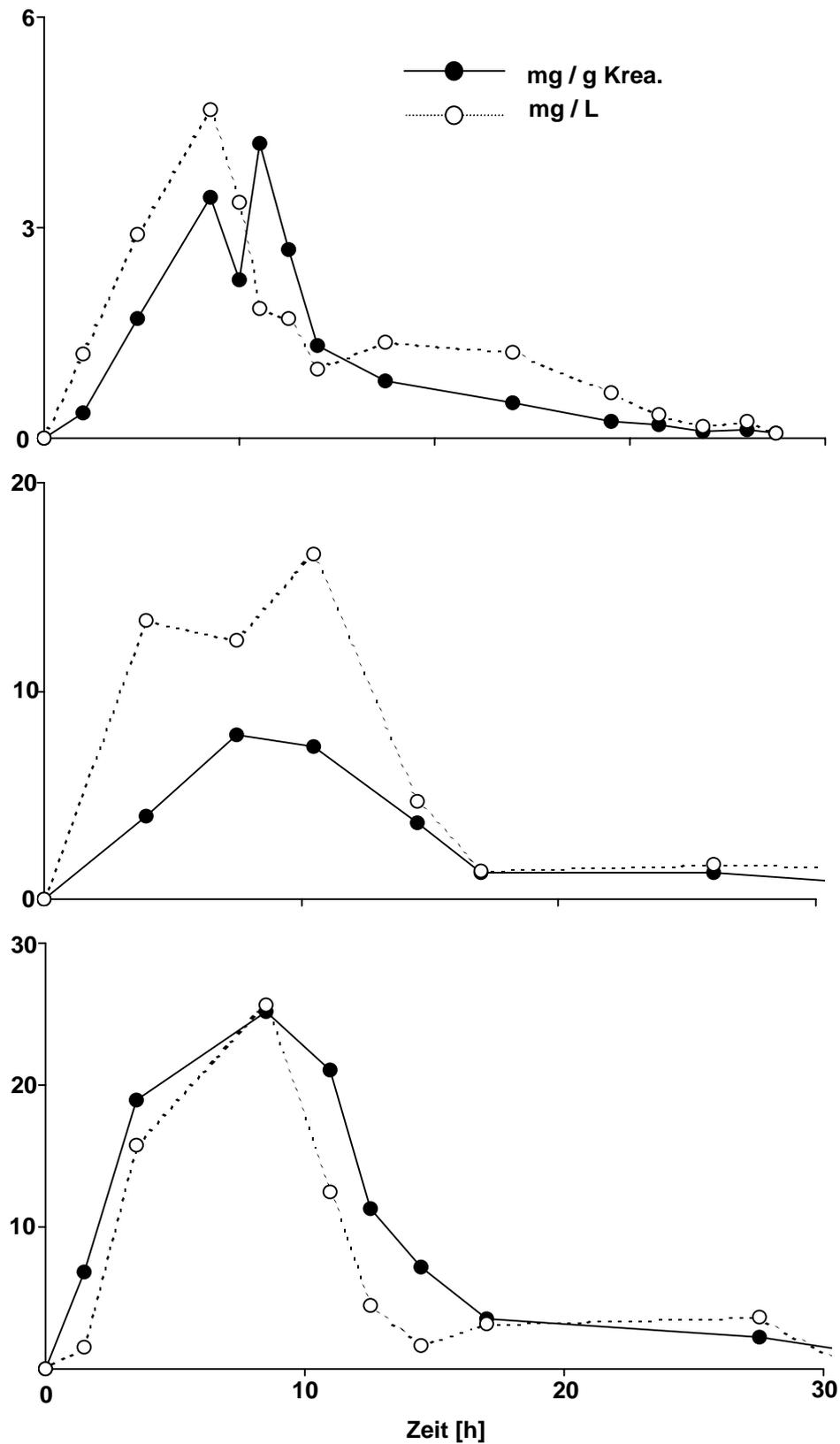
Als renale Ausscheidungsprodukte von 1,2-DCB wurden in dieser Arbeit 2,3- und 3,4-Dichlorphenol (2,3-DCP bzw. 3,4-DCP) sowie 3,4- und 4,5-Dichlorkatechol (3,4-DCK bzw. 4,5-DCK) nachgewiesen.

Abbildung 4.7 zeigt zunächst beispielhaft das Gaschromatogramm einer aufgearbeiteten Harnprobe mit dem entsprechenden Peaks von 2,3- / 3,4-DCP und 3,4- / 4,5-DCK sowie von dem internen Standard Di-tert.-butylkresol.

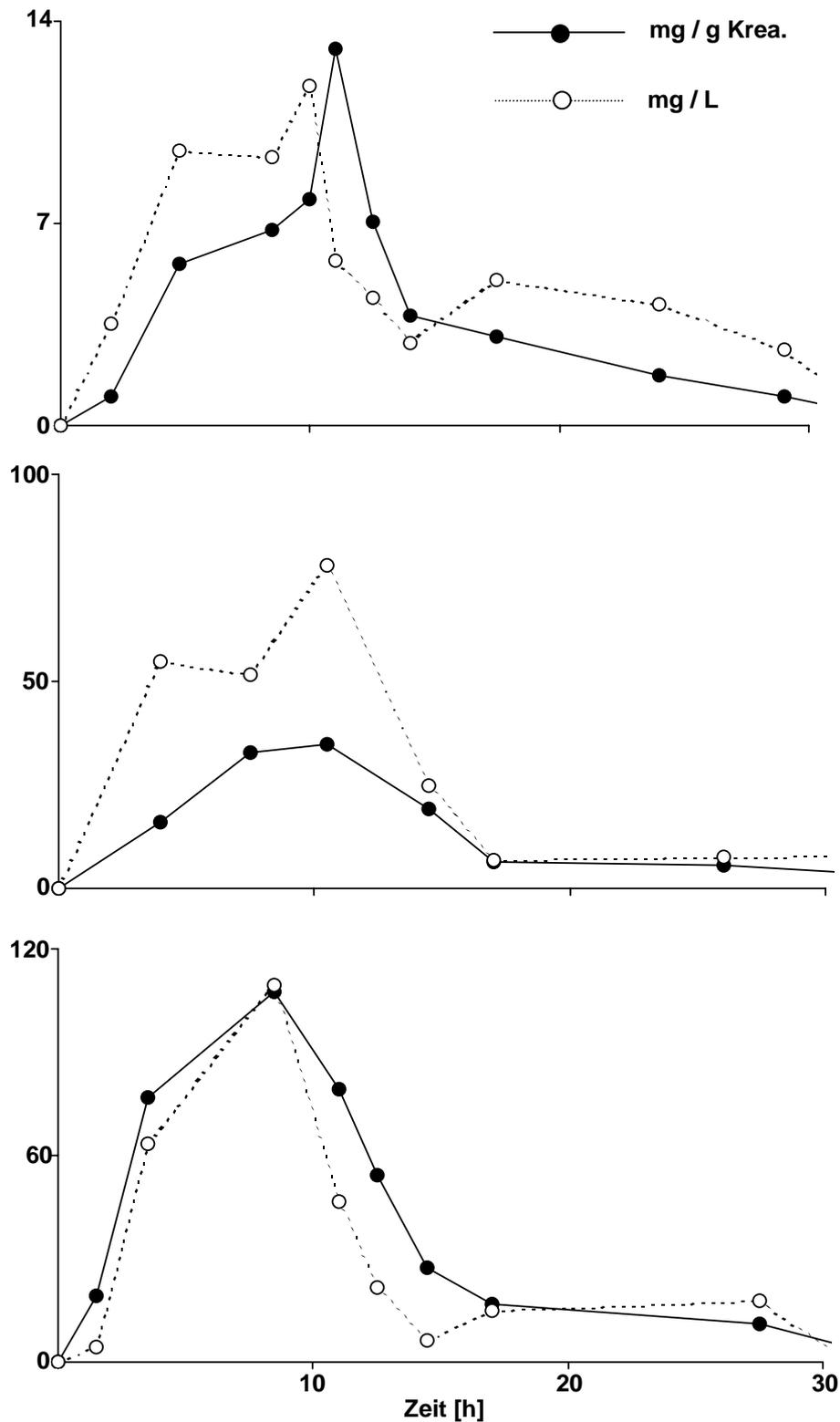


**Abb. 4.7:** Ausschnitt eines Gaschromatogramms mit den charakteristischen Retentionszeiten der 1,2-DCB-Metabolite 2,3- und 3,4-DCP sowie 3,4- und 4,5-DCK mit Di-tert.-butylkresol als internem Standard.

Das Ausscheidungsprofil der 1,2-DCB-Metaboliten wurde quantitativ erfasst, indem die Konzentrationen der einzelnen Substanzen im Urin sowohl volumen- als auch Kreatinin- berechnet wurden. In den Abbildungen 4.8 und 4.9 sind die Konzentrationsverläufe von 2,3 DCP bzw. 3,4-DCK im Volumen- und Kreatininbezug während und nach einer Exposition in Höhe von 12,2; 41,0 und 74,0% als Beispiele der drei MAK-Bereiche exemplarisch gegenübergestellt.



**Abb. 4.8:** Gegenüberstellung (von oben) der volumen- und kreatininbezogenen Ausscheidungsprofile von 2,3-DCP während und nach 1,2-DCB-Expositionen in Höhe von 12,2; 41,0 und 74,0% des MAK-Wertes.

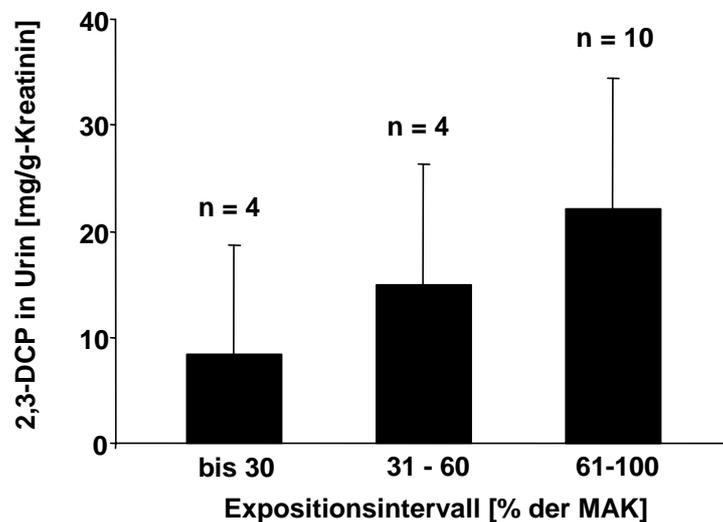


**Abb. 4.9:** Gegenüberstellung (von oben) der volumen- und kreatininbezogenen Ausscheidungsprofile von 3,4-DCK während und nach einer 1,2-DCB-Exposition in Höhe von 12,2, 41,0 und 74,0% des MAK-Wertes.

### 4.3.1 2,3-Dichlorphenol im Urin

Als Basiswert für die Bestimmung der 1,2-DCB-Metabolite im Urin wurden Proben einbezogen, die unmittelbar vor Exposition gesammelt wurden. Die Probenasservierung erfolgte über mindestens 30 Stunden. Bei den Probanden 18 und 19 konnte die Bestimmung über einen Zeitraum von 60 Stunden vorgenommen werden.

Die Abbildung 4.10 zeigt zunächst die durchschnittlichen 2,3-DCP-Konzentrationen im Urin der Probanden gegen Expositionsende, wobei die äußere Belastung der 1,2-DCB Exposition jeweils auf drei MAK-Bereiche unterteilt ist.



**Abb. 4.10:** Durchschnittliche renale 2,3-DCP-Ausscheidungen in mg/g Kreatinin bei 18 Probanden gegen Versuchsende nach standardisierter 1,2-DCB-Exposition unterteilt in drei MAK-Bereiche.

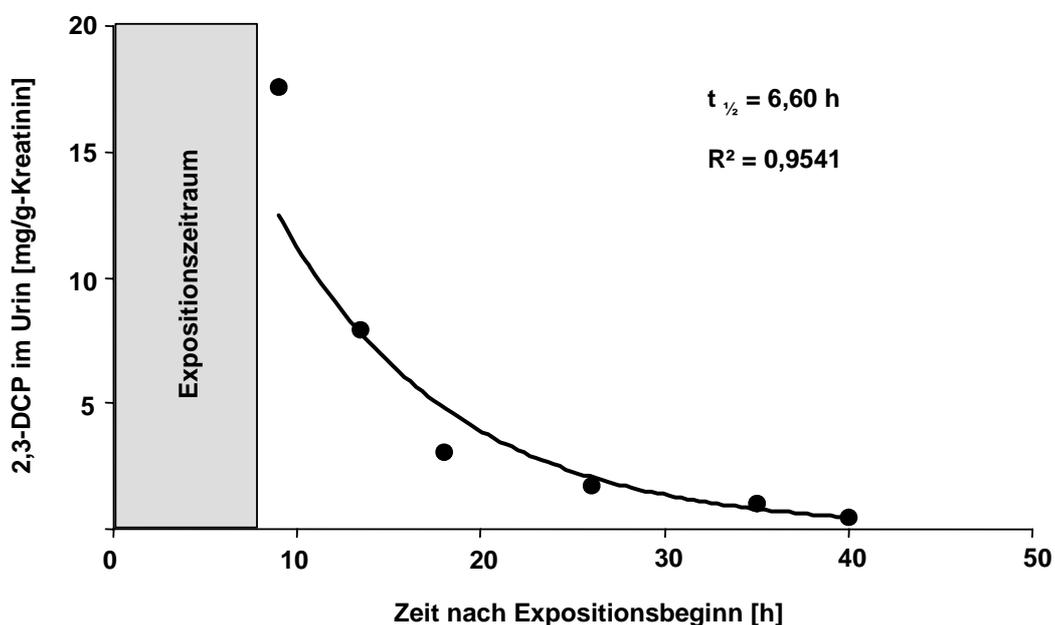
Nach Erreichen des Ausscheidungsmaximums ist bei fast allen Expositionsgruppen bis zum Sammelintervall 20-22 Stunden nach Expositionsbeginn ein nahezu gleichförmiger Konzentrationsabfall zu beobachten. Wie in Abbildung 4.10 ersichtlich, ist eine direkte Korrelation zwischen der jeweiligen maximalen 2,3-DCP-Konzentration im Harn und der 1,2-DCB-Konzentration in der Raumluft herleitbar.

Bei allen Probanden zeigt sich, unabhängig von der 1,2-DCB-Raumluftkonzentration, ein ähnliches Anflutungsverhalten.

#### 4.3.1.1 Halbwertszeiten der 2,3-DCP-Ausscheidung

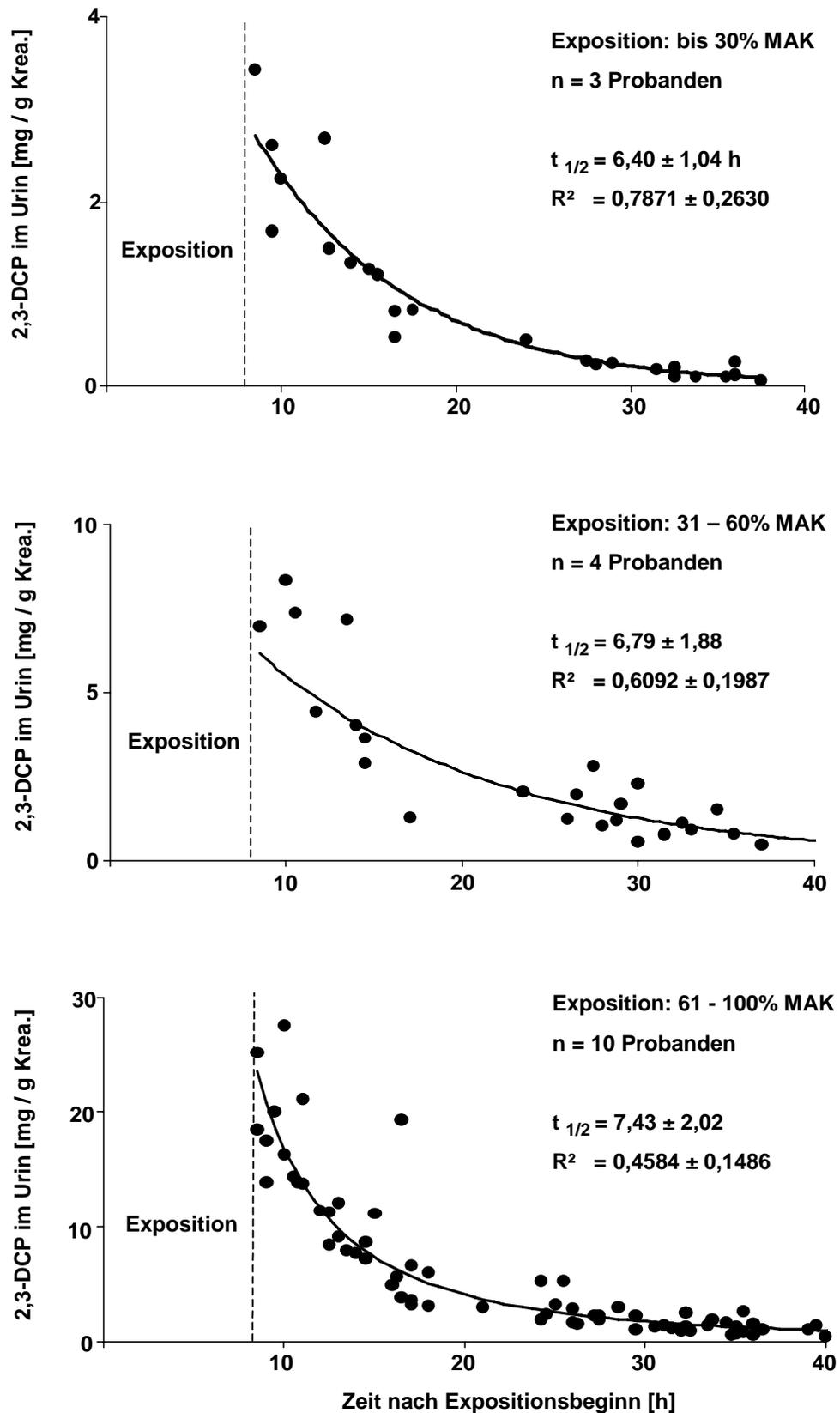
Um die Halbwertszeit der 2,3-DCP-Ausscheidung im Urin zu ermitteln, wurden zunächst für jede der den 3 MAK-Bereichen zuzuordnenden Expositionsgruppen Ausscheidungskurven erstellt. Es zeigte sich, dass alle Ausscheidungskurven von 2,3-DCP nach dem Erreichen des renalen Exkretionsmaximums, etwa 8 - 10 Stunden nach Expositionsbeginn, einen exponentiellen Verlauf annehmen.

Abbildung 4.12 stellt stellvertretend am Beispiel eines einzelnen Probanden die 2,3-DCP-Ausscheidung über die Zeit dar.



**Abb. 4.11:** Halbwertszeit  $t_{1/2}$  der renalen 2,3-DCP-Ausscheidung in mg/g Kreatinin eines Probanden nach einer 1,2-DCB-Exposition in Höhe von 82% des MAK-Wertes.

Die Abbildung 4.12 zeigt die gemittelten Halbwertszeiten von 2,3-DCP, die aus den 1,2-DCB-Expositionsbereichen bis zur Höhe des MAK-Wertes resultieren.

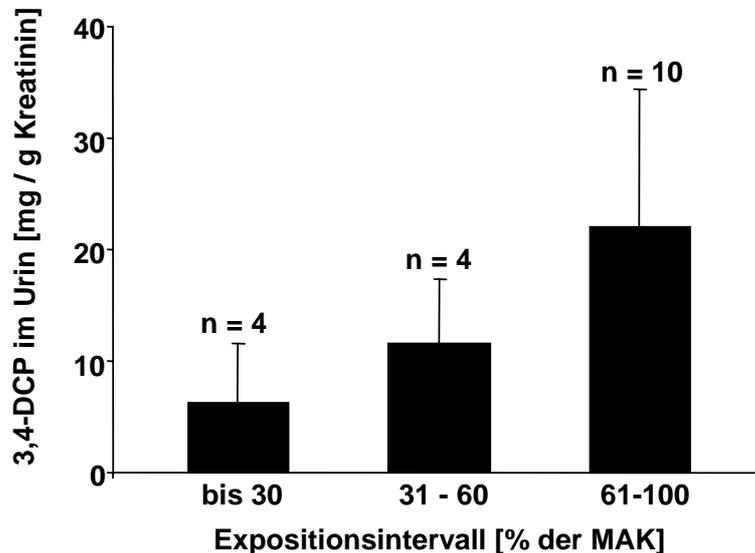


**Abb. 4.12:** Ausscheidungskurve mit Halbwertszeiten (HWZ)\* von 2,3-DCP im Urin bei bis zu 100% der MAK von DCB exponierten Probanden.

\*HWZ berechnet als Mittelwerte der einzelnen Probanden

### 4.3.2 3,4-Dichlorphenol im Urin

Als weiteres Abbauprodukt von 1,2-DCB wurde im Urin 3,4-Dichlorphenol (3,4-DCP) nachgewiesen. In der Abbildung 4.14 sind die 3,4-DCP-Konzentrationen dargestellt, die am Expositionsende im Urin der Probanden gemessen wurden.



**Abb. 4.13:** Durchschnittliche renale 3,4-DCP-Ausscheidungen in mg/g Kreatinin bei 18 Probanden gegen Versuchsende nach standardisierter 1,2-DCB-Exposition unterteilt in drei MAK-Bereiche.

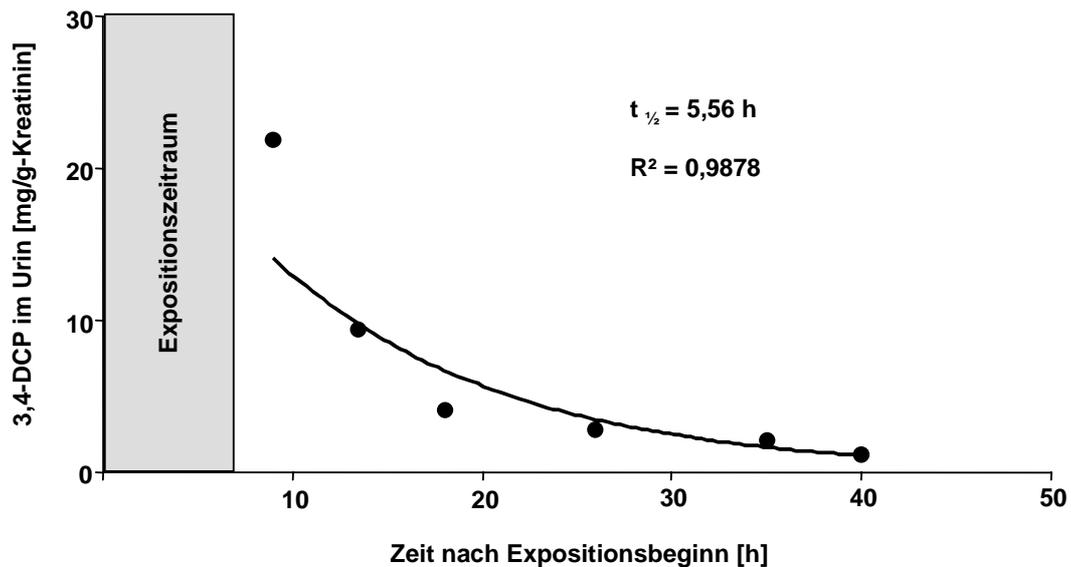
Die ersten messbaren 3,4-DCP-Konzentrationen treten im ersten Sammelintervall bis 2 Stunden nach Expositionsbeginn im Urin der Probanden auf. Das Maximum der 3,4-DCP-Ausscheidung wird bei allen Probanden etwa zum Ende der Exposition im Zeitraum von 7-9 Stunden nach Expositionsbeginn erreicht. Die höchste 3,4-DCP-Konzentration wurde mit 65,0 mg/g Kreatinin nach 8,5 Stunden bei einer mittleren Exposition von 74% des MAK-Wertes für 1,2-DCB gemessen.

Im Anschluss daran fällt die 3,4-DCP-Konzentration im Urin bei allen Probanden stetig ab. Kleinere, jedoch unbedeutende Konzentrationsanstiege sind bei verschiedenen Expositionen im Zeitraum 26-36 Stunden nach Expositionsbeginn zu beobachten.

#### 4.3.2.1 Halbwertszeiten der 3,4-DCP-Ausscheidung

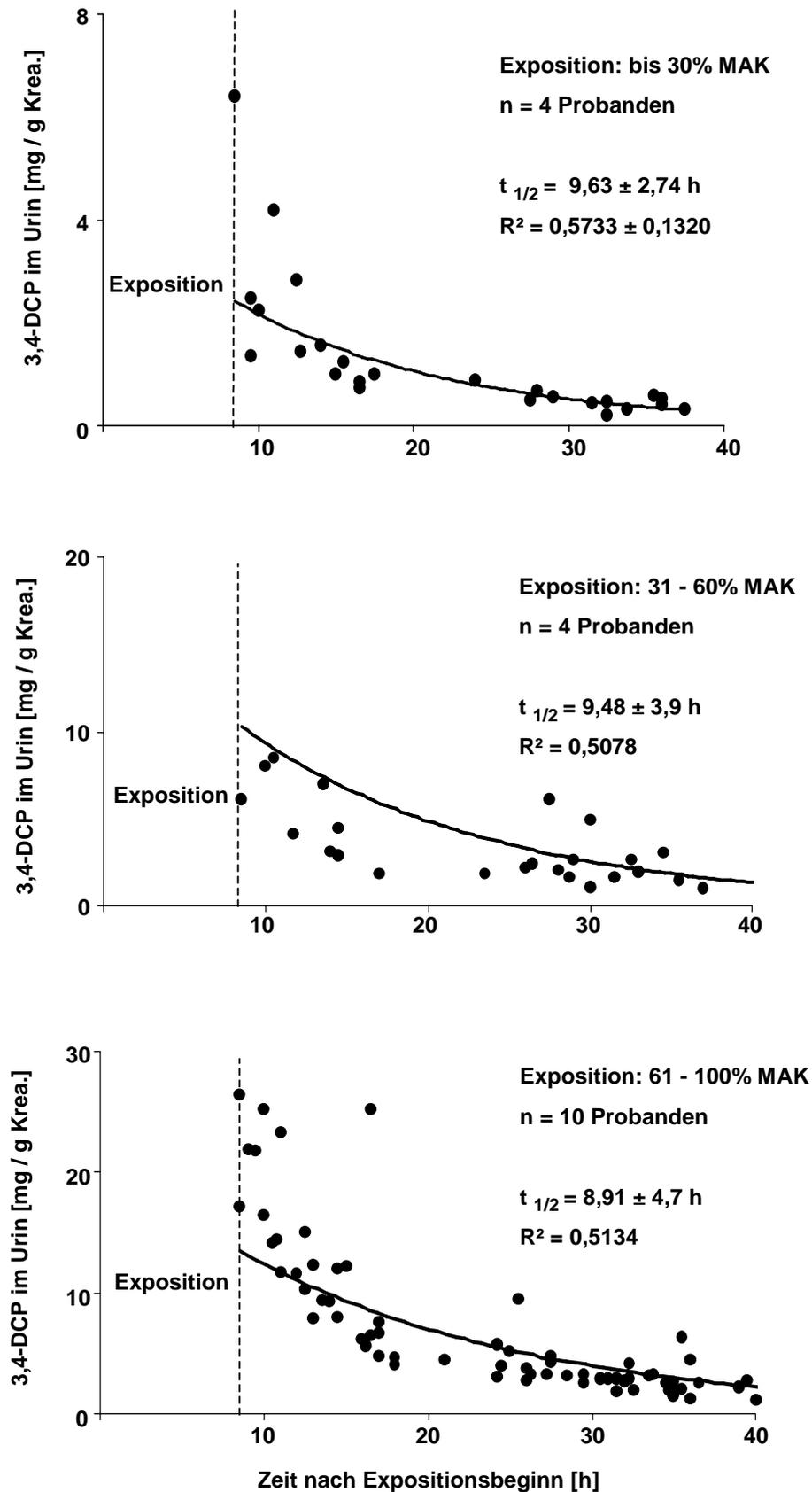
Die Berechnung der Halbwertszeit der 3,4-DCP-Ausscheidung im Harn wurde entsprechend 4.3.1.1 vorgenommen.

Als Beispiel ist in Abbildung 4.14 die 3,4-DCP-Ausscheidung eines Probanden dargestellt.



**Abb. 4.14:** Halbwertszeit  $t_{1/2}$  der renalen 3,4-DCP-Ausscheidung in mg/g Kreatinin eines Probanden nach einer 1,2-DCB-Exposition in Höhe von 82% des MAK-Wertes.

Die Abbildung 4.15 zeigt die gemittelten Halbwertszeiten von 3,4-DCP, die aus den 1,2-DCB-Expositionsbereichen bis zur Höhe des MAK-Wertes resultieren.

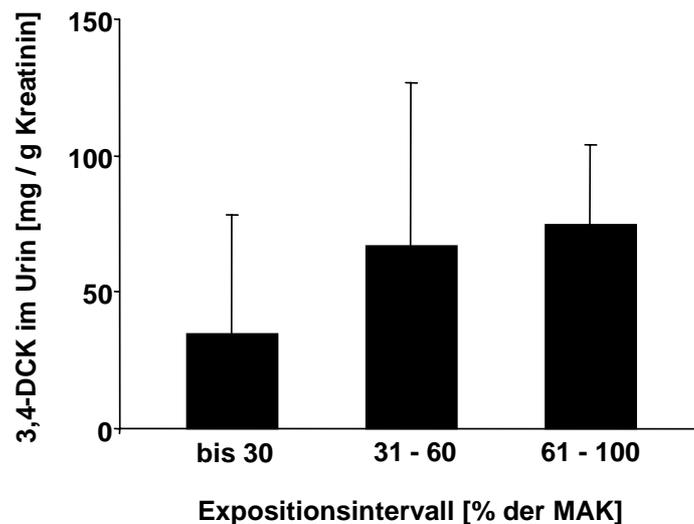


**Abb. 4.15:** Ausscheidungskurve mit Halbwertszeiten (HWZ)\* von 3,4-DCP im Urin bei bis zu 100% der MAK von 1,2-DCB exponierten Probanden.

\*HWZ berechnet als Mittelwerte der einzelnen Probanden

### 4.3.3 3,4-Dichlorkatechol im Urin

In den Abb. 4.16 und 4.19 sind die Exkretionen der vorwiegend zu den Katecholen oxidierten Metabolite dargestellt. Aus Abb. 4.16 ist zunächst die jeweilige Durchschnittskonzentration zu entnehmen, die gegen Expositionsende bei den Probanden ermittelt wurde, die den drei unterteilten MAK-Bereichen zuzuordnen sind.



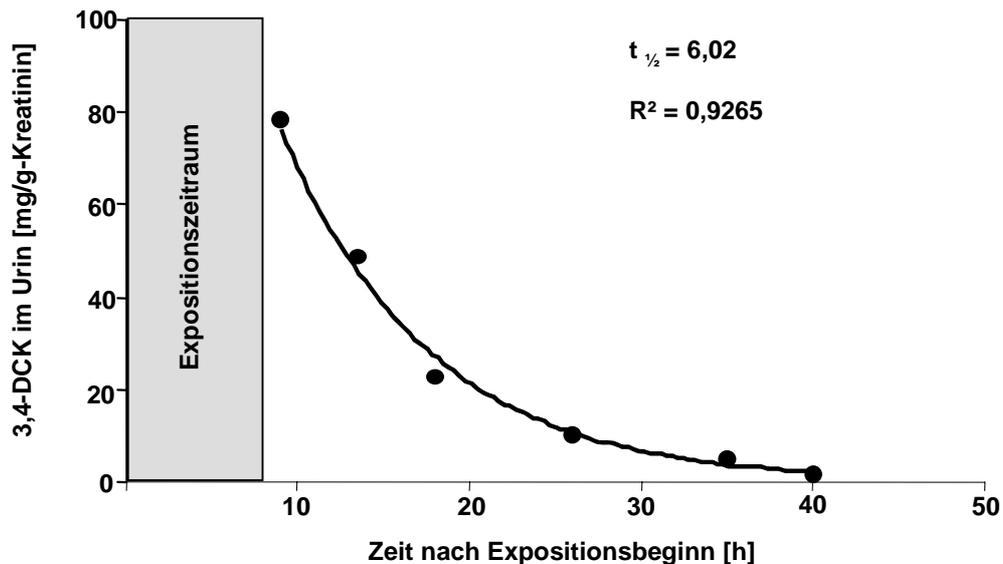
**Abb. 4.16:** Durchschnittliche renale 3,4-DCK-Ausscheidungen in mg/g Kreatinin bei 18 Probanden gegen Versuchsende nach standardisierter 1,2-DCB-Exposition unterteilt in drei MAK-Bereiche.

Ähnlich wie bei den phenolischen Metaboliten ist auch bei den Katecholen bereits 2 Stunden nach Expositionsbeginn ist eine merkliche Ausscheidung festzustellen. Das Konzentrationsmaximum ist frühestens im Intervall von etwa 8 bis spätestens 10 Stunden nach Expositionsbeginn erreicht. Die höchste 3,4-DCK-Konzentration von 140,4 mg/g Kreatinin wurde 9,75 Stunden nach Expositionsbeginn bei einer äußeren Belastung von 79,8% des MAK-Wertes gemessen.

Im Anschluss daran fällt die 3,4-DCK-Konzentration im Urin bei allen Probanden stetig ab. Unbedeutende Konzentrationsanstiege sind auch hier bei verschiedenen Expositionen im Zeitraum 26-36 Stunden nach Expositionsbeginn zu beobachten.

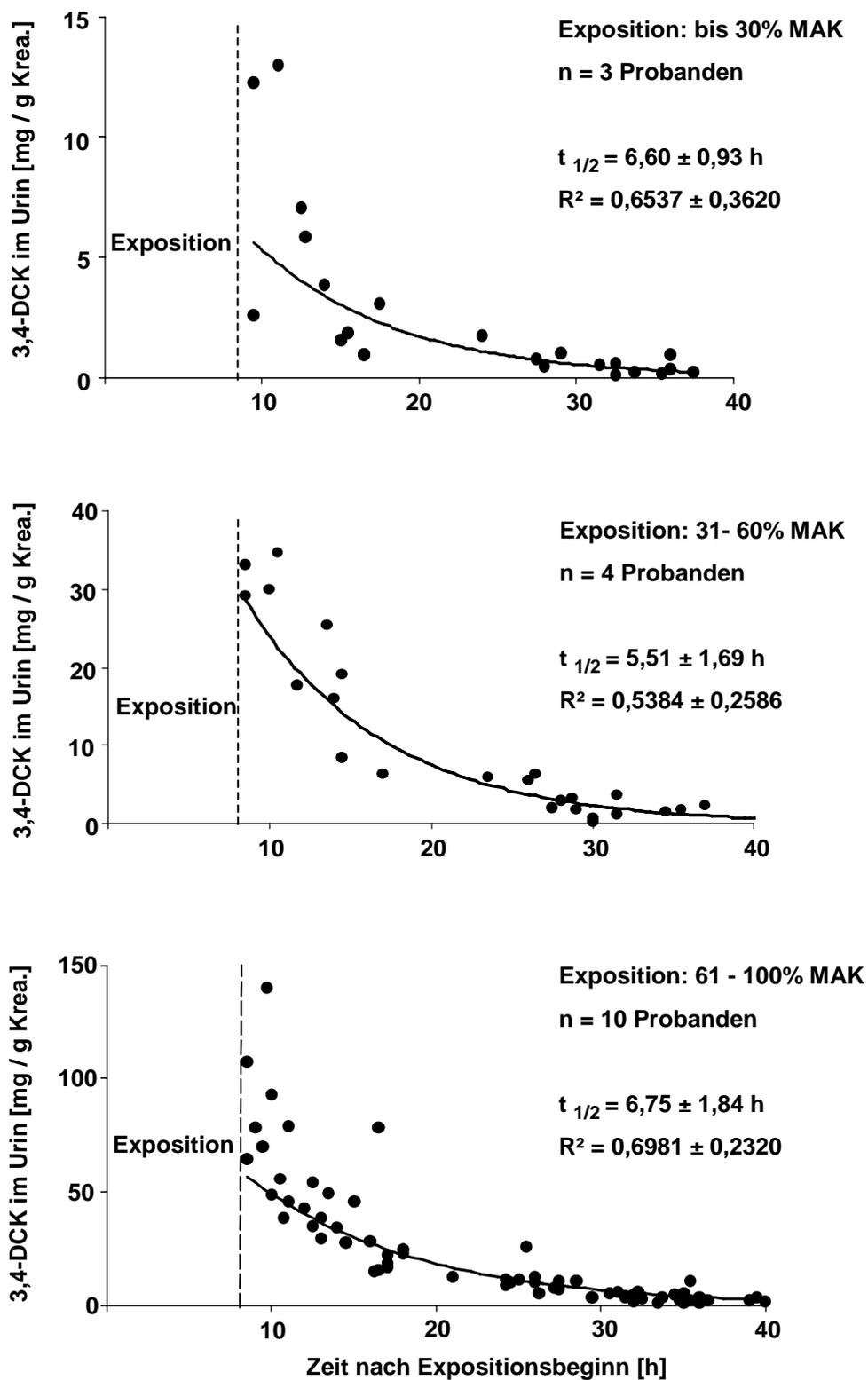
#### 4.3.3.1 Halbwertszeiten der 3,4-DCK-Ausscheidung

Analog zu den vorangehenden Kapiteln wurde zur Berechnung der Halbwertszeit zunächst die 3,4-DCK-Ausscheidung jeder Expositionsgruppe gegen die Zeit aufgetragen, als Beispiel dient auch hier die Ausscheidungskurve eines einzelnen Probanden, die in 4.17 abgebildet ist.



**Abb. 4.17:** Halbwertszeit  $t_{1/2}$  der renalen 3,4-DCK-Ausscheidung in mg/g Kreatinin eines Probanden nach einer 1,2-DCB-Exposition in Höhe von 82% des MAK-Wertes.

Die Abbildung 4.18 zeigt die gemittelten Halbwertszeiten von 3,4-DCK, die aus den 1,2-DCB-Expositionsbereichen bis zur Höhe des MAK-Wertes resultieren.

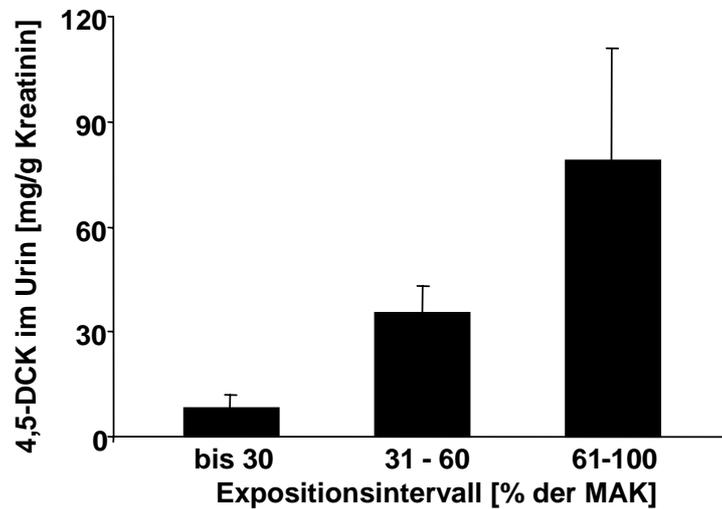


**Abb. 4.18:** Ausscheidungskurve mit Halbwertszeiten (HWZ)\* von 3,4-DCK im Urin bei bis zu 100% der MAK von 1,2-DCB exponierten Probanden.

\*HWZ berechnet als Mittelwerte der einzelnen Probanden

#### 4.3.4 4,5-DCK im Urin

Die Abbildung 4.19 stellt die Kreatinin-korrigierte renale Exkretion von 4,5-DCK dar. Die Ergebnisse sind wiederum nach den drei MAK-Bereichen unterteilt.



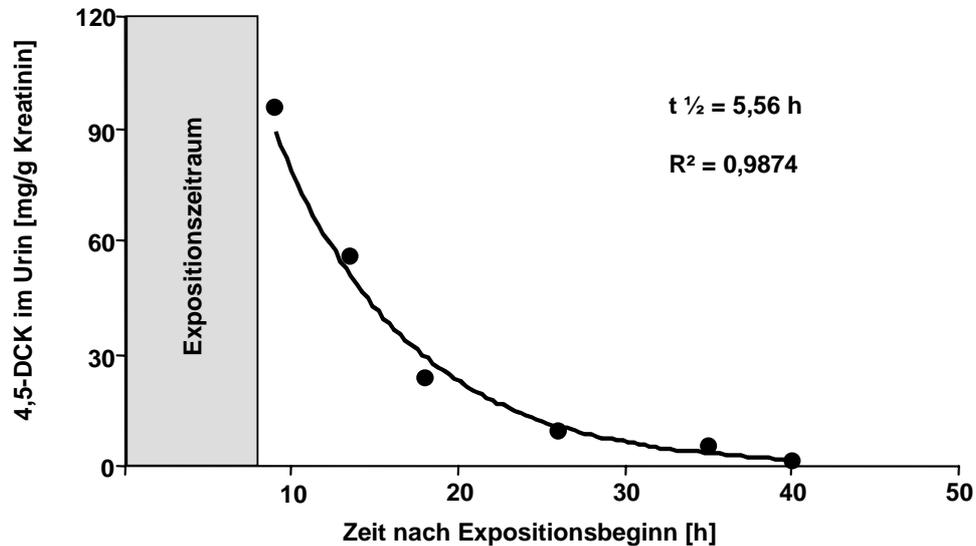
**Abb. 4.19:** Durchschnittliche renale 4,5-DCK-Ausscheidungen in mg/g Kreatinin bei 18 Probanden gegen Versuchsende nach standardisierter 1,2-DCB-Exposition unterteilt in drei MAK-Bereiche.

Die höchste 4,5-DCK-Konzentration von 149,8 mg/g Kreatinin wurde 9,75 Stunden nach Expositionsbeginn gemessen. Auch hier ist bereits in den ersten Stunden nach Expositionsbeginn eine deutliche 4,5-DCK-Ausscheidung im Urin messbar. Die Exkretionsmaxima der verschiedenen Expositionsgruppen verteilen sich über den Zeitraum von 6 bis 12 Stunden nach Expositionsbeginn. Dabei wird die maximale 4,5-DCK-Konzentration mit 149,8 mg/g nach 9,75 Stunden im Harn des Probanden gemessen, der bei einer äußeren Belastung von 79,8% des MAK-Wertes exponiert war.

##### 4.3.4.1 Halbwertszeit der 4,5-DCK-Ausscheidung

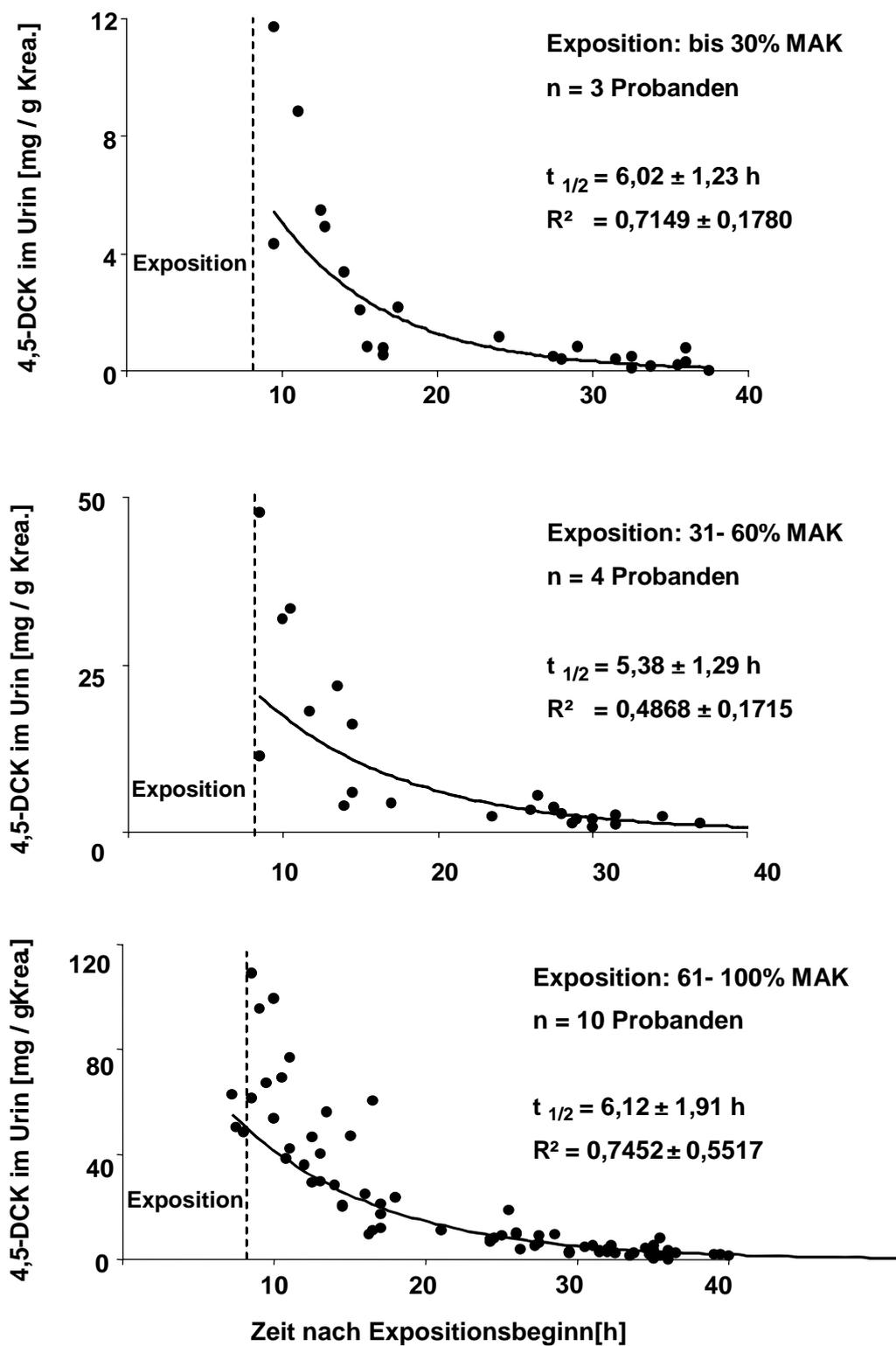
Zur Berechnung der Halbwertszeit wurden bei allen Probanden die gegen Ende der Expositionen resultierenden 4,5-DCK-Konzentrationen im Urin gegen die Zeit

aufgetragen. Zur Veranschaulichung ist Ausscheidungskurve für 4,5-DCK im Urin eines Probanden in Abbildung 4.20 dargestellt ist.



**Abb. 4.20:** Halbwertszeit  $t_{1/2}$  der renalen 4,5-DCK-Ausscheidung in mg/g Kreatinin eines Probanden nach einer 1,2-DCB-Exposition in Höhe von 82% des MAK-Wertes.

Die Abbildung 4.21 zeigt die gemittelten Halbwertszeiten von 4,5-DCK, die aus den 1,2-DCB-Expositionsbereichen bis zur Höhe des MAK-Wertes resultieren.



**Abb. 4.21:** Ausscheidungskurve mit Halbwertszeiten (HWZ)\* von 4,5-DCK im Urin bei bis zu 100% der MAK von 1,2-DCB exponierten Probanden.

\*HWZ berechnet als Mittelwerte der einzelnen Probanden

#### 4.4 Kombinierte Einwirkung von 1,2-DCB und Trinkalkohol (Ethanol)

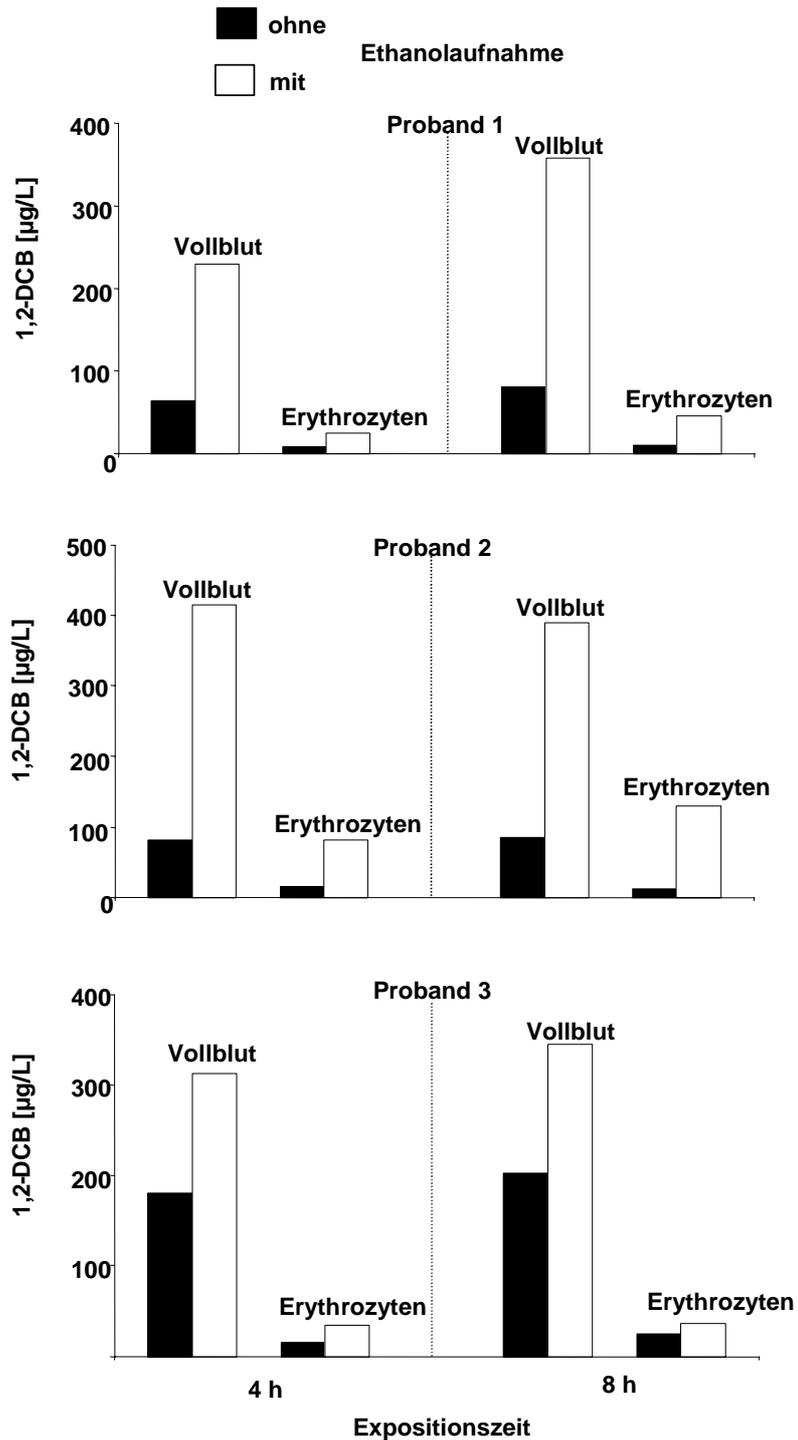
In Tabelle 4.14 sind zunächst die 1,2-DCB-Raumluftkonzentrationen dargestellt, gegenüber denen die drei Probanden ohne und mit gleichzeitiger Alkoholaufnahme exponiert waren. Aufgelistet sind weiterhin die ermittelten Blutalkohol-Konzentrationen (BAK) nach der ersten bzw. zweiten Expositionsphase.

**Tab. 4.14:** 1,2-DCB-Raumluftkonzentration bei einfacher und zusätzlich mit Ethanol kombinierter Exposition von drei Probanden sowie die BAK der drei Probanden 4 Stunden nach Expositionsbeginn und zum Expositionsende nach 8-stündiger Exposition.

Proband	1,2-DCB-Raumluft [% MAK]		BAK [‰]		
	ohne Alkohol	mit Alkohol	4 h	8 h	$\bar{X}$
1	65	59	0,57	0,81	0,69
2	74	81	0,18	0,63	0,41
3	94	89	0,35	0,11	0,23

##### 4.4.1 Konzentration von 1,2-DCB im Blut bei einfacher und mit Ethanol kombinierter Einwirkung

In Abbildung 4.22 sind die 1,2-DCB-Konzentrationen dargestellt, die bei einer einfachen bzw. mit Ethanol kombinierten Exposition gegenüber 1,2-DCB in Vollblut- und in Erythrozyten dieser Probanden gemessen wurden.

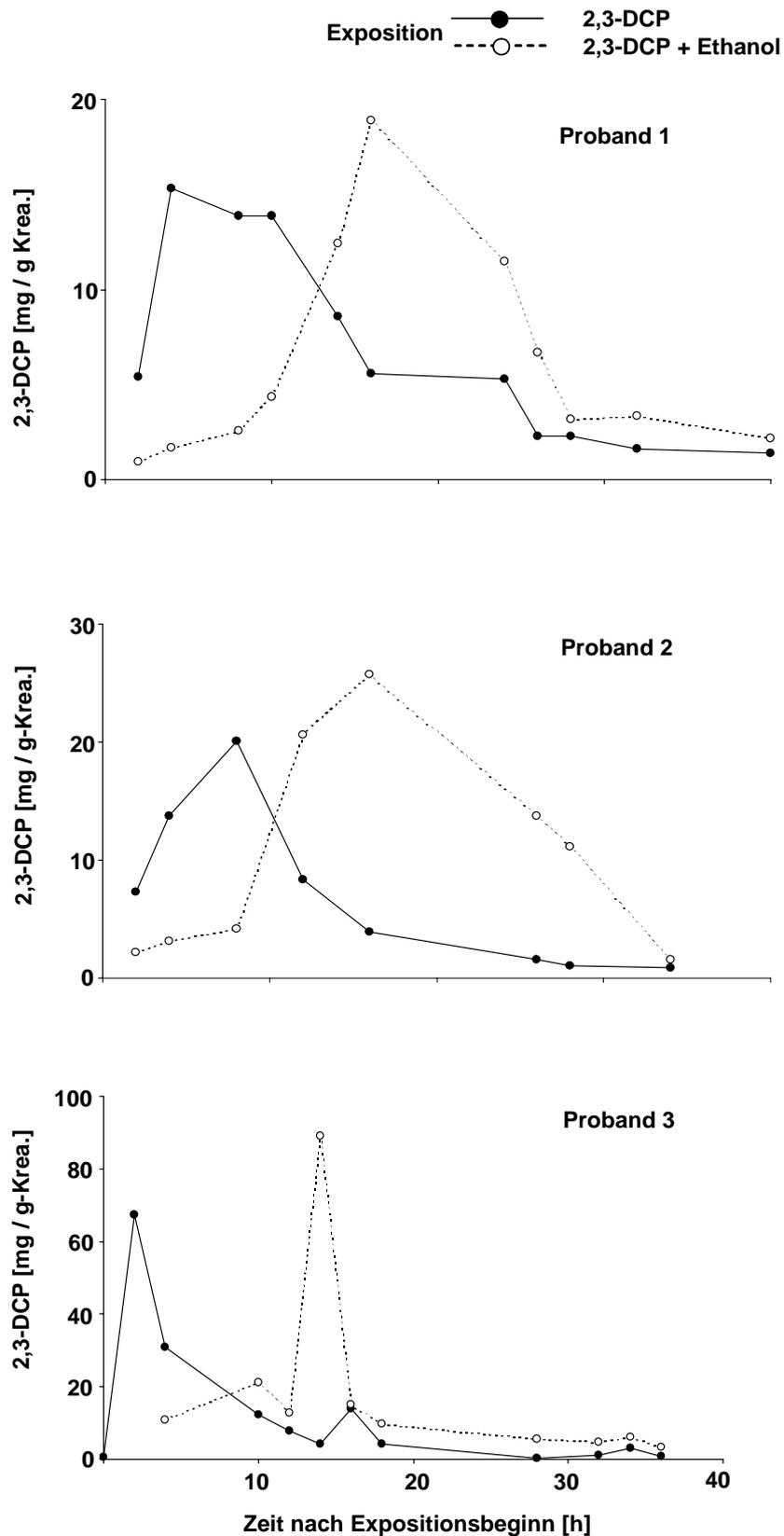


**Abb. 4.22:** 1,2-DCB-Konzentrationen in Vollblut und Erythrozyten von 3 Probanden nach standardisierten Expositionen gegenüber 1,2-DCB mit und ohne Ethanolaufnahme.

Bezüglich der äußeren Expositionsbedingungen s. Tab. 4.14.

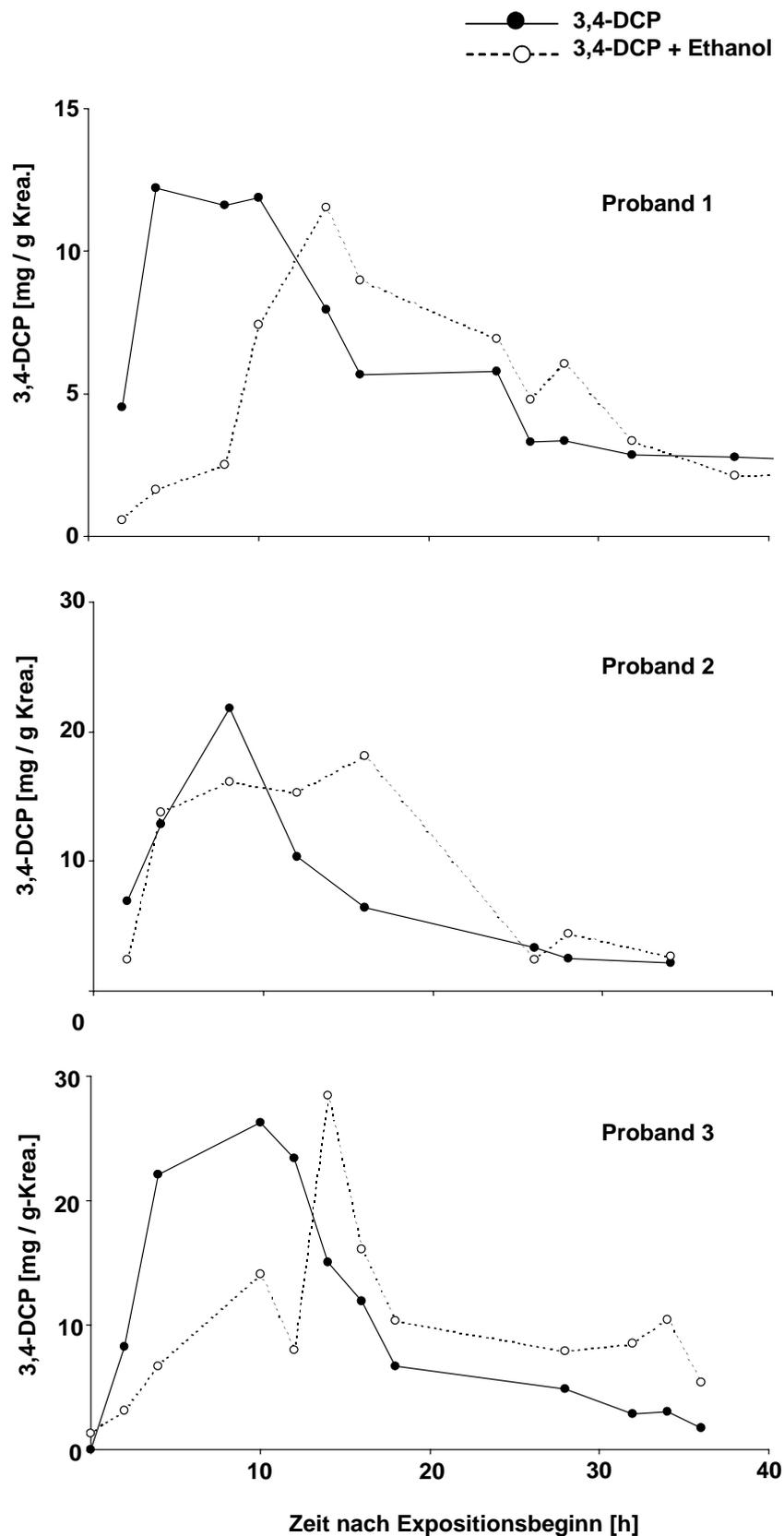
#### **4.4.2 Die Konzentration der 1,2-DCB-Metaboliten im Urin**

Die Abbildungen 4.23 bis 4.26 stellen bei jedem der drei Probanden das Ausscheidungsprofil der 1,2-DCB-Metaboliten 2,3- und 3,4-DCP sowie 4,5- und 3,4-DCK (mg/g Kreatinin) im Urin bei einfacher und mit Ethanol kombinierter 1,2-DCB-Exposition im Vergleich dar.



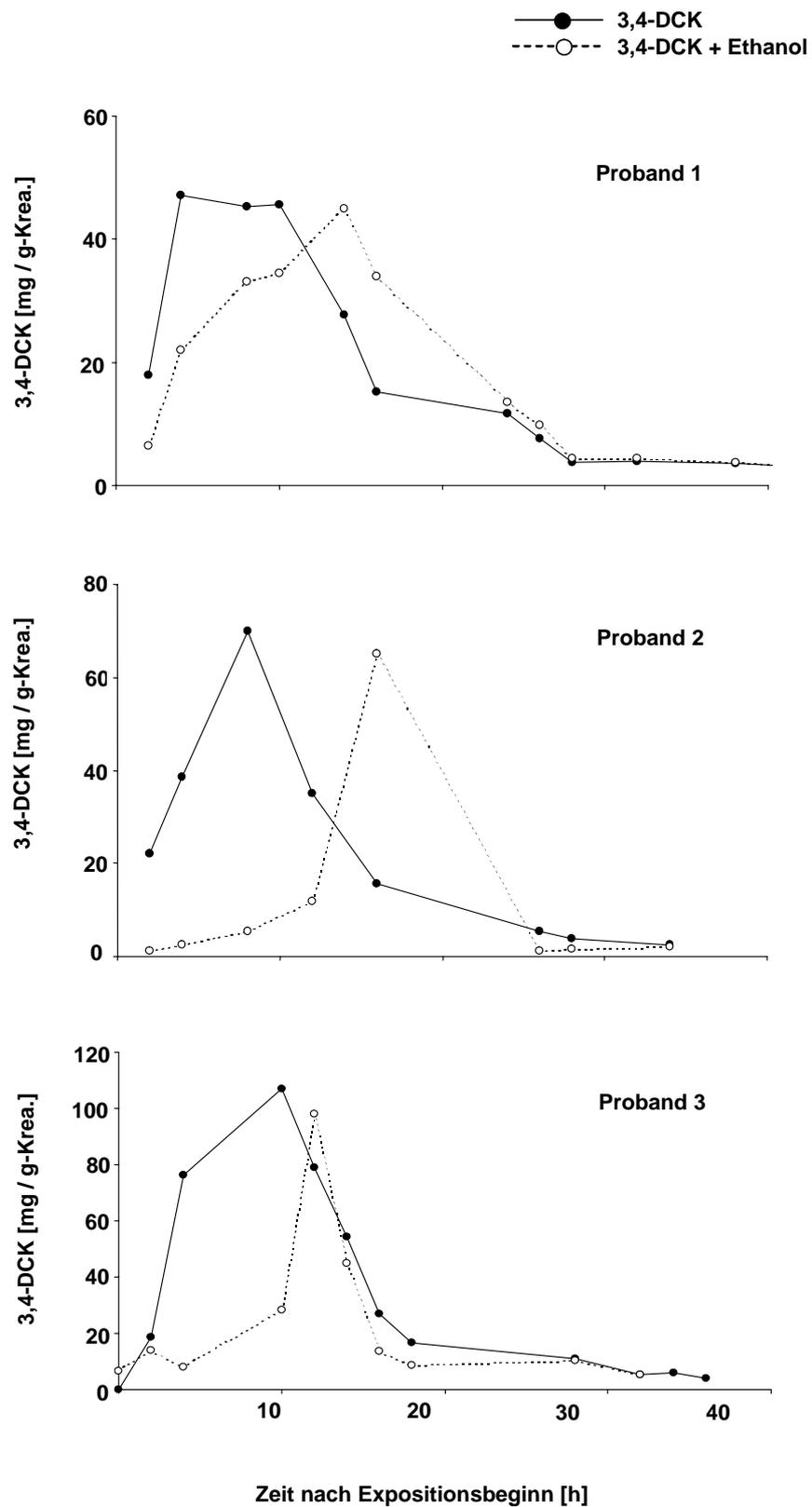
**Abb. 4.23:** Vergleich der renalen 2,3-DCP-Ausscheidung bei drei Probanden während und nach einer einfachen und einer mit oraler Ethanol-Aufnahme kombinierten Exposition gegenüber 1,2-DCB.

Bezüglich der äußeren Expositionsbedingungen s. Tab. 4.14.



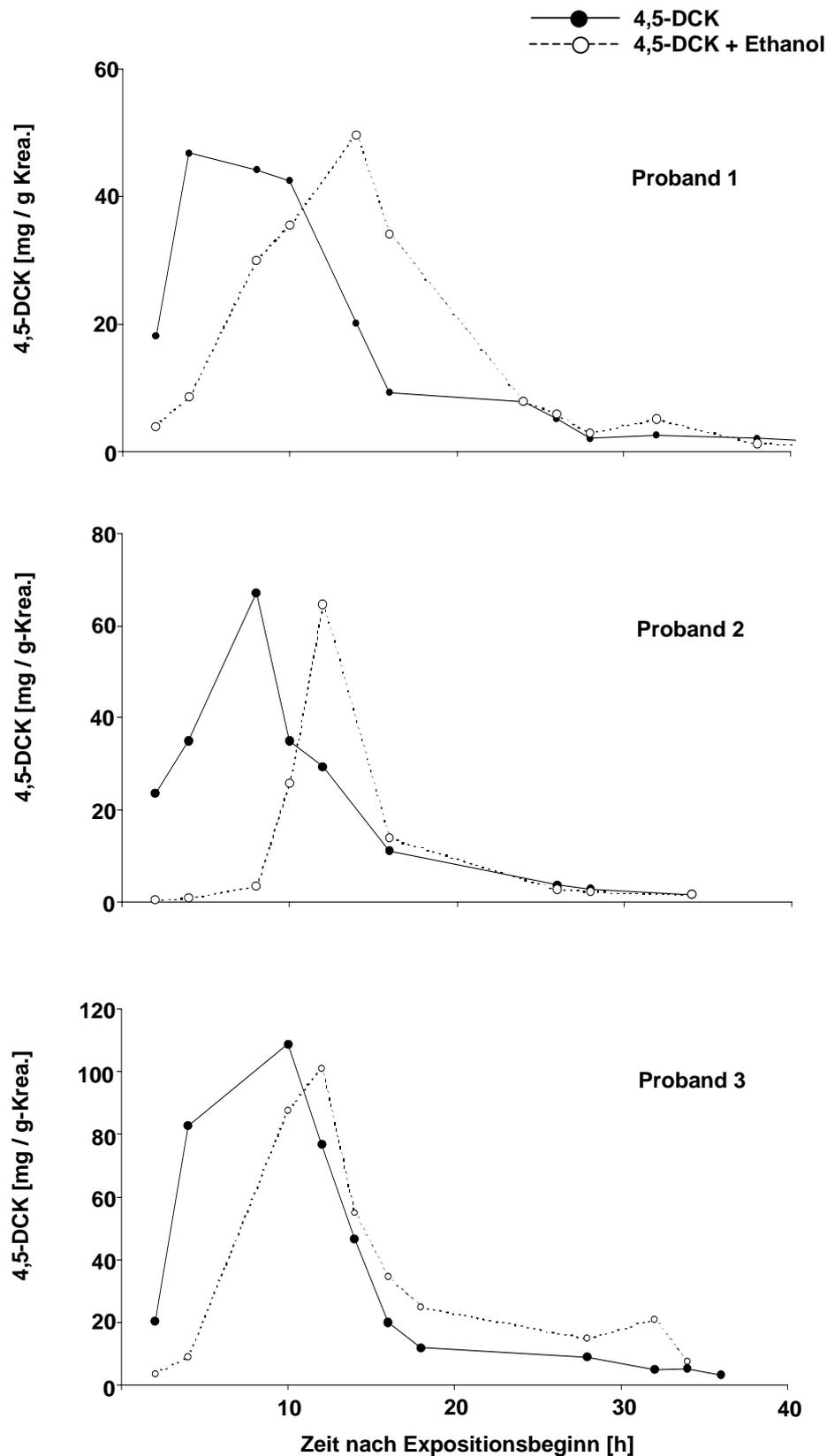
**Abb. 4.24:** Vergleich der renalen 3,4-DCP-Ausscheidung bei drei Probanden während und nach einer einfachen und einer mit oraler Ethanol-Aufnahme kombinierten Exposition gegenüber 1,2-DCB.

Bezüglich der äußeren Expositionsbedingungen s. Tab. 4.14.



**Abb. 4.25:** Vergleich der renalen 3,4-DCK-Ausscheidung bei drei Probanden während und nach einer einfachen und einer mit oraler Ethanol-Aufnahme kombinierten Exposition gegenüber 1,2-DCB.

Bezüglich der äußeren Expositionsbedingungen s. Tab. 4.14.



**Abb. 4.26:** Vergleich der renalen 4,5-DCK-Ausscheidung bei drei Probanden während und nach einer einfachen und einer mit oraler Ethanol-Aufnahme kombinierten Exposition gegenüber 1,2-DCB.

Bezüglich der äußeren Expositionsbedingungen s. Tab. 4.14.

## 5 Diskussion

Die vorliegende Arbeit wurde maßgeblich unter der Prämisse durchgeführt, um Parameter im biologischem Material zu evaluieren, mit deren Hilfe die Abschätzung eines gesundheitlichen Risikos 1,2-DCB exponierter Arbeitnehmer vorgenommen werden kann. Vor diesem Hintergrund sind die gewonnenen Daten zunächst kritisch zu interpretieren und gegeneinander abzuwägen, da sie als Grundlage eines zu erarbeitenden BAT-Wertes herangezogen werden können, zumal Resultate aus Felduntersuchungen zur äußeren und inneren 1,2-DCB-Belastung nicht vorliegen. Prinzipiell kommen aufgrund der Toxikokinetik folgende Indikatoren einer inneren 1,2-DCB-Belastung in Betracht:

1,2-DCB im Blut und Erythrozyten

2,3- und 3,4-DCP

sowie

3,4- und 4,5-DCK als Metabolite im Urin

Voraussetzung dieser Zielsetzung war es jedoch zunächst, ein Analysenverfahren zu entwickeln, das es erlaubt, die äußere, luftgetragene und innere, inkorporierte 1,2-DCB-Belastung messtechnisch zu erfassen, um sie quantifizierbar und insbesondere korrelierbar zu gestalten.

### 5.1 Validität der eingesetzten Analysenverfahren

#### 5.1.1 1,2-DCB-Analytik in der Raumluft

Die angewendete Methode beschreibt die Analyse von 1,2-DCB in der Raumluft der Expositionskammer mittels der Headspace-Gaschromatographie nach Anreicherung auf Aktivkohle mit Hilfe einer kalibrierten Probenahmepumpe. Dieses in der vorliegenden Arbeit modifizierte Verfahren wurde in Anlehnung an eine bereits publizierte Methode [27] mit noch weiter verbesserten Qualitätskriterien praktiziert.

#### 5.1.2 1,2-DCB-Analytik in Blut- und Erythrozyten

Auch im Falle der 1,2-DCB-Analytik im Blut (Erythrozyten) konnte in Teilbereichen auf ein bereits vorliegendes Analysenverfahren zurückgegriffen werden [28]. Eine zusätzliche Optimierung dieser Methode sowie massenspektromerische Detektion in

der instrumentellen Analytik erbrachten ebenfalls gesteigerte Qualitätskriterien. Störeinflüsse durch Fremdstoffe im Blut konnten dadurch in allen Fällen ausgeschlossen werden.

### **5.1.3 1,2-DCB-Metaboliten-Analytik im Urin**

Die Bestimmung der 1,2-DCB-Metaboliten 2,3- und 3,4-Dichlorphenol sowie der 3,4- und 4,5-Dichlorkatechole im Nach-Schicht-Harn erweist sich als eine äußerst praktikable Methode zur Abschätzung resorbierten 1,2-Dichlorbenzols. Die als Grundlage dieser Arbeit evaluierte Analysenmethode erlaubt die zuverlässige, empfindliche und richtige Bestimmung der Metabolite im Harn von Personen, die an ihrem Arbeitsplatz gegenüber 1,2-Dichlorbenzol exponiert sind. Mit Hilfe dieses Verfahrens ist die Überprüfung der Einhaltung vorgegebener arbeitsmedizinisch-toxikologischer Grenzwerte für 1,2-Dichlorbenzol-exponierter Arbeitnehmer problemlos auch von anderen Laboratorien durchführbar, s. dazu auch Tabelle 4.4. Die Zuverlässigkeitskriterien des Verfahrens sind als sehr gut zu bezeichnen, auch die geringen aufarbeitungsbedingten Verluste bestätigen die Richtigkeit der Analytik. Die positive Prüfung der Methode durch ein drittes Labor auf Nachvollziehbarkeit und Bestätigung der angegebenen Zuverlässigkeitskriterien sowie der angegebene Nachweisgrenze war Voraussetzung dafür, dass diese Arbeitsvorschrift von der Arbeitsgruppe „Analytische Chemie“ der Senatskommission zur Prüfung gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe der DFG in ihrer Methodensammlung „Analysen in biologischem Material“ aufgenommen und publiziert worden ist [29].

## **5.2 Parameter einer inneren Belastung**

Infolge der defizitären Datenlage einer 1,2-DCB-Exposition am Arbeitsplatz konnte bislang ein Biomonitoring nicht erarbeitet werden. Die vorliegende Studie greift mit ihrer Zielsetzung dieses Defizit auf, indem vorteilhaft auf standardisierte Expositionen in einer Versuchskammer zurückgegriffen wird, die auf einer ausschließlich inhalativen Belastung basieren. Dadurch wird die Möglichkeit geschaffen, reproduzierbare Luftkonzentrationen vorzugeben, um nach definierten Expositionszeiten bei den Probanden biologisches Material zu entnehmen, ggf. zu asservieren, um darin Parameter einer inneren Belastung zu bestimmen.

Im vorliegenden Fall wurden 1,2-DCB-Luftkonzentrationen vorgegeben, die den gesamten Bereich des derzeit aktuellen MAK-Wertes überdecken. Zwar wurden

unterschiedliche Konzentrationen jeweils innerhalb der ersten und zweiten Expositionsphase gemessen, die durch die relative gering ausgeprägte Flüchtigkeit des 1,2-DCB beim Einstellen der Luftkonzentrationen in der Versuchskammer resultieren. Die sich insgesamt jedoch ergebenden Mittelwerte der einzelnen Expositionen umfassen Werte von ca. 12 bis 94% der MAK.

### 5.2.1 1,2-DCB in Blut/Erythrozyten

Die Blutwerte haben für ein Biomonitoring deshalb Bedeutung, da sie die eigentliche kritische Toxizität von 1,2-DCB widerspiegeln und daher in eine Grenzwertfindung mit einbezogen werden sollten. In der Abbildung 4.4 sind die durchschnittlichen 1,2-DCB-Konzentrationen im Vollblut bei 18 Probanden nach 4- bzw. 8-stündiger 1,2-DCB-Exposition dargestellt, wobei die Probanden auf drei MAK-Bereiche unterteilt zusammengefasst sind. Erwartungsgemäß lässt sich aus dieser Abbildung regressionsanalytisch eine gute Korrelation zwischen einer äußeren 1,2-DCB-Einwirkung und dem daraus resultierenden Blutspiegel ableiten. Wie die Abbildung zeigt, und das ist aus arbeitsmedizinisch-toxikokinetischer Sicht von Bedeutung, unterscheiden sich die 1,2-DCB-Blutkonzentrationen über den gesamten MAK-Bereich innerhalb der beiden Expositionsphasen von 4- bzw. 8-Stunden nur geringfügig mit durchschnittlich 12%. Das heißt, es kommt bei 1,2-DCB zu einer schnellen Einstellung eines steady-state, was in enger Übereinstimmung mit den Ergebnissen anderer Expositionsversuche mit alkylierten Benzolen steht [42, 79, 92]. Die Ergebnisse von 1,2-DCB im Blut haben daher für die praktische Anwendung des Biomonitoring insofern Relevanz, da sich durch die schnelle Einstellung eines steady-state bereits nach einer relativ kurzen Expositionszeit, - eine annähernd gleich bleibende äußere 1,2-DCB-Exposition vorausgesetzt -, anhand von Blutuntersuchungen zusätzlich repräsentative Aussagen zur Höhe der Gefahrstoffsituation am Arbeitsplatz vornehmen lassen.

Da für eine BAT-Wert-Festsetzung jeweils das 95. Perzentil maßgebend ist, wäre im vorliegenden Fall ein 1,2-DCB-Blutkonzentration von 168 µg/l als Grenzwert zu diskutieren.

Die Resultate der 1,2-DCB-Konzentrationen in den Erythrozyten liefern eher wissenschaftliche Informationen und sind für ein praxis-orientiertes Biomonitoring von untergeordnetem Interesse. Wie der Abbildung 4.5 zu entnehmen ist, ist die

Gleichgewichtseinstellung vergleichbar mit der im Vollblut, es treten keine signifikanten Änderungen der Konzentrationsverhältnisse auf. Auch scheint das Verteilungsverhältnis von 1,2-DCB zwischen Vollblut und Erythrozyten von etwa 10 : 1 unabhängig von der Höhe der äußeren Belastung zu sein. Der geringe Anteil von 1,2-DCB in den Erythrozyten lässt jedoch den Rückschluss zu, dass dieser chlorierte Kohlenwasserstoff nach Aufnahme in den Blutkreislauf eher im Plasma an Transportproteine gebunden ist, die eine Penetration über die Zellmembran in den Erythrozyten verhindern.

## **5.2.2 Metaboliten-Ausscheidung im Urin**

Die qualitative massenspektrometrische Analyse der Urinproben ergab erwartungsgemäß das bereits bekannte Spektrum der Metabolite, das in der Abbildung 1.1 dargestellt ist. Nicht nachgewiesen wurden die Dichlordiphenylmercaptursäuren, da sie an der Metabolitenausscheidung nur einen verschwindend geringen Anteil haben und folglich nicht für ein Biomonitoring geeignet sind.

Im Folgenden werden die auf Kreatinin-korrigierten Ergebnisse näher erörtert.

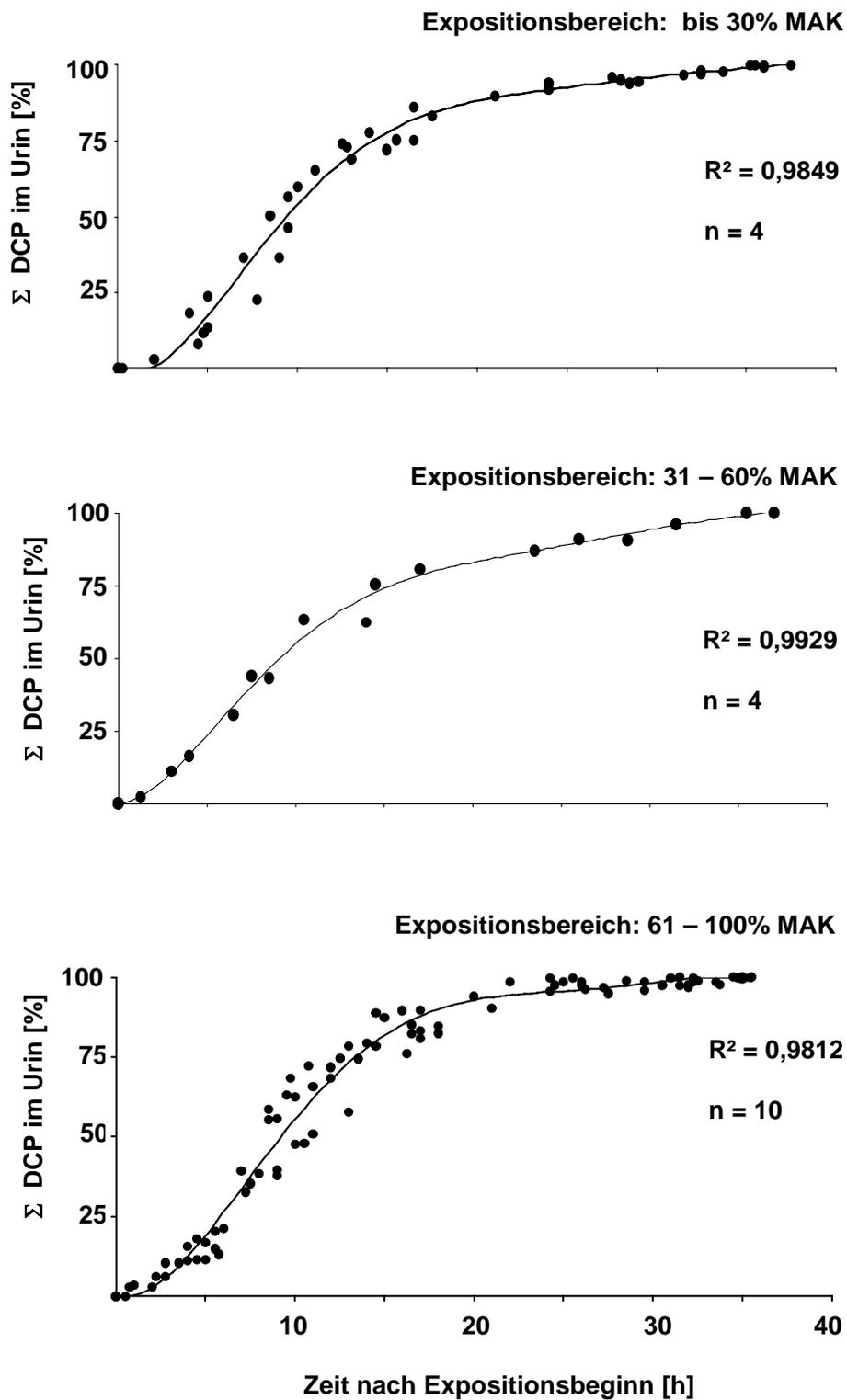
### **5.2.2.1 2,3- und 3,4-DCP im Urin**

Unter Berücksichtigung des Metabolismus von 1,2-DCB wäre zu erwarten, dass von den beiden Dichlorphenolen die 3,4-isomere Komponente in doppelt so hoher Konzentration im Urin ausgeschieden werden sollte, da die aus 1,2-DCB intermediär gebildeten Oxirane theoretisch jeweils zwei 3,4-DCP-Moleküle und nur ein 2,3-DCP-Molekül entstehen lassen können. Beim Vergleich der mittleren renalen Ausscheidungen, s. Abbildungen 4.10 und 4.13, ist hingegen kein auffälliger Konzentrationsunterschied bei beiden Metaboliten über den gesamten MAK-Bereich feststellbar. So resultieren bei der höchst exponierten Gruppe am Expositionsende  $26,2 \pm 17,1$  mg 2,3-DCP/g-Kreatinin gegenüber  $27,0 \pm 17,5$  mg 3,4-DCP/g-Kreatinin. Ähnlich wie bei den Blutwerten lässt sich auch bei diesen Metaboliten eine sehr gute Korrelation über die MAK-Bereiche aufzeigen. Im Gegensatz zu den Auswertungen der Blutproben, von denen am Expositionsende nur eine je Proband erhalten werden konnte, ließen sich alle Probanden dahingehend motivieren, nach Expositionsende über einen längeren Zeitraum Urinproben zu sammeln, die im Hinblick auf biologische Halbwertszeiten und damit auf ggf. auftretende Kumulationseffekte

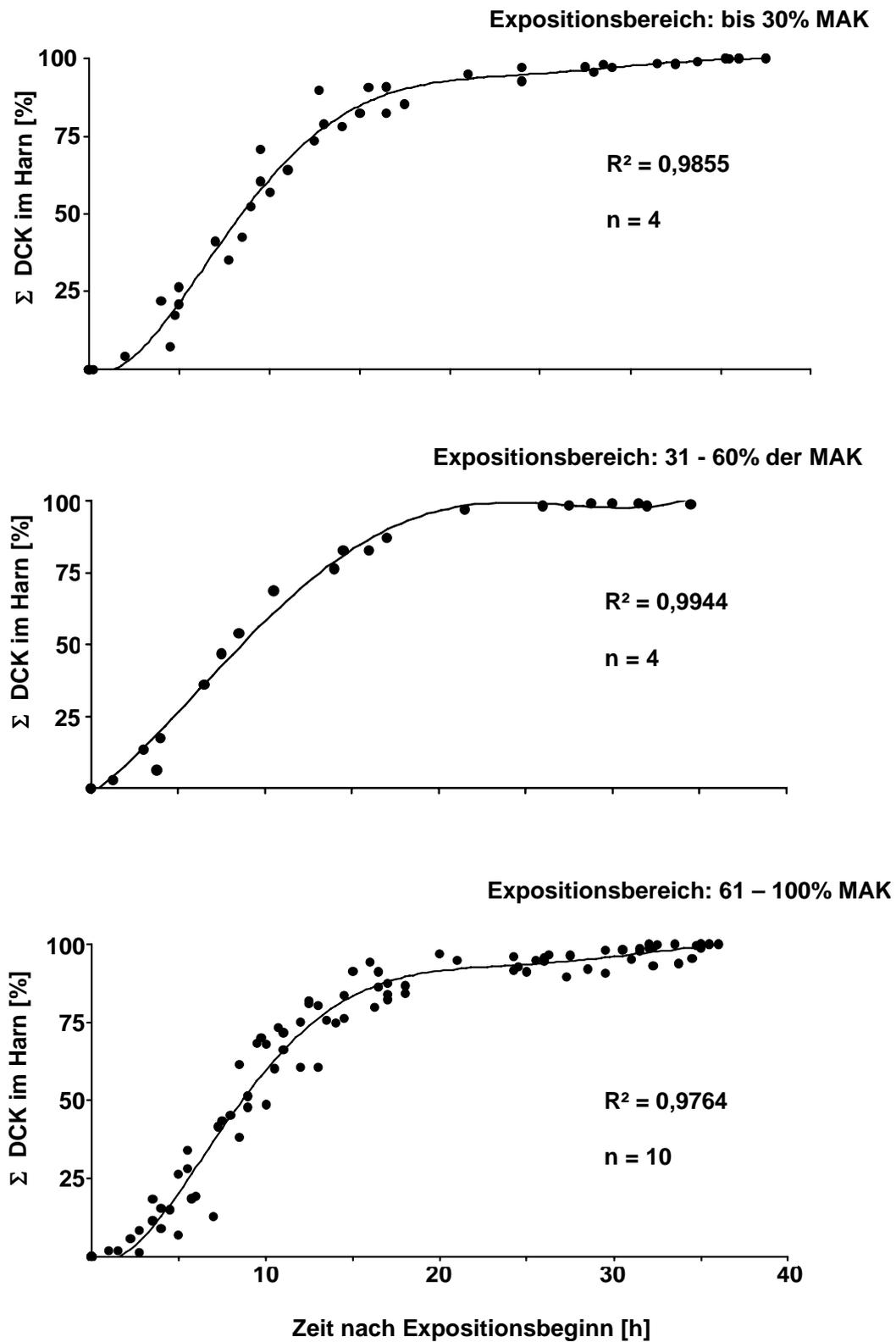
ausgewertet wurden. Den Abbildungen 4.12 und 4.15 ist zunächst zu entnehmen, dass sich die für die drei MAK-Bereiche berechneten Halbwertszeiten sowohl für die Ausscheidungen von 2,3- als auch für 3,4-DCP unabhängig von der Höhe der äußeren Belastung nur unwesentlich unterscheiden. Es resultieren insgesamt mittlere biologische Halbwertszeiten von etwa  $7,00 \pm 0,50$  h bzw.  $9,34 \pm 0,37$  h. Kumulierende Effekte dieser Metabolitenspezies sind daraus nicht ableitbar. Untermuert wird dies bei Betrachtung der aus den vorliegenden Daten berechneten kumulativen Summenhäufigkeiten der aufsummierten DCP-Ausscheidung beider Metabolite im Urin, s. Abbildung 4.27. So werden bereits bis zum Expositionsende von den Probanden etwa 50% der Metaboliten ausgeschieden. 16 Stunden später, also im Berufsleben zum Schichtbeginn am kommenden Tag, sind es bereits etwa 90% der Gesamtmenge, was bei dem höchst belasteten Probandenkollektiv durchschnittlich  $3,0 \pm 1,3$  mg 2,3-DCP/g-Kreatinin bzw.  $4,6 \pm 1,9$  mg 3,4-DCP/g-Kreatinin entspricht.

#### **5.2.2.2 3,4- und 4,5-DCK im Urin**

Auffällig ist zunächst, dass die Ausscheidung der Katechole deutlich höher ist, als die der Phenole. Ursache dafür kann im Metabolismus gesehen werden, bei dem die Bildung der Phenole über die Spaltung der intermediär gebildeten Oxiranringe infolge langsam verlaufender Umlagerungsreaktionen erfolgt, die Katecholentstehung jedoch durch eine wesentlich schneller stattfindende Hydrolyse der Epoxide eingeleitet wird. So sind die durchschnittlichen Ausscheidungen beider Katechole am Expositionsende bei der im MAK-Bereich von 61 bis 100% exponierten Probanden mit  $69,4 \pm 35,0$  mg 3,4-DCK/g-Kreatinin und  $65,3 \pm 35,9$  mg 4,5-DCK/g-Kreatinin wie bei den Phenolen untereinander nahezu identisch, unterscheiden sich aber, stellt jeweils man die aufsummierten Werte gegenüber, um etwa den Faktor 3. Vergleichbar sind ebenfalls die biologischen Halbwertszeiten, die über den gesamten Expositionsbereich gemittelt im Falle des 3,4-DCK bei 6,3 und bei 4,5-DCK bei 5,8 h liegen. Ebenso wie bei den Phenolen hat auch bei den Katecholen die Höhe der 1,2-DCB-Exposition keinen Einfluss auf die Exkretionsgeschwindigkeit. In Abbildung 4.28 sind die kumulativen Häufigkeiten der als Summe erfassten DCK dargestellt.



**Abb. 4.27:** Kumulative Häufigkeit [%] der als Summe der 2,3- und 3,4-DCP erfassten renalen Ausscheidungen bei insgesamt 18 Probanden unterteilt in drei Bereiche der MAK.



**Abb. 4.28:** Kumulative Häufigkeit [%] der als Summe der 3,4- und 4,5-DCK erfassten renalen Ausscheidungen bei insgesamt 18 Probanden unterteilt in drei Bereiche der MAK.

Sie sind ähnlich zu diskutieren wie die der Phenole. Nach Expositionsende ist bereits die Hälfte des inhalativ aufgenommenen 1,2-DCB von den Probanden in metabolisierter Form ausgeschieden. Wie die Abbildung 4.28 weiter zeigt, ist auch im Falle der DCK kein Kumulationsbestreben zu erwarten.

### **5.3 Konkurrierender Einfluss von Ethanol auf die 1,2-DCB-Toxikokinetik**

Unter der Berücksichtigung eines allgemein zunehmenden Alkoholkonsums stellt sich der Alkoholgenuss am Arbeitsplatz als häufig diskutiertes Problem in der Arbeitsmedizin dar [52, 64]. Um dieser Problematik u. a. für die vorliegende Fragestellung gerecht werden zu können, wurden 3 Probanden gegenüber Ethylbenzol im MAK-Wert-Bereich unter gleichzeitiger Einwirkung von unterschiedlichen Mengen oral zugeführtem Ethanol exponiert. Zwar war beabsichtigt, die drei Probanden jeweils unter identischen äußeren 1,2-DCB-Luftkonzentrationen mit und ohne Trinkalkohol zu exponieren, um individuell vergleichbare Ausgangssituationen zu schaffen. Wegen der nur gering ausgeprägten Verdampfungstendenz des 1,2-DCB schwankten die Luftkonzentrationen im Einzelfall zwischen 5 und 10%, die Blutalkohol-Konzentrationen rangierten dabei zwischen 0,23 bis 0,69 ‰, s. auch Tabelle 4.14.

Nach kombinierter Einwirkung von 1,2-DCB und Ethylalkohol wurden im Vergleich zu ausschließlich 1,2-DCB-Expositionen veränderte Konzentrationsprofile dieses chlorierten Aromaten sowie deutlich erhöhte 1,2-DCB-Konzentrationen im Blut und in den Erythrozyten gemessen, s. Abbildung 4.22. Wie aus dieser Abbildung ersichtlich ist, wird der Alkoholeinfluss bereits während der ersten 4-stündigen Expositionsphase deutlich. So werden mit Alkoholgenuss 1,2-DCB-Konzentrationen im Blut gemessen, die mindestens doppelt und in den beiden anderen Probanden drei bzw. vierfach oberhalb der Blutwerte lagen, der ohne Alkohol resultierten. Erwartungsgemäß wurden derart veränderte Konzentrationsprofile auch in den Erythrozyten festgestellt.

Es kann davon ausgegangen werden, dass die Biotransformation des 1,2-DCB durch Oxidation über das mikrosomale Enzymsystem erfolgt. Die Oxidation des Ethylalkohols zum Acetaldehyd verläuft entweder über die NAD/NADH-abhängige Alkohol-Dehydrogenase oder durch das mikrosomale Cytochrom P<sub>450</sub>-abhängige

oxidierende System, die beide vorwiegend in der Leber lokalisiert sind. Die beobachtete Akkumulation von 1,2-DCB im Blut unter Alkohol-Einfluss kann darin begründet sein, dass das oxidierende Metabolisierungspotential der Leberzellen zugunsten des Ethanols im Sinne eines kompetitiven Antagonismus bevorzugt und somit der 1,2-DCB-Abbau zunächst gehemmt wird und es über einen bestimmten Zeitraum zu einem Anstau von Ethylbenzol im Blut kommt. Unter simultaner Einwirkung von Ethanol und anderen Gefahrstoffen konnten vergleichbare Verschiebungen im Konzentrationsprofil beobachtet werden. Stellvertretend genannt sei die von Reske durchgeführte Expositionsstudie [79].

In der vorliegenden Studie zeigte sich die Beeinflussung der Biotransformation unter Ethanol-Einfluss hinsichtlich des veränderten Stoffwechselverhaltens nicht nur anhand der vergleichsweise drastisch erhöhten 1,2-DCB-Konzentrationen im Blut, sondern folgerichtig auch an den Veränderungen des Ausscheidungsverhaltens aller 1,2-DCB-Metabolite im Urin, wie die Abbildungen 4.23 bis 4.26 informativ wiedergeben. Der zeitlich verzögert einsetzende Metabolismus von 1,2-DCB bei gleichzeitigem Alkoholkonsum bewirkt konsequent ebenfalls eine protrahierte Ausscheidung der Metabolite. Während bei einer alleinigen 1,2-DCB-Exposition das Ausscheidungsmaximum der Metabolite generell am Versuchsende erscheint, verschiebt die kombinierte Einwirkung den Höchstwert der Metabolitenspezies etwa in das Sammelintervall von 15 Stunden nach Expositionsbeginn. Ferner ist festzustellen, dass Unterschiede bezüglich der ausgeschiedenen Konzentrationen der Metabolite festzustellen sind. So konnten teils höhere, teilweise aber auch geringere Konzentrationen der einzelnen Metabolite registriert werden.

Der inhibitorische Effekt des Ethanols bezüglich des Metabolismus von 1,2-DCB hat aus arbeitsmedizinischer Sicht erhebliche Konsequenzen auf die medizinische Sekundärprävention, da in der Praxis in der Regel zur Risikoabschätzung beruflich exponierter Arbeitnehmer(l)nnen Blut- und/oder Urinproben am Schichtende asserviert und untersucht werden. Im vorliegenden Falle wären nach den vorliegenden Ergebnissen bei zusätzlichem Ethanolgenuss bei Blutuntersuchungen mit falsch positiven und bei Urinuntersuchungen mit falsch negativen Ergebnissen zu rechnen.

## 6 Schlussfolgerung

Die vorliegende Arbeit wurde vorrangig mit der Zielsetzung durchgeführt, um Datenmaterial zur Evaluierung eines aktuellen biologischen Arbeitsstoff-Toleranzwertes vorlegen zu können.

Die hier vorgestellten Ergebnisse lassen folgende Aussagen zu:

für eine Risikoabschätzung beruflich 1,2-DCB-exponierter Arbeitnehmer stehen mit der Bestimmung des Gefahrstoffs 1,2-DCB im Blut sowie seiner Metaboliten 2,3- und 3,4 DCP sowie 3,4- und 4,5-DCK im Urin valide Bioparameter zur Verfügung

die in dieser Arbeit teilweise modifizierten und neu entwickelten gaschromatographischen Analysenverfahren mit massenspektrometrischer Detektion erlauben es, o.g. Parameter selektiv und sensitiv zu bestimmen. Im Falle der Metaboliten konnte die Reliabilität der analytischen Methode anhand von Ringversuchen bestätigt werden;

zur Evaluierung zukünftiger BAT-Werte einer inneren 1,2-DCB-Belastung können die Ergebnisse standardisierter Expositionen bis zum MAK-Wert von 10 ppm über die Zeitspanne einer praxisorientierten Arbeitsschicht von insgesamt 8 Stunden herangezogen werden;

als äußerst selektivem Parameter einer kritischen Toxizität ist der Bestimmung von 1,2-DCB im Blut Vorrang einzuräumen. Bereits nach allen 4-stündigen Expositionen bis zur Höhe des MAK-Wertes stellte sich ein Fließgleichgewicht bzgl. der Blut-1,2-DCB-Konzentration ein, so dass dieser Parameter schnell auf eine äußere Belastung anspricht und sich äußere Konzentrationsschwankungen am ehesten im Blutspiegel niederschlagen;

bereits eine kurze Zeit von etwa 2 Stunden nach Expositionsbeginn konnten im Urin die 1,2-DCB Metabolite nachgewiesen werden. Dabei handelte es sich um die Phenole 2,3- und 3,4-DCP sowie um die beiden Katechole 3,4- und 4,5-DCK;

entscheidende Interaktionen bzgl. der Toxikokinetik von 1,2-DCB übt der gleichzeitig aufgenommene Alkohol infolge seiner Enzym-konkurrierenden Wirkung aus. Dies lässt ein in Höhe und zeitlicher Abfolge verändertes Metaboliten-Spektrum entstehen, das durch einen zukünftigen BAT-Wert falsch negativ interpretiert wird. Gleiches gilt für die Ethylbenzol-Konzentration im Blut, die nach Alkoholgenuss deutlich höhere Werte am Expositionsende aufweist, und somit bezüglich des Gefahrstoffes 1,2-DCB falsch positive Werte resultieren lässt.

Die Evaluierung eines BAT-Wertes unter Zugrundelegung des aktuellen MAK-Wertes für 1,2-DCB von 10 ppm beschränkt sich bei der derzeitigen Datenlage ausschließlich auf die Bestimmung der äußeren und inneren Belastungsindikatoren. Bei 1,2-DCB ist als äußere Belastung jede Exposition zu werten, die zu einer inhalativen, oralen oder perkutanen Resorption führen kann. Die innere Belastung besteht in der biologisch relevanten Konzentration von 1,2-DCB im Blut und seinen renalen Ausscheidungsparametern.

In der Tabelle 6.1 sind die aus den standardisierten Expositionen für die Evaluierung des BAT-Wertes relevanten Daten synoptisch zusammengestellt.

**Tab. 6.1:** Vergleich der externen 1,2-DCB-Konzentrationen in der Luft mit den Konzentrationen angegeben als 95. Perzentil von 1,2-DCB im Blut und den DCP und DCK im Urin.

1,2-DCB [% der MAK]	1,2-DCB-Blut [µg/L] 8 h*	Σ 2,3- u 3,4-DCP [mg/g Kreatinin]		Σ 3,4- und 4,5-DCK [mg/g Kreatinin]	
		~ 8 h*	~ 24 h*	~ 8 h*	~ 24 h*
bis 30	40	9,3 ± 3,8	n. n.	25,6 ± 9,8	4,7 ± 3,6
31 - 60	110	32,6 ± 21,7	3,9 ± 3,1	82,7 ± 19,4	9,7 ± 5,8
61 - 100	168	53,2 ± 17,5	7,5 ± 2,1	155,9 ± 35,8	21,2 ± 6,7

\* nach Expositionsbeginn

Für die Festsetzung des BAT-Wertes ist es nicht zwingend notwendig, die einzelnen Metaboliten nachzuweisen. Repräsentativ für das gesamte Spektrum der Metabolite lässt sich anhand der aufsummierten DCK eine gesundheitliche Risikoabschätzung exponierter Berufsgruppen vornehmen. Je nach Situation kann die Urinprobe am Schichtende oder zu Beginn der nächsten Arbeitsschicht untersucht werden. Mit Hilfe der aus den Untersuchungen ermittelten biologischen Halbwertszeiten  $t_{1/2}$  von 6 bzw. 7 h lassen sich auch die am Arbeitsende resultierenden Konzentrationen zu anderen Probenahmezeiten vorteilhaft zurückrechnen.

Aus den in dieser Arbeit gewonnenen toxikokinetischen Daten lassen sich für den beruflichen 1,2-DCB-Umgang am Arbeitsende folgende BAT-Werte evaluieren:

**155 mg der als Summe erfassten Dichlorkatechole pro g Kreatinin**  
und / oder

**170 µg 1,2-Dichlorbenzol pro L Blut**

Bei der Interpretierung vorliegender Messergebnisse ist stets zu berücksichtigen, dass Alkoholgenuss während der Arbeitsphase drastische Auswirkungen auf das Ausscheidungsverhalten bzw. auf die Höhe des 1,2-DCB-Blutwertes bewirken kann.

## 7. Zusammenfassung

Aufgrund seiner chemisch-irritativen Eigenschaften von 1,2-Dichlorbenzol (1,2-DCB) wurde 2001 im Rahmen der Primärprävention der frühere MAK-Wert für 1,2-DCB von 50 auf 10 ppm abgesenkt. Dies machte es erforderlich, die Evaluierung eines BAT-Wertes nach ausschließlich inhalativer 1,2-DCB-Einwirkung vorzunehmen. Da sich die dafür notwendige Datenlage als defizitär erwies, wurden standardisierte Expositionsversuche mit 18 Probanden praxis-orientiert unter ergometrischer Belastung von 75 Watt jeweils über 10 Minuten pro Stunde in Höhe bis zum MAK-Wert in einer Versuchskammer vorgenommen. Die aus diesem äußeren Belastungsparameter resultierenden inneren Belastungen wie der Konzentration von 1,2-DCB im Blut und seinen Metaboliten 2,3- und 3,4-Dichlorphenolen (2,3-DCP und 3,4-DCP) bzw. 3,4- und 4,5-Dichlorkatecholen (3,4-DCK und 4,5-DCK) wurden mittels einer eigens erarbeiteten Analysenmethode gaschromatographisch-massenspektrometrisch selektiv und sensitiv erfasst.

Die Untersuchungsergebnisse lassen sich folgendermaßen interpretieren:

Nach Expositionsende fanden sich für die höchstexponierten Probanden durchschnittlich 110 µg 1,2-DCB/L Blut mit einem 95. Perzentil von 168 µg/L. In den Erythrozyten wurden jeweils etwa 10% der Blutwerte nachgewiesen. Nach bereits 4-stündiger Exposition stellt sich ein Fließgleichgewicht ein.

Etwa 2 h nach Expositionsbeginn konnten die Metaboliten im Urin nachgewiesen werden. Gegenüber den DCP wiesen dabei die DCK die höchsten Ausscheidungen in allen Expositionsbereichen auf. Kreatinin-korrigiert betrug das 95. Perzentil der aufsummierten beiden DCK nach äußerer Belastung in Höhe von 61 bis 100% der MAK am Expositionsende  $156 \pm 36$  und etwa 16 h später  $21 \pm 7$  mg/g Kreatinin. Die renalen Ausscheidungen der DCP sind in den Konzentrationen etwa um den Faktor 3 tiefer angesiedelt. Die biologischen Halbwertszeiten rangierten im Falle aller vier Metabolite in vergleichbaren Größenordnungen von 6 bis 8 h.

In die Zielsetzung der Arbeit einbezogen wurde die Frage einer möglichen konkurrierenden Einwirkung auf die Toxikokinetik von 1,2-DCB bei gleichzeitigem Alkoholgenuß. Die resultierenden Ergebnisse zeigen, dass im Falle der Bestimmung von 1,2-DCB im Blut mit falsch positiven und im Falle der Bestimmung der Metabolite im Urin mit falsch negativen Werten gerechnet werden muss.

Aus den in dieser Arbeit gewonnenen toxikokinetischen Daten lassen sich für den beruflichen 1,2-DCB-Umgang am Arbeitsende folgende BAT-Werte evaluieren:

Im Nach-Schicht-Urin sollte die Konzentration der als Summe erfassten Dichlorkatechole 155 mg pro g Kreatinin nicht überschreiten. Als Grenzwert im Blut ist 170 µg 1,2-DCB pro L noch tolerabel.

## 8 Summary

Because of the hepato-toxic character of 1,2-dichlorobenzene (1,2-DCB) in the year 2001 the formerly MAK-value was reduced from 50 to 10 ppm. Therefore it was necessary to evaluate a biological tolerance value (BAT-value) after incorporation of 1,2-DCB at MAK-levels via inhalation. As there was a lack of data in the literature practice orientated standardized exposures had to be performed with 18 probands in a test chamber. The test series were carried out under ergometric body burden of 75 Watt each with 10 min per hour up to the level of the MAC. The internal burden which results from the external exposure as the concentrations of 1,2-DCB in blood and its metabolites 2,3- and 3,4-dichlorophenol (2,3- and 3,4-DCP) res. 3,4- and 4,5-dichlorocatechol (3,4 and 4,5-DCK) would be measured selective and sensitive by an ad hoc established analytical method with the mass spectrometric principle.

After ending the exposures the highly exposed probands show on the average 110 µg 1,2-DCB/L blood. The 95. percentile was 168 µg/L. Within the erythrocytes only 10% of the blood concentration are measured. Already after an exposure of 4 h a steady-state could be established.

About 2 h after beginning the exposure all the metabolites were measured in urine of the probands. In contrast to the DCP the totalized DCK had the maximum excretions over all the exposure levels. By correction to the creatinine the 95. percentile after external exposure at the level of 61 to 100% MAC ranged up to  $156 \pm 36$  and about 16 h later  $21 \pm 7$  mg/g creatinine. The renal excretions of the totalized DCP concentrationen were about the factor 3 smaller. In the case of all the metabolites the biological half lives are in comparable magnitude of 6 to 8 h.

The aim of the study included also the question if the consumption of alcohole at the same time of exposure can competitively interfere the toxicokinetic of 1,2-DCB. The results demonstrated that in the case of the determination of 1,2-DCB in blood false positive and in the case of the determination in urine false negative values will occur.

The application of the toxicokinetic findings to the evaluation of occupationally orientated threshold (BAT-value) allow the following conclusions:

At the end of the shift the concentration of the summed DCK should not exceed 155 mg/g creatinine and the threshold of 1,2-DCB in blood amounts to 170 mg/L.

## 9 Literaturverzeichnis

1.

Allis J. W., Simmons J. E., House D. E., Robinson B. L., and Berman E. The Differential Hepatotoxicity and Cytochrome P450 Responses of Fischer-344 Rats to the Three Isomers of Dichlorobenzene, *J. Biochem. Toxicology*, 1992, Vol. 7, No 4: 257-264.

2.

Anonymous, Notice of Intended Changes- o-Dichlorobenzene, Dimethylamine, and Dinitrotoluene. *Appl. Occup. Environ. Hyg.*, 1992, 7(1): 55-58.

3.

Araki S. Effects of Urinary Volume on Urinary Concentrations of Lead,  $\delta$ -aminolaevulinic acid, coproporphyrin, creatinine and total solutes, *British Journal of Industrial medicine*, 1980, 37: 50-54.

4.

Araki S., Sata F., Murata K. Adjustment for Urinary Flow Rate: an improved approach to biological monitoring, *Int. Arch. Occup. Environ. Health*, 1990, 62: 471-477.

5.

Ariyoshi T., Ideguchi K., Iwasaki K. and Arakaki M. Relationship between Chemical Structure and Activity. II. Influences of Isomers in Dichlorobenzene, Trichlorobenzene, and Tetrachlorobenzene on the Activities of Drug-Metabolizing Enzymes, *Chem. Pharm. Bull.*, 1975, 23 (4): 824-830.

6.

Astrand, I. *Arbeitsphysiologie*, Schattauer Verlag, Stuttgart New York, 1987.

7.

Azouz W. M., Parke D. V. and Williams R. T. Studies in Detoxikation. The Metabolism of Halogenobenzenes, Ortho- and Para-Dichlorobenzenes, *Biochem. J.* 1955, 59 (3): 410-415.

8.

Bauer U. Belastungen des Menschen durch Schadstoffe in der Umwelt-Untersuchungen über leicht flüchtige organische Halogenverbindungen in Wasser, Luft, Lebensmitteln und im menschlichen Gewebe. III. Mitteilung: Untersuchungsergebnisse, *Zbl. Bakt. Hyg. I. Abt. Orig. B*, 174: 200-237.

9.

Barr J., Weir A. J., Brendel K. and Sipes I. G. Liver slices in dynamic organ culture. II. An in vitro cellular technique for the study of integrated drug metabolism using human tissue. *Xenobiotica*, 1991, vol. 21, No. 3: 341-350.

10. Beratergremium für umweltrelevante Altstoffe (BUA) der Gesellschaft Deutscher Chemiker [Hrsg.], o-Dichlorbenzol (1,2-Dichlorbenzol), BUA Stoffbericht 53 (September 1990), Weinheim.
11. Bolm-Audorff U., Schreml N., Virnich H. -J., Knecht U., H. -J. Voitowitz. Die Zuverlässigkeit des Kreatininbezugs von BAT-Werten im Harn. Verhandlungen der Deutschen Gesellschaft für Arbeitsmedizin e. V. 32. Jahrestagung, Hamburg, 7.-10. April 1986. Stuttgart; Gentner Verlag 1986, 347-349.
12. Brodie B. B., Reid W. D., Cho A. K., Sipes G., Krishna G. and Gillette J. R. Possible Mechanism of Liver Necrosis Caused by Aromatic Organic Compounds. Proceedings of the National Academy of Sciences, 1971, Vol. 68, No. 1: 160-164.
13. Brondeau M. T., Bonnet P., Guenier J. P., Simon P. and de Ceaurriz J. Adrenal-dependent Leucopenia after Short-term Exposures to Various Airborne Irritants in Rats. Journal of Applied Toxicology. 1990, 10 (2): 83-86.
14. Brondeau M. T., Ban M., Bonnet P. Guenier J. P. and de Ceaurriz J. Acetone compared to other ketones in modifying the hepatotoxicity of inhaled 1,2-dichlorobenzene in rats and mice. Toxicology Letters, 1989, 49: 69-78.
15. Buddecke E. Grundriss der Biochemie. 9. Neubearbeitete Auflage. Walter de Gruyter Verlag; Berlin, New York; 1994: 454-456.
16. Bundeszentrale für gesundheitliche Aufklärung (BZgA). Alkohol und Arbeitswelt. Ergebnisse einer Expertentagung. Köln 1984.
17. Charbonneau M., Strasser J., Lock E. A., Turner M. and Swenberg J. A. Involvement of Reversible Binding to  $\alpha_{2u}$ -Globulin in 1,4-Dichlorobenzene-Induced Nephrotoxicity. Toxicology and Applied Pharmacology, 1989, 99: 122-132.
18. Chorpa N. M., Campbell B. S., Hurley J. C. Systematic studies on the breakdown of endosulfan in tobacco smokes: isolation and identification of the degradation products from the pyrolysis of endosulfan I in a nitrogen atmosphere. J. Agric. Food Chem. 1978, 26, 255-258
19. Colacci A., Bartoli S., Bonora B., Niero A., Silingardi P. and Grilli S. In Vivo and In Vitro Interaction of 1,2-Dichlorobenzene with Nucleic Acids and Proteins of Mice and Rats. Tumori, 1990, 76: 339-344.

20.

De Ceaurriz J. C., Micillino J. C., Bonnet P., Guernier J. P. ; Sensory irritation caused by various industrial airborne chemicals. *Toxicol. Lett.* 9, 1981,137-143

21.

De Ceaurriz J. C., Gagnaire F., Ban M., Bonnet P. Assessment of the relative hazard involved with airborne irritants with additional hepatotoxic or nephrotoxic properties in mice. *J. Appl. Toxicology* 8, 1988, 417-422.

22.

den Besten C., Vet J. J. R. M., Besselink H. T., Kiel G. S., van Berkel B. J. M., Beems R. and van Bladeren P. J. The Liver, Kidney, and Thyroid Toxicity of Chlorinated Benzenes. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 1991, 111: 69-81.

23.

Deichmann, W.B. (1981) Halogenated cyclic hydrocarbons. In: Clayton, G.D. & Clayton, F.E, eds., *Patty's Industrial Hygiene and Toxicology*, 1981, 3rd ed., Vol. 2B, 3611-3617.

24.

DFG Deutsche Forschungsgemeinschaft. Analysen in biologischem Material. Analytische Methoden zur Prüfung gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe. Band 2, 10. Lieferung 1991. Verlagsgesellschaft mbH, Weinheim 1991.

25.

DFG Deutsche Forschungsgemeinschaft. MAK- und BAT-Werte-Liste 1995. Senatskommission zur Prüfung gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe. VCH Verlagsgesellschaft mbH, Weinheim 1995.

26.

DFG Deutsche Forschungsgemeinschaft. Gesundheitsschädliche Arbeitsstoffe. Henschler D. [Hrsg.]. *Toxikologisch-arbeitsmedizinische Begründung von MAK-Werten.*, Weinheim; VCH 1991.

27.

DFG Deutsche Forschungsgemeinschaft. Luftanalysen: Analytische Methoden zur Prüfung gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe, Band 1/2: 1,2 und 1,4 Dichlorbenzol, Verlag Chemie Weinheim, 3. Lieferung, Ausgabe 1982.

28.

DFG German Science Foundation, Analyses of hazardous substances in biological materials, Chlorbenzenes, Knecht, U., Weinheim, VCH Volume 1, 1985.

29.

DFG Deutsche Forschungsgemeinschaft. The MAK-Collection for occupational health and safety. Volume 10, 3,4 and 4,5-Dichlorcatechol, Part IV: Biomonitoring Methods. Knecht, U., Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, 2006.

30.

Downing J. G. Dermatitis from orthodichlorobenzene. *J. Am. Med. Assoc.* 1939, 112: 1457.

31.

Dura G., Krasovski G. N., Zholdakova Z. I., Mayer G. Prediction of toxicity using quantitative structure-activity relationships. Arch. Toxicol. Suppl. 1985, 8: 481-487.

32.

Eida K., Hasumi F., Nishimura N., Kikutani M. Harderian gland. VI. Effect of chlorinated benzenes on porphyrin biosynthesis in the harderian gland of rat. Chem. Pharm. Bull. 1977, 25: 1209-1214.

33.

Elkins I., Pagnotto L. D., Smith, H. I. Concentration adjustment in urine analysis. Am. Ind. Hyg. Ass. J. 1974, 35: 559-565

34.

Elsner, G. Handbuch Arbeitsmedizin. VSA-Verlag, Hamburg, 1988

35.

Fiserova-Bergerova V. and Diaz M. L. Determination and prediction of tissue-gas partition coefficients. Int. Arch. Occup. Environ. Health, 1986, 58: 75-87.

36.

Fisher R., Barr J., Zukoski C. F., Putnam C. W., Sipes G., Gandolfi A. J. and Brendel K. In-Vitro Hepatotoxicity of Three Dichlorobenzene Isomers in Human Liver Slices. Human & Experimental Toxicology, 1991, 10: 357-363.

37.

Fisher R. L., Gandolfi A. J., Sipes G., and Brendel K. Culture Medium Composition Affects the Relative Toxicities of Chlorobenzenes in Rat Liver Slices and the Isolated Perfused Liver. Drug and Chemical Toxicology, 1993, 16(4): 321-339.

38.

Fisher R., McCarthy S., Sipes I. G., Hanzlik R. P. and Brendel K. Metabolism of Dichlorobenzenes in Organ Cultured Liver Slices. Biological Reactive Intermediates IV, New York 1990: 717-723

39.

Fisher R., Smith P. F., Sipes G., Gandolfi A. J., Krumdieck C. L. and Brendel K. Toxicity of Chlorobenzenes in Cultured Rat Liver Slices. In Vitro Toxicology. A Journal of Molecular and Cellular Toxicology, 1990, Vol. 3, No. 2: 181-194.

40.

Florian, Franz, Zerlett. Handbuch Betriebsärztlicher Dienst, ecomed-Verlag, Landsberg (1989).

41.

Forster B. Praxis der Rechtsmedizin für Mediziner und Juristen. Thieme Verlag; Stuttgart 1986.

42.

Grimm A. F., Standardisierte i-Propylbenzol-Exposition zur Evaluierung eines biologischen Arbeitsstoff-Toleranzwertes. Inaugural-Dissertation zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin des Fachbereichs Humanmedizin der Justus-Liebig Universität Gießen, Gießen 2000.

43.

Gunawardhana L., Mobley S. A. and Sipes G. Modulation of 1,2-Dichlorobenzene Hepatotoxicity in the Fischer-344 Rat by a Scavenger of Superoxide Anions and an Inhibitor of Kupffer Cells. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 1993, 119: 205-213.

44.

Herren-Freund S. L., Pereira M. A. Carcinogenicity of by-products of disinfection in mouse and rat liver. *Environ. Health Perspect.* 1986, 69: 59-65.

45.

Hissink A. M., Oudsdorn M. J., van Ommen B., Hamen G. R., van Bladeren P. J. Differences in Cytochrome P450-Mediated Biotransformation of 1,2-DCB by Rat and Man: Implications for Human Risk Assessment. *Chem. Res. Toxicol.*, 1996, 9(8): 1249-1256.

46.

Hissink A. M., van Ommen B., Kruse J., van Bladeren P. J. A Physiologically Based Pharmacokinetic (PB-PK) Modell for 1,2-Dichlorobenzene Linked to Two Possible Parameters of Toxicity. *Oxicol. Appl. Pharmacol.*, 1997, 145(2): 301-310.

47.

Hollingsworth R. L., Rowe V. K., Oyen F., Torkelsen T. R. and Adams E. M. Toxicity of o-Dichlorobenzene. *Studies on Animals and Industrial Experience. Arch. Ind. Health*, 1958, 17: 180-187.

48.

Hughes C. S., Leder A., Kamatari O. Chlorobenzenes. *Chemical Economics Handbook*. SRI International, Menlo Park, California 1986.

49.

Jacobs A., Blangetti M., Hellmund E. *Vom Wasser*. 1974, 43: 259.

50.

Kato Y., Kogure T., Sato M. and Kimura R. Effects of Chlorobenzenes and Their Methyl Sulfone Metabolites on Microsomal Enzymes Associated with Drug Metabolism in Rat Liver. *J. Pharmacobio-Dyn.*, 1988, 11: 758-762.

51.

Kitamura S., Sumino K., Mio T. Metabolic pathway of chlorobenzenes, *Iyo Masu Kenkyukai Koenshu*, 1977, 2: 79-88.

52.

Knecht, U., C. Otto, C. Woitowitz, H. J. Wirkung von Ethanol auf den n-Hexanabbau. Bericht über die 29. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Arbeitsmedizin, 329-330, Gentner Verlag Stuttgart, 1989

53.

Knecht, U. Solvent exposure and alcohol consumption at the workplace – An influence on the risk assessment by biological monitoring. Scientific Conference: "Actual Questions of Occupational Pathology", 18-20.12.1990, Riga, UdSSR. Kurzfassung in: Izmerov, N. Pankova, V. (eds.), Conference Proceedings, Issue 42, Vol. 3, Riga 1990, S. 4-5.

54.

Knecht, U., Ulshöfer, A. Biomonitoring nach iso-Propylbenzol-Einwirkung. Bericht über die 36. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Arbeitsmedizin. S. 225-227, Gentner Verlag Stuttgart, 1996

55.

Knecht, U. Standardized examinations on the percutaneous absorption of solvents via gas-phase, Example: Styrene; 3<sup>rd</sup> International conference: Global Safety; Proceedings; Bled, Slovenien; 22.-24.06.1998

56.

Knecht, U.; Südmeyer, L., Voitowitz, H. J. The influence of physical activity on the conception of the MAK and BAT values; Eur. J. Oncol. 4 (1999), 599-602

57.

Knecht, U., Voitowitz, H.J. Human toxicokinetics of inhaled monochlorobenzene: latest experimental findings regarding re-evaluation of the biological tolerance value; Int. Arch. Occup. Environ. Health; 73 (2000) 507-518

58.

Knecht, U., Reske, A., Voitowitz, H. J. Biological monitoring of standardized exposure to ethylbenzene: evaluation of a biological tolerance (BAT) value, Arch. Toxicol.; 73 (2000) 632-640

59.

Korn M., Gfrörer W. Saure oder enzymatische Hydrolyse, Ein Beitrag zur Diskussion am Beispiel des Phenylglucuronids. Arbeitsmedizin und Umweltmedizin. Erkrankungen durch Lösungsmittelgemische. Dokumentationsband über die Verhandlungen der Deutschen Gesellschaft für Arbeitsmedizin und Umweltmedizin e.V. 33. Jahrestagung in Wiesbaden. Triebig G., Stelzer O. [Hrsg.]. Gertner Verlag Stuttgart 1993.

60.

Korn M., Podsiadlik E., Gfrörer W. Gas chromatographic determination of styrene in alveolar air-sampling technique, calibration, and injection mode. Institut für Arbeits- und Sozialmedizin der Universität Tübingen, Wilhelmstr. 27, D-W-7400 Tübingen, Germany.

61.

Krieger H. G., Voitowitz H-J. Erkrankungen der Atemwege und Lungen durch chemische Substanzen. Medizinische Welt 1990, 41: 834-838

62.

Kühn-Birett. Merkblätter Gefährliche Arbeitstoffe-49. ErG-Lfg. 6/90-D22-1.

63.

Kumagai S., Matsunaga I. Identification of urinary metabolites of human subjects exposed to o-dichlorobenzen. Int. Arch. Occup. Environ Health, 1995, 67: 207-209.

64.

Lapare S., Tardif R. and Brodeur J. Effects of various exposure scenarios on the biological monitoring of organic solvents in alveolar air. Int. Arch. Occup. Environ. Health, 1993, 64: 569-580.

65.

Lewalter J., Wimber M. Phenole, substituierte Phenole und Polyphenol. Nachtrag zur Sitzung des Arbeitskreises "Analysen in biologischem Material" der DFG Arbeitsstoffkommission vom 5. und 6. Mai 1992. Analytische Methoden Analysen in biologischem Material., Bd. 2, 1992.

66.

Mes J., Davies D. J., Turton D. and Sun W. -F. Levels and trends of chlorinated hydrocarbon contaminants in the breast milk of Canadian women. Food Addit. Contam. 1986, 3(4): 313-322.

67.

Mölders W., Volmer A., Behling K., Nölle D., Siadak K-H. W., Kammerer W. und Meyer-Falcke A. Alkoholproblematik am Arbeitsplatz. Verhandlungen der Deutschen Gesellschaft für Arbeitsmedizin e.V. 19. Jahrestagung, Münster, 2.-5. Mai 1979. Stuttgart; Gentner-Verlag 1979, 117-127.

68.

Mohtashampur E., Triebel R., Straeter H. and Norpoth K. The bone marrow clastogenicity of eight halogenated benzenes in male NMRI mice. Mutagenesis, 1987, vol. 2, No. 2: 111-113.

69.

Mueller B. Gerichtliche Medizin. Springer Verlag, Berlin, 1975.

70.

Murakami M., Fukami J. Relationship between specific molecular connectivity indices and teratogenicity, carcinogenicity, and mutagenicity of chlorinated benzenes and a biphenyl. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 1986, 37: 633-637.

71.

Norpoth K. Einführung in die Arbeitsmedizin-Leitfaden für Studium und Praxis, ecomed Verlag, Landsberg 1991

72.

Norpoth K., Heger M. Kreatinin als Bezugsgröße bei der Angabe von Stoffkonzentrationen im Harn. Grenzwerte in biologischem Material 1984.

73.

Pagano G., Cipollaro M., Corsale G. Esposito A., Giordano G. G., Ragucci E. and Trieff N. Comparative Toxicities of Benzene, Chlorobenzene, and Dichlorobenzenes to Sea Urchin Embryos and Sperms. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 1988, 40: 481-488.

74.

Parke D. V. and Williams R. T. Studies in Detoxikation. The Metabolism of Halogenobenzenes. (a) Meta-Dichlorobenzene. (b) Further Observations on the Metabolism of Chlorobenzene. *Biochem. J.* 1955, 59 (3): 415-422.

75.

Perocco P., Bolognesi S. and Alberghini W. Toxic Activity of Seventeen Industrial Solvents and Halogenated Compounds on Human Lymphocytes Cultured In Vitro. *Toxicology Letters*, 1983, 16: 69-75.

76.

Pryde D. E. Is it appropriate to adjust the results of urine analyses for concentration-dilution effects? *Int. Workshop on Biological Indicators on Cadmium Exposure Diagnostik and Analytical Reliability*, Luxemburg, 7-9 July 1982. Commission of the European Communities, Directorate-General Employment, Social Affairs and Education.

77.

Reid W. D., Ilett K. F., Glick J. M., Krishna G. Metabolism and binding of aromatic hydrocarbons in the lung. Relationship to experimental bronciolar necrosis. *Amer. Rev. Resp. Div.* 1973a, 107: 539-551.

78.

Reid W. D. and Krishna G. Centrolobular Hepatic Necrosis Related to Covalent Binding of Metabolites of Halogenated Aromatic Hydrocarbons. *Experimental and Molecular Pathology*, 1973, 18: 80-99.

79.

Reske A. D., *Biologisches Monitoring nach standardisierter Ethylbenzol-Einwirkung. Untersuchung zur Evaluierung eines biologischen Arbeitsstoff-Toleranz-Wertes. Inaugural-Dissertation zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin des Fachbereichs Humanmedizin der Justus-Liebig Universität Gießen, Gießen 1996.*

80.

Reustle J. A. and Scribner H. E. o-Dichlorobenzene; Myelotoxicity and cytogenetic study in rats. *Bericht des Toxicology Department der Rohm and Haas Company, Spring House, Pennsylvania.* 1979, EPA/OTS Doc. No. 878212182:1-71.

81.

Richtlinie der Bundesärztekammer zur Qualitätssicherung quantitativer laboratoriumsmedizinischer Untersuchungen. *Bundesärztekammer. Dt. Ärztebl.* 100, A3335-A3338 (2003).

82.

Riedel H. Einige Beobachtungen über o-Dichlorbenzol. Arch. Gewerbepath. Gewerbehyg. 1941, 10: 546-549.

83.

Robinson M., Bercz J. P., Ringhand H. P., Condie L. W., Parnell M. J. Ten- and ninety-day toxicity studies of 1,2-dichlorobenzene administered by oral gavage to Sprague-Dawley Rats. Drug and Chemical Toxicology, 1991, 14 (1&2): 83-112.

84.

Sandmeyer E. E. Aromatic Hydrocarbons. In: Clayton G. D. and Clayton F. E. (Editors): Patty's Industrial Hygiene and Toxicology, Third Revised Edition 1981. Vol. 2B Toxicology, Chapter 47: 3253-3431.

85.

Sato A. and Nakajima T. Partition coefficients of some aromatic hydrocarbons and ketones in water, blood and oil. British Journal of Industrial Medicine, 1979, 36: 231-234.

86.

Schütz H. Alkohol im Blut. Nachweis und Bestimmung, Umwandlung, Berechnung. Weinheim, Deerfield Beach (Florida), Basel; Verlag Chemie GmbH 1983.

87.

Sherwood R. J. Ostwald solubility coefficients of some industrially important substances. British Journal of Industrial Medicine, 1976, 33: 106-107.

88.

Siedel J., Möllering H., Ziegenhorn J. Kinetische Bestimmung von Kreatinin nach dem fixed-time-Verfahren. Clin. Chem. 1984 (AACC-Meeting-Abstract), 30: 968.

89.

Stine E. R., Gunawardhana L. and Sipes I. G. The Acute Hepatotoxicity of the Isomers of Dichlorobenzene in Fischer-344 and Sprague-Dawley Rats: Isomer-Specific and Strain-Specific Differential Toxicity. Toxicology And Applied Pharmacology, 1991, 109: 472-481.

90.

Szadkowski D., Jörgensen A., Essing H. -G., Schaller k. H. Die Kreatinineliminationsrate als Bezugsgröße für Analysen aus Harnproben. Zschr. Klein. Chem., 1970, 8: 529-533.

91.

Tsuda S., Rosenberg A. and Nakatsugawa T. Translobular Uptake Patterns of Environmental Toxicants in the Rat Liver. Bull. Environ. Contam. Toxicol., 1988, 40: 410-417.

92.

Ulich H. f. W., Biologisches Monitoring anhand von Leitkompetenten nach standardisierten Expositionen gegenüber einem aromatischen Kohlenwasserstoffgemisch. Inaugural-Dissertation zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin des Fachbereichs Humanmedizin der Justus-Liebig Universität Gießen, Gießen 2006.

93.

Valentin H., Lehnert G., Petry H., Weber G., Wittgens H., Weitowitz H. J. Arbeitsmedizin. Georg Thieme Verlag, Stuttgart New York, 1985.

94.

Valentovic M., Ball J. G., Anestis D. and Madan E. Acute Hepatic and Renal Toxicity of Dichlorobenzene Isomers in Fischer 344 Rats. Journal of Applied Toxicology, 1993, 13(1): 1-7.

95.

Valentovic M., Ball J. G., Anestis D. and Madan E. Modification of P-450 activity and its effect on 1,2-dichlorobenzene toxicity in Fischer 344 rats. Toxicology 1993, 79: 169-180.

96.

Varshavskaya S. R. Comparative toxicological characteristics of chlorobenzene and dichlorobenzene (ortho- and para-isomers) in relation to the sanitary protection of waterbodies. Hyg. Sanit. 1968, 33 (10): 17-23.

97.

Waldmann H. Die gaschromatographische Bestimmung von Phenolen im Wasser. GIT Spezial, 1993, 2: 58-59.

98.

Wallace L. A. Personal exposures, indoor and outdoor air concentrations and exhaled breath concentrations of selected volatile organic compounds measured for 600 residents of New Jersey, North Dakota, North Carolina and California. Toxicol. Environ. Chem. 1986, 12 (3-4): 215-236.

99.

Wardenbach P. und Lehmann E. MAK-Wert, Bedeutung und Anwendung in der Praxis. In: Schriftenreihe der Bundesanstalt für Arbeitsschutz-Gefährliche Arbeitsstoffe-GA 12, 2. Auflage, Dortmund 1985.

100.

Ware S., West W. L. Investigation of Selected Potential Environmental Contaminants: Halogenated Benzenes. National Technical Information Service, Springfield VA, 1977, EPA 560/2-77-004, NTIS Pub. No. PB- 273-206.

101.

WHO-working-group. Chlorobenzenes other than hexachlorobenzene. Environmental Health Criteria 128, Geneva, 1991, 226.

102.

Will W. Phenole. Veröffentlichung der Abt. Arbeitsmedizin und Gesundheitsschutz der BASF Aktiengesellschaft, 12.05.1993/ phen-1; DOA-H 306.

103.

Woitowitz H. J. Biological Monitoring in der Betriebsärztlichen Praxis. Handbuch Betriebsärztlicher Dienst. Florian, Franz, Zerlett [Hrsg.], Ecomed Verlagsgesellschaft, Landsberg am Lech, IV 2.20.1 3/89: 1-24.

104.

Woitowitz H. J., Valentin H. und Krieger H. g. Obstruktive Atemwegserkrankungen durch chemisch irritativ oder toxisch wirkende Stoffe. Prax. Pneumol. 1979, 33: 1161-1167.

105.

Zenser, L. P.; Lang, A.; Knecht, U. N-Acetyl-S-(dichlorphenyl)cysteines as suitable biomarkers for the monitoring of occupational exposure to 1,2-dichlorbenzene, Int. Arch. Occup. Environ Health, 69 (1997), 252-254

106.

Ziegler H. Alkoholismus am Arbeitsplatz. In: Konietzko J. und Dupius H. [Hrsg.]: Handbuch der Arbeitsmedizin. Ecomed, Landsberg; 1989, IV-10.11:1-10.

## **Danksagung**

Mein besonderer Dank gilt Herrn Priv.- Doz. Dr. rer. nat. Dr. biol. hom. Udo Knecht für die Bereitstellung des Themas, die Unterstützung der Arbeit, die wertvolle Diskussion der Ergebnisse und das stets motivierende Interesse.

Posthum danke ich Herrn J. Nitsch, der mich in die arbeitsmedizinisch-toxikologischen Analysenmethoden eingewiesen hat.

Mein Dank gilt ferner allen Probanden, die sich für die Expositionsversuche zur Verfügung stellten.

## Lebenslauf

### Persönliche Daten

Name Mahboobeh Dashti-Ardakani  
Geburtsdatum 22.06.1969  
Geburtsort Teheran

### Schulausbildung

1975-1988 Grundschule und Gymnasium  
1988 Abitur

### Hochschulausbildung

1988-1995 Chemie Studium an der T.U. Scharif in Teheran/Iran  
Abschluss: Diplom Chemikerin

1995-2000 Wissenschaftliche Mitarbeiterin bei R&D Department von  
NPC (National Petrochemical Company of Iran)

2000-2004 Wissenschaftliche Mitarbeiterin am Institut für  
Anorganische und Analytische Chemie der Justus-Liebig  
Universität Gießen und am Institut für Anorganische  
Chemie der Rheinische Friedrich Wilhelm Universität Bonn

Seit 2004 Wissenschaftliche Mitarbeiterin am Institut und der  
Poliklinik für Arbeit- und Sozialmedizin der Justus-Liebig-  
Universität Gießen, chemisch-toxikologisches Labor,  
Beginn der zweiten Promotionsarbeit

15.12.2005 1. Promotion an der Justus-Liebig Universität Gießen,  
Fachbereich Chemie mit dem Titel: Kristalline und  
amorphe Phasen im System der P-Zeolithe mit Gismondin  
Gerüst

29.11.2007 2. Promotion an der Justus-Liebig Universität Gießen,  
Fachbereich Medizin mit dem Titel: Human-experimentelle  
Untersuchungen zur Toxikokinetik von 1,2-Dichlorbenzol  
nach standardisierten Expositionen