

The MAK Collection for Occupational Health and Safety

Furan

MAK-Begründung, Nachtrag

A. Hartwig^{1,*}, MAK Commission^{2,*}

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

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

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

Keywords: Furan; MAK-Wert; maximale Arbeitsplatzkonzentration; Kanzerogenität; cholangiozelluläres Karzinom; Toxizität; Gallengang; Leber; Entzündung; Hautresorption

Citation Note: Hartwig A, MAK Commission. Furan. MAK-Begründung, Nachtrag. MAK Collect Occup Health Saf [Original-Ausgabe. Weinheim: Wiley-VCH; 2017 Mai;2(2):577-618]. Korrigierte Neuveröffentlichung ohne inhaltliche Bearbeitung. Düsseldorf: German Medical Science; 2026. https://doi.org/10.34865/mb11000d0063_w

Neuveröffentlichung (Online): 07 Aug 2026

Vormals erschienen bei Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA; <https://doi.org/10.1002/3527600418.mb11000d0063>

Addendum abgeschlossen: 24 Feb 2016

Erstveröffentlichung (Online): 31 Mai 2017

Zur Vermeidung von Interessenkonflikten hat die Kommission *Regelungen und Maßnahmen* etabliert.



Dieses Werk ist lizenziert unter einer
Creative Commons Namensnennung 4.0 International Lizenz.

Furan

MAK Value Documentation in German language

A. Hartwig^{1,*}, MAK Commission^{2,*}

DOI: 10.1002/3527600418.mb11000d0063

Abstract

The German Commission for the Investigation of Health Hazards of Chemical Compounds in the Work Area has re-evaluated furan [110-00-9]. All toxicity endpoints have been considered and publications are described in detail.

Genotoxicity data show only a secondary genotoxic effect at high doses and no effect at low doses. Therefore, furan is classified as a primary non-genotoxic carcinogen. As a maximum concentration at the workplace (MAK value) can be derived from available studies, furan was reclassified from Category 2 into Category 4 for carcinogens.

There are no long-term inhalation studies available to derive a MAK value. In a 13-week study with rats, subcapsular inflammation and apoptosis in the liver of unclear relevance for humans were observed at 0.12 mg/kg body weight/day with a NOAEL of 0.03 mg/kg body weight/day. These may be adaptive effects and were not observed in a two-year study or its interim investigations. A physiologically based pharmacokinetic model predicted the burden in human livers to be about three-fold lower compared with rats. The NOAEL of 0.03 mg/kg body weight/day was scaled to a concentration at the workplace and a MAK value of 0.02 ml/m³ was derived, also taking into account the lower liver dose in humans.

The MAK value was derived from a systemic NOAEL; therefore, furan is classified in Peak Limitation Category II with the default excursion factor of 2 as sufficient toxicokinetic data are not available, especially for the reactive metabolite cis-2-butene-1,4-diol.

Model calculations show that dermal absorption would contribute substantially to the systemic toxicity and furan continues to be designated with an „H“.

Because there are no studies on developmental toxicity, furan is assigned to Pregnancy Risk Group D.

There are no data on sensitization.

Keywords

Furan; Divinylnoxid; 1,4-Epoxy-1,3-butadien; Furfuran; Oxacyclopentadien; Wirkungsmechanismus; Toxikokinetik; Metabolismus; (sub)akute Toxizität; (sub)chronische Toxizität; Reproduktionstoxizität; Genotoxizität; Kanzerogenität; Spitzenbegrenzung; fruchtschädigende Wirkung; krebserzeugende Wirkung; keimzellmutagene Wirkung; Hautresorption; sensibilisierende Wirkung; Arbeitsstoff; maximale Arbeitsplatzkonzentration; MAK-Wert; Toxizität; Gefahrstoff

Author Information

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

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

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

Furan

[110-00-9]

Nachtrag 2017

MAK-Wert (2016)	0,02 ml/m³ $\triangleq$ 0,056 mg/m³
Spitzenbegrenzung (2016)	Kategorie II, Überschreitungsfaktor 2
Hautresorption (2005)	H
Sensibilisierende Wirkung	–
Krebserzeugende Wirkung (2016)	Kategorie 4
Fruchtschädigende Wirkung (2016)	Gruppe D
Keimzellmutagene Wirkung	–
BAT-Wert	–
Molmasse	68,08 g/mol
Schmelzpunkt	–85,6°C (ECHA 2015)
Siedepunkt bei 1013 hPa	31,5°C (ECHA 2015)
Dichte bei 20°C	0,95 g/cm ³ (ECHA 2015)
Dampfdruck bei 25°C	798 oder 860 hPa (ECHA 2015)
log K _{OW}	1,34 (ECHA 2015)
Löslichkeit bei 25°C	10 g/l Wasser (ECHA 2015)
1 ml/m³ (ppm) $\triangleq$ 2,825 mg/m³	1 mg/m³ $\triangleq$ 0,354 ml/m³ (ppm)

Es liegt eine Begründung aus dem Jahr 2006 vor. Furan wurde mit „H“ markiert und in die Kategorie 2 für Kanzerogene eingestuft, da es bei Ratten und Mäusen in oralen 2-Jahre-Studien ab der niedrigsten eingesetzten Dosierung zu Leberadenomen und -karzinomen und bei Ratten zu Gallengangskarzinomen führte. Nun liegen Studien mit Dosierungen ohne Effekt vor, sodass die Ableitung eines MAK-Wertes geprüft wird.

Furan ist in Nahrungsmitteln enthalten, die mit Hitze hergestellt wurden, z. B. in eingemachtem Fleisch und Gemüse, Gemüsesäften, Suppen, Brot und aufgebrühtem Kaffee. Die durchschnittliche tägliche Aufnahme eines Europäers wurde von

der WHO mit 0,27–1,17 µg/kg KG angegeben, kann aber auch bis 2,2 µg/kg KG betragen, wenn z. B. viel Kaffee konsumiert wird (Churchwell et al. 2015).

1 Allgemeiner Wirkungscharakter

Daten, die seit der Begründung von 2006 veröffentlicht worden sind, bestätigen den bereits beschriebenen Wirkungscharakter von Furan. Furan wirkt nach oraler Gabe bei Ratten und Mäusen vor allem an der Leber kanzerogen, wobei erst bei zytotoxischen Konzentrationen sekundäre Genotoxizität auftritt. Bei F344-Ratten tritt bei 13-wöchiger Schlundsondengabe ab 0,12 mg/kg KG und Tag Apoptose von Hepatozyten auf. In einer 2-Jahre-Schlundsondenstudie mit männlichen F344-Ratten wird ab 0,2 mg/kg KG und Tag bei 76% der Tiere Cholangiofibrose beobachtet, bei der Dosis von 0,092 mg/kg KG und Tag ist eines von 100 Tieren betroffen. Bei Mäusen treten nach 13-wöchiger Schlundsondengabe ab 0,5 mg Furan/kg KG und Tag Läsionen in den Leberläppchen auf. Furan wird in der Leber vor allem durch CYP2E1 metabolisiert. Als reaktiver Metabolit entsteht das cis-2-Buten-1,4-dial, das erst bei höheren Furan-Dosierungen zur toxischen Wirkung in der Leber beiträgt. Inhalationsstudien fehlen.

2 Wirkungsmechanismus

In der Begründung von 2006 wird die tumorpromovierende Wirkung als Hauptursache der kanzerogenen Wirkung von Furan angesehen. Diese wird durch Zytotoxizität, v. a. durch eine Entkopplung der oxidativen Phosphorylierung (Mitochondrien-Toxizität) und der damit verminderten Adenosin-Triphosphat (ATP)-Bildung, wahrscheinlich durch den Metaboliten cis-2-Buten-1,4-dial, ausgelöst, die zu einer Apoptose führt. Bei höheren Dosierungen entstehen durch unspezifische Reaktionen Nekrosen. Da Hepatozyten eine Abnahme an ATP bis zu 95% überleben können, wird als zusätzliche Wirkung eine fehlerhafte Reparatur von DNA-Brüchen oder die Manifestation von Schäden durch erhöhte Proliferation und den Umbau von Lebergewebe vermutet.

Seither sind neue Untersuchungen durchgeführt worden, die im Folgenden beschrieben werden (siehe auch Tabelle 1).

Lebertoxizität

Bei der Schlundsondengabe von Furan an F344-Ratten kam es bei 26-wöchiger Exposition ab 4,4 mg/kg KG und Tag und bei einjähriger Gabe ab 0,92 mg/kg KG und Tag zu epigenetischen Veränderungen in der Leber, die möglicherweise die Zellzykluskontrolle beeinträchtigten (siehe Tabelle 1). Es wurde eher ein nicht-genotoxischer Mechanismus durch Zytotoxizität, Entzündung, oxidativen Stress, Demethylierung der Leber-DNA und erhöhte Zellproliferation als Ursache der kanzerogenen Wirkung verantwortlich gemacht (De Conti et al. 2014).

Ratten erhielten mit der Schlundsonde über einen Zeitraum von einem Tag bis zu 3 Monaten 30 mg Furan/kg KG und Tag verabreicht, um die zeitabhängigen Veränderungen in der Leber zu untersuchen (siehe Tabelle 1). In den Leberläppchen wurde in Abhängigkeit von der Größe des Schadens um die Zentralvene eine schnelle Proliferation von Hepatozyten oder bei ausgedehntem Schadensareal bis zum Periportalfeld auch der gallengangsbildenden Zellen beobachtet. Letztere dehnten sich in das Parenchym aus und waren von Leberfibroblasten begleitet (Hickling et al. 2010 b). Die gallengangsbildenden Zellen differenzierten entweder unter dem Verlust der assoziierten Fibroblasten zu Hepatozyten oder zu gewundenen Kanalstrukturen, die das Parenchym ersetzten und zu Cholangiofibrose führten. Letzteres trat besonders in den Regionen der Leberläppchen auf, die zu Behandlungsbeginn komplett zerstört wurden. Der zugrundeliegende Mechanismus für die Differenzierungsrichtung war unklar. Vermutet wurde eine irreversible Störung des Reparatursystems der hepatozellulären Stammzellen (Hickling et al. 2010 a, b). Da in den regenerativ gebildeten Hepatozyten bei gleichbleibender Exposition gegen Furan die Expression von CYP2E1 wesentlich geringer war, waren diese deutlich resistenter, wodurch die kompensatorische Proliferation abnahm. Entzündungen hingegen blieben an den betroffenen Stellen der Leberlappen auch nach Beendigung der Furan-Exposition bestehen, wodurch oxidativer Stress im umgebenden Gewebe ausgelöst wurde. Die kanzerogene Wirkung von Furan wurde in einer Mischung verschiedener Wirkungen gesehen. Dazu zählten Zytotoxizität, chronische indirekte DNA-Schädigungen durch Sauerstoffradikale, Fixierung der DNA-Schäden in Mutationen durch anhaltende Proliferation und Veränderungen der Genexpression in der Zellzykluskontrolle (Hickling et al. 2010 b).

Eine Untersuchung an weiblichen B6C3F1-Mäusen, denen 3 Wochen oder 2 Jahre lang oral Furan verabreicht wurde, zeigte, dass eine zytotoxische Wirkung in der Leber alleine nicht zur Tumorentstehung führte. Die Dosierungen von 1 und 2 mg/kg KG und Tag wirkten zytotoxisch in der Leber, führten jedoch nicht zur Tumorbildung. Die Dosierungen von 4 und 8 mg/kg KG und Tag verursachten Hepatotoxizität und kompensatorische Zellproliferation, wodurch Foci veränderter Hepatozyten, hepatozelluläre Adenome und bei 8 mg/kg KG und Tag auch hepatozelluläre Karzinome auftraten (Moser et al. 2009).

Mechanistische Untersuchungen an Ratten, denen bis zu 3 Monate lang Furan mit der Schlundsonde verabreicht wurde, zeigten ein mit zunehmender Zeit bei niedrigeren Dosierungen auftretendes verändertes Gen-Expressionsmuster (Cooke et al. 2014; Hickling et al. 2010 a, b).

Bei hepatozellulären Karzinomen waren bei Mensch und Nager die Tumor-Suppressorgene *Cdh1*, *p16^{INK4}* und *Rassf1a* häufig durch Methylierung ausgeschaltet. In einer Untersuchung an Ratten mit oraler Gabe von bis zu 4,4 mg Furan/kg KG und Tag über einen Zeitraum von 13, 26 oder 53 Wochen waren *p16^{INK4}* und *Rassf1a* dosis- und zeitabhängig methyliert (De Conti et al. 2014).

Tab. 1 Mechanistische Untersuchungen zur Lebertoxizität nach wiederholter oraler Verabreichung von Furan

Spezies, Stamm, Anzahl pro Gruppe	Exposition	Befunde	Literatur
Ratte, Sprague Dawley, 5 ♂	1 Tag, 1 Monat, 3 Monate, 3 Monate mit einem Monat Erholungszeit, 0, 30 mg/kg KG u. Tag, 5 d/w, in Maiskeimöl, Reinheit >99%, Schlundsonde	nur Leber untersucht, Untersuchungen aller Leberlappen, Immunocytochemie mit je 3 Tieren/Gruppe, Kontrolltiere nach 1. Tag, 1. Monat, 3 Monaten, Pathologie 7. Tag: Leber bleich mit Schwellungen und Verdrehungen des caudalen und rechten vorderen Leberlappens, bis zum 10. und 12. Tag zunehmend, zusätzlich Noduli, am 20. Tag, z. T. Fusion der beiden Leberlappen, nach 3 Monaten: alle Leberlappen bleich, geschwollen mit Noduli und veränderter Struktur, Histopathologie/Immunozytologie 8 h: in zentrilobulärer und subkapsulärer Region aller Leberläppchen: Vakuolisierung, Chromatin-Aggregation, Karyorhexis, Karyolyse → Nekrose und Apoptose, 24 h: bei subkapsulärer und zentrilobulärer Nekrose Einstrom von Entzündungszellen, 3 d: meiste Nekrosen, Entzündungen, Fibronektin-Ablagerungen in zentrilobulärer Region wieder aufgelöst, durch Proliferation gebildete Hepatozyten ersetzen zentrilobuläres Parenchym, überlebende Hepatozyten proliferieren, vorher weitgehend zerstörte portale Bereiche: Proliferation OV-6 positiver gangbildender Hepatozyten, 7 d: proliferierende gangbildende Hepatozyten in Parenchym ausgedehnt, 12 d: neue gangbildende Hepatozyten zeigen typische und atypische Differenzierungen, typische Differenzierung in portalen Bereichen mit Kontakt zu hepatischen Platten, klare Grenze mit Zellen ohne Gallengangsmarker OV-6 u. BD1 u. Cx43, atypische Differenzierungen in vorher weitgehend zerstörten Bereichen zu intestinalen Zellen, 20 d: proliferierende gangbildende Hepatozyten ersetzen großen Teil des Parenchyms in zerstörten Bereichen des rechten und des Spiegelschen Leberlappens, >20 d bis 3 Monate (auch 3 Monate mit 1 Monat Erholungszeit): Cholangiofibrose-Stellen expandieren begleitet von chronischen Entzündungsinfiltraten, Dichte von Cx32-Flecken auf noch verbliebenen intakten Hepatozyten-Inseln nehmen ab und nehmen auch in expositionsfreier Zeit nicht mehr zu	Hickling et al. 2010 a

Tab. 1 (Fortsetzung)

Spezies, Stamm, Anzahl pro Gruppe	Exposition	Befunde	Literatur
Ratte, Sprague Dawley, 5 ♂	1 Tag, 1 Monat, 3 Monate, 3 Monate mit einem Monat Erholungszeit, 0, 30 mg/kg KG u. Tag, 5 d/w, in Maiskeimöl, Reinheit >99%, Schlundsonde	nur Leber untersucht, Immunocytochemie mit je 3 Tieren/Gruppe, Histopathologie: siehe Hickling et al. 2010 a, CYP2E1: bei akuter Toxizität induziert, ab 3. Tag normal, Marker für Zellproliferation und DNA-Schaden: bereits nach akuter Exposition Wildtyp p53, cdk-1 (für Mitose), mdm-2, phospho-c-jun in überlebenden Hepatozyten vorhanden, 8-oxo-dG ↑ in Hepatozyten und gallengangsbildenden Hepatozyten, veränderte Expression von Genen nach 3 Monaten Exposition und 1 Monat Erholungszeit: für zellulären/oxidativen Stress <i>HSP 70</i> , <i>GST</i> , <i>IRF-1</i> , Cytochrom b558; für Zellproliferation u. a. <i>Cyclin E</i> , <i>Annexin II</i> , <i>c-myc</i> ; für Apoptose <i>TB-10</i> , <i>mANT</i> ; für Tumorprogression <i>Carboanhydrase II</i> , <i>TB-10</i> ; für Metastasen hautfettbindendes Protein, S-100	Hickling et al. 2010 b
Ratte, F344, 12 ♂	13 Wochen, 0; 0,03; 0,12; 0,5; 2,0; 8,0 mg/kg KG u. Tag, 5 d/w, Reinheit k. A., Schlundsonde	Untersuchungsumfang: KG; Organgewicht, Histopathologie v. Prostata, Testes, Epididymides, Samenvesikel, Hypophyse; Serum- und intratestikulärer Testosteronspiegel; LH- u. FSH-Serumspiegel; Aktivität von 17-OHase, 3-beta-HSD, 17-beta-HSD, mRNA-Expressionslevel von LH-Rezeptor u. Tsipo, ab 0,03 mg/kg KG: StAR ↑; ab 2 mg/kg KG: Serum-Testosteronspiegel ↑, Serum-LH ↓; 8 mg/kg KG: intratestikulärer Testosteronspiegel ↑, Serum-LH 25% ↓, Cholesterin-Seitenketten-Spaltungsenzym (Cyp11a1) ↑	Cooke et al. 2014

Tab. 1 (Fortsetzung)

Spezies, Stamm, Anzahl pro Gruppe	Exposition	Befunde	Literatur
Ratte, F344/N; 5 ♂, 5 ♀	13 Wochen, 26 Wochen, 1 Jahr, KG u. Tag, 5 d/w, in Maiskeimöl, Reinheit k. A., Schlundsonde	nur Leber untersucht Untersuchungsumfang: Veränderung des Status von globaler DNA-Methylierung, Promotor-Methylierung, Expression von Tumor-Suppressorgenen, Expression von Chromatin-verändernden Genen. 13 Wochen: 4,4 mg/kg KG: <i>Dnmt3b</i> ↓, 26 Wochen: trimethylierte Histone dosisabhängig ↓ (H3K9 u. H4K20), 4,4 mg/kg KG: 4/5 Tieren methyliertes <i>p16^{NK4a}</i> , 5/6 Tieren methyliertes <i>Rassf1a</i> , <i>Dnmt3b</i> ↓, 1 Jahr: trimethylierte Histone dosisabhängig ↓ (H3K9 35%, H4K20 36 %, Histone-Acetyltransferasen dosisabhängig ↓ (<i>Ep300</i> u. <i>Kat2a</i>), 0,92 mg/kg KG: DNA-Methylierung dosisabhängig 30%, 36% bzw. 49% ↓, Tumor-Suppressorgen <i>p16^{NK4a}</i> dosisabhängig hypermethyliert 2,0 mg/kg KG: Tumor-Suppressorgen <i>Rassf1a</i> dosisabhängig hypermethyliert, 4,4 mg/kg KG: <i>Dnmt3a</i> ↓, <i>Dnmt3b</i> ↓, H3K9ac 45% ↓, H3K56ac 32% ↓, Histone-modifizierende Gene <i>Prdm2</i> u. <i>Suv39h1</i> u. <i>Suv4-20h2</i> u. Histone-Methyltransferasen <i>Elmt2</i> ↓, keine Veränderungen bei <i>Cdh1</i> , <i>Dnmt1</i> , trimethylierten Histonen H3K4, H3K27	de Conti et al. 2014

BrdU: 5-Brom-2'-deoxyuridin; Cx32: Connexin 32; FSH: Follikelstimulierendes Hormon; 3-beta-HSD: 3-beta-Hydroxysteroid-Dehydrogenase; 17-beta-HSD: 17-beta-Hydroxysteroid-Dehydrogenase; LH: luteinisierendes Hormon; Li: Labeling Index; 17-OHase: 17-Hydroxylase, C17,20-Lyase; OV-6: spezifischer Antikörper zur Identifizierung von hepatischen- oder gallengangs-Vorläuferzellen; SPF: Specific Pathogen Free; StAR: Steroidogenic Acute Regulatory Protein; Tspo: Translokator-Protein

Genotoxizität

Auch in neueren Untersuchungen wurde die kanzerogene Wirkung von Furan nicht auf eine primäre genotoxische Wirkung in vivo zurückgeführt (Carthew et al. 2010; Chen et al. 2010; Ding et al. 2012; Durling et al. 2007). Es zeigte sich, dass cis-2-Buten-1,4-dial in vivo (Ratten) nicht an DNA bindet, was gegen einen genotoxischen Wirkmechanismus von Furan spricht (Churchwell et al. 2015). Jedoch belegen einige Studien eine durch Furan (reversibel) veränderte Genexpression in der Zellzykluskontrolle und Apoptose nach 4- oder 13-wöchiger oraler Gabe an Ratten (Chen et al. 2010, 2012). Bei Mäusen wurde bei der höchsten Dosierung von 15 mg/kg KG und Tag ein Anstieg an Polyploidien und DNA-Reparaturgenen (Cordelli et al. 2010) beobachtet. Als Auslöser der Wirkung wurde oxidativer Stress gesehen, der von Entzündungen, Zellproliferation und Zytotoxizität begleitet war (Ding et al. 2012), die nicht mit einem veränderten Ausmaß an DNA-Methylierung verknüpft war (Chen et al. 2010; Cordelli et al. 2010). Von den für Zytotoxizität und Proliferation besonders wichtigen Genen waren *Stress-Activated Protein Kinase (SAPK)* und *Death Receptor (DR5, TNF-alpha)*, *Extracellular Signal-Regulated Kinases (ERKs)* und *TNF-alpha* sowie die für eine Leberregeneration relevanten Gene *NF-kappaB* und *c-Jun* aktiviert. Als Master-Gen für oxidativen Stress und chronische Entzündung war *NRF2* besonders aktiviert (Jackson et al. 2014). Als kritisches Ziel werden die Mitochondrien gesehen, deren Energieversorgung durch die irreversible Entkopplung der oxidativen Phosphorylierung durch Furan und ATP-Depletion beeinträchtigt wurde (WHO 2011). Einige Proteine verloren durch kovalente Bindungen und Fehlfaltungen ihre Funktionalität (Moro et al. 2012).

Zusammenfassung

Für die Tumorentstehung lässt sich weiterhin kein einzelner Mechanismus verantwortlich machen. Furan besitzt eine hohe Zytotoxizität, vermutlich durch die Metabolisierung durch CYP2E1 zum cis-2-Buten-1,4-dial, einer sehr reaktiven Substanz, die an Glutathion (GSH), Aminosäuren oder in vitro an DNA bindet, was in vivo nicht nachgewiesen wurde, und auch zu DNA-Crosslinks führen kann. Furan führt zu z. T. irreversibel veränderten Genexpressionen, zu Zytotoxizität, oxidativem Stress und Proliferation. Die orale Gabe von Furan in niedrigen Dosierungen zeigt keine genotoxische Wirkung, im höheren Dosisbereich tritt sekundäre Genotoxizität auf. Auch eine Entkopplung der oxidativen Phosphorylierung und ATP-Depletion in den Mitochondrien wird berichtet. Furan führt zu einer Induktion von CYP2E1 und zu Leberzellschädigung rund um die Zentralvene, gefolgt von Apoptose. Bei geringer Schädigung wird ausgehend von den Hepatozyten Gewebe regeneriert, welches eine deutlich geringere Expression von CYP2E1 aufweist, wodurch im Folgenden eine geringere Menge an cis-2-Buten-1,4-dial gebildet wird. Wenn die durch höhere Furandosierungen geschädigten Areale bis zum Periportalfeld reichen, in dem sich auch gallengangsbildende Zellen befinden, findet eine Geweberegeneration durch Hepatozyten und stark proliferierende gallengangsbildende Zellen statt. Es wird dabei auch die Entstehung von Darmzellen in dem Leberläppchen beobachtet. Die (sub-)chronische Gabe von Furan führt zu einer stetigen Gewebeproliferation, wo-

durch Cholangiofibrose und daraus Cholangiokarzinome und hepatozelluläre Karzinome entstehen.

Inhalationsstudien und damit eine Untersuchung der lokalen Toxizität am Atemtrakt fehlen.

3 Toxikokinetik und Metabolismus

3.1 Aufnahme, Verteilung, Ausscheidung

Die inhalative Retention von Furan bei Hunden war größer als 90% (Begründung von 2006).

Nach einmaliger Schlundsondengabe von ^{14}C -markiertem Furan wurden 14% der Radioaktivität als unverändertes Furan, 26% als CO_2 abgeatmet, 20% mit dem Urin und weitere 22% innerhalb der ersten 24 Stunden mit den Faeces ausgeschieden. Nach 24 Stunden befanden sich von 19% der im Körper verbliebenen Radioaktivität 68% (13% der applizierten Dosis) in der Leber, gebunden an Makromoleküle (Begründung von 2006).

Zur Untersuchung der Serum- und Leber-Toxikokinetik wurde Fischer-344-Ratten mit der Schlundsonde 0,92 mg Furan/kg KG verabreicht und nach 15, 30, 45, 60 und 90 Minuten und 2, 3, 4, 5 und 6 Stunden wurden Blutproben genommen. Die maximale Konzentration von Furan im Blut trat mit 63 ± 17 nM innerhalb der ersten Viertelstunde nach der Applikation auf und nahm dann mit einer Halbwertszeit von 1,3 Stunden ab. Die maximale Furankonzentration in der Leber von 547 ± 993 pmol/g Gewebe wurde 30 Minuten nach Substanzgabe erhalten. Sie war sehr variabel und abhängig von dem Zeitpunkt nach der Furan-Gabe und auch der Lokalisation des untersuchten Leberläppchens. Zwischen den Leberläppchen war die relative Standardabweichung der Furankonzentration 65%, wobei jeweils das gleiche Leberläppchen von vier Tieren untersucht wurde. Die Konzentration in der Leber nahm zweiphasig ab mit Halbwertszeiten von 0,55 und 0,62 Stunden. In Leber und Blut wurde 8 Stunden nach Substanzgabe kein Furan mehr detektiert. Die Fläche unter der Konzentrations-Zeit-Kurve, die bis ins unendliche extrapoliert wurde, betrug für die Leber $772 \text{ pmol/g} \times \text{Stunde}$ und für das Blut $139 \text{ nmol/l} \times \text{Stunde}$. Die Konzentration von Furan in der Leber war zu allen Untersuchungszeitpunkten mit einem mittleren Verhältnis von ca. 6,2 größer als diejenige im Blut (Churchwell et al. 2015).

Da diese Untersuchung mit oraler Applikation durchgeführt wurde, bei der Furan zunächst in die Leber und dann in das systemische Blut gelangt, und somit die Furanbelastung der Leber höher als die im Blut ist, dies nicht im Widerspruch zu der Aussage steht, dass nach Inhalation die Konzentration im Blut ca. das 10-Fache von dem in der Leber beträgt und der Blutfluss in die Leber der geschwindigkeitsbestimmende Schritt ist (Churchwell et al. 2015; Kedderis et al. 1993).

Für eine gesättigte wässrige Lösung berechnen sich mit den Modellen von Fiserova-Bergerova et al. (1990), Guy und Potts (1993) sowie Wilschut et al. (1995) Fluxe von 759, 62 bzw. 101 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ und Stunde. Unter der Annahme einer einstündigen Exposition von 2000 cm^2 Hautoberfläche würde dies Aufnahmemengen von 1518, 124 bzw. 202 mg entsprechen.

3.2 Metabolismus

Mensch

Der erste Schritt des Metabolismus von Furan ist eine Oxidation durch CYP2E1 zu cis-2-Buten-1,4-dial, das vor allem an Thiole, Aminogruppen oder Aminosäuren binden kann. In In-vitro-Untersuchungen war der Metabolismus bei Mensch und Ratte bzw. Maus ähnlich. Nach einem physiologisch basierten pharmakokinetischen (PBPK)-Modell ist der Mensch bei gleicher äußerer Furanexposition gegen 10 ml/m³ pro kg Körpergewicht 3- bis 10-mal geringer mit Furan und dem reaktiven Metaboliten cis-2-Buten-1,4-dial in der Leber belastet als die Ratte bzw. die Maus (Begründung von 2006; Kedderis und Held 1996).

Ratte

Furan wird durch Cytochrom P450 zu cis-2-Buten-1,4-dial oxidiert. Im Urin Furan-behandelter Ratten wurden bereits in anderen Untersuchungen die folgenden Metaboliten nachgewiesen: mono-Glutathion-Butendial-Reaktionsprodukt, zyklisches Sulfid von N-[4-Carboxy-4-(3-mercapto-1H-pyrrol-1-yl)-1-oxobutyl]-L-cysteinylglycin, R-2-Acetyl-amino-6-(2,5-dihydro-2-oxo-1H-pyrrol-1-yl)-1-hexansäure, N-Acetyl-S-[1-(5-acetyl-amino-5-carboxypentyl)-1H-pyrrol-3-yl]-L-cystein und sein Sulfoxid. Um den quantitativen Verlauf der Metabolisierung zu untersuchen, wurden die Metaboliten im 24-Stunden-Urin männlicher F344-Ratten nach einmaliger Schlundsondengabe von 8 oder 40 mg ringmarkiertem Furan/kg KG quantifiziert. Da fast kein N-Acetyl-S-[1-(5-acetyl-amino-5-carboxypentyl)-1H-pyrrol-3-yl]-L-cystein („Endprodukt“ der Reaktion des 2-Buten-1,4-dials mit GSH) im Urin nachgewiesen wurde, wurde gefolgert, dass die anschließende Bindung an nukleophile Makromoleküle oder die direkte Bindung von 2-Buten-1,4-dial an Makromoleküle die Hauptwege in vivo darstellen (Ding et al. 2009; Lu et al. 2009).

Untersuchungen mit Rattenhepatozyten zeigten, dass der Metabolit cis-2-Buten-1,4-dial mit Glutathion reagierte und 2-(S-Glutathionyl)succinaldehyd bildete, das Pyrrol-cross-links mit zellulären Aminen wie Lysin und Glutamin, aber auch mit Ornithin, Putrescin und Spermidin bildet. Im Urin von mit Furan behandelten Ratten wurden Mercaptursäurederivate der Spermidin-cross-links nachgewiesen. Daraus wird gefolgert, dass dieser Metabolismusweg in vivo stattfindet (Peterson et al. 2011).

Drei Gallengangs-kanülierten Ratten wurde einmalig 5 mg [3,4-¹³C]Furan/kg KG verabreicht und die Metaboliten in der Galle wurden vier Stunden lang in 30-Minuten-Fractionen aufgefangen und analysiert. Als Hauptmetaboliten wurden das zyklische Monoglutathion-Konjugat mit cis-2-Buten-1,4-dial, ein N-Acetylcystein-N-acetyllysin-Konjugat und ein Cysteinylglycylglutathion-Konjugat nachgewiesen. Alle diese Metaboliten waren im Urin von exponierten Ratten bereits nachgewiesen worden (Hamberger et al. 2010).

4 Erfahrungen beim Menschen

Hierzu liegen keine Daten vor.

5 Tierexperimentelle Befunde und In-vitro-Untersuchungen

5.1 Akute Toxizität

Zur akuten Wirkung liegen keine neuen Daten vor.

5.2 Subakute, subchronische und chronische Toxizität

5.2.1 Inhalative Aufnahme

Hierzu liegen keine neuen Daten vor. Die in der Begründung von 2006 berichteten älteren Untersuchungen sind unklar beschrieben und können nicht zur Bewertung herangezogen werden.

5.2.2 Orale Aufnahme

Das Haupt-Zielorgan von Furan ist die Leber. In einer 2-Jahre-Studie mit Ratten und Mäusen traten dosisabhängig ab der niedrigsten Dosierung Tumoren in der Leber auf (siehe Abschnitt 5.7; Begründung 2006).

Studien mit wiederholter oraler Gabe von Furan, die nicht in der Begründung von 2006 enthalten sind, sind in den Tabellen 2 bis 6 dargestellt.

Die Schlundsondengabe von Furan in niedrigen Dosierungen führte bei Ratten und Mäusen zuerst ausschließlich zu Lebertoxizität. So wurde nach 13-wöchiger Gabe an F344-Ratten ein NOAEL von 0,03 mg/kg KG und Tag erhalten, ab 0,12 mg/kg KG und Tag traten leichte, dosisabhängig in der Stärke zunehmende histologische Veränderungen im Spigelschen Lappen, Apoptose von Hepatozyten, Kupferzellen mit gelben Pigmenteinlagerungen und Foci subkapsulärer Entzündungszellen auf. Bis 8 mg/kg KG und Tag wurden in keinem weiteren Organ substanzbedingte Befunde beobachtet, während die Befunde in der Leber dosisabhängig zunahmen. Eine mögliche Erklärung dafür, dass die Effekte zuerst im Spigelschen Lappen auftreten, könnte sein, dass dieser dem Magen am nächsten liegt und daher eventuell eine Diffusion in das Lebergewebe stattgefunden haben könnte. Die Tiere wurden in dieser Studie von Charles River, Quebec, bezogen (siehe Tabelle 2 und 3; Gill et al. 2010).

Eine 2-Jahre-Studie mit Schlundsondengabe von Furan an männliche F344-Ratten ergab nach 2 Jahren einen NOAEL von 0,092 mg/kg KG und Tag, ab 0,2 mg/kg KG und Tag trat bei 76% der Tiere Cholangiofibrose auf (siehe Tabelle 6). Die Zwischenuntersuchungen nach 9 und 15 Monaten zeigten ein Absinken des NOAEL mit der Zeit (siehe Tabelle 4 und 5). Die Lebertoxizität verstärkte sich dosisabhängig bis zur höchsten eingesetzten Dosierung von 2 mg/kg KG und Tag, wobei keine Cholangiokarzinome auftraten (FDA 2015).

Warum es zu einer unterschiedlichen Empfindlichkeit von Hepatozyten und Gallengangszellen in der 13-Wochen- und 2-Jahre-Studie kam, ist unklar. Eventuell könnte es sich um geringe genetische Unterschiede handeln, da die Tiere der 13-Wochen-Studie aus Kanada von Charles River, Quebec, bezogen, die Tiere der 2-Jahre-Studie in den USA innerhalb der Organisation des National Center for Toxicological Research, USA, gezüchtet wurden.

Mit Mäusen liegen 3-Wochen, 13-Wochen und 2-Jahre-Schlundsondenstudien vor, in denen sich die Leber als empfindlichstes Zielorgan bestätigt hat. Nach 13-wöchiger Gabe traten ab 0,5 mg Furan/kg KG und Tag Läsionen im Leberläppchen auf, der NOAEL lag bei 0,12 mg/kg KG und Tag. In der 2-Jahre-Studie wurden ausschließlich in der Leber histopathologische Befunde beobachtet, ab der niedrigsten Dosis von 0,5 mg/kg KG und Tag subkapsuläre Entzündungen (Gill et al. 2011; Moser et al. 2009).

5.2.3 Dermale Aufnahme

Hierzu liegen weiterhin keine Daten vor.

5.3 Wirkung auf Haut und Schleimhäute

Hierzu liegen weiterhin keine Daten vor.

5.4 Allergene Wirkung

Hierzu liegen weiterhin keine Daten vor.

5.5 Reproduktionstoxizität

Es liegen weiterhin keine spezifischen Untersuchungen zur Wirkung auf die Fertilität und keine Entwicklungstoxizitätsstudien vor.

In oralen 90-Tage-Studien traten bei bis zu 8 mg/kg KG und Tag keine Effekte an den Reproduktionsorganen von B6C3F1-Mäusen (Gill et al. 2011) und F344-Ratten (Gill et al. 2010) auf (siehe Tabelle 2).

In einer anderen 90-Tage-Schlundsondenstudie wurden bei männlichen Wistar-Ratten bei 8 mg/kg KG und Tag vermindertes absolutes und relatives Prostatagewicht und Gewicht der Samenvesikel beobachtet, während das Gewicht von Testikeln und Epididymides nicht betroffen war. Die Konzentration von lutenisierendem Hormon im Serum war vermindert, die von Testosteron ab 2 mg/kg KG und Tag ebenfalls. Ein dosisabhängiger Anstieg an Apoptosen von Leydigzellen, der Anstieg an Vakuolisierungen von Sertolizellen, Tubulusdegenerationen und die „Verschlammung“ von Keimzellen wurden beschrieben (siehe Tabelle 2; FDA 2015).

Tab. 2 Untersuchungen zur Toxizität nach wiederholter oraler Gabe von Furan

Spezies, Stamm, Anzahl pro Gruppe	Exposition	Befunde	Literatur
Ratte, Fischer 344/N, 12 ♂, 12 ♀	13 Wochen, 0; 0,03; 0,12; 0,5; 2,0; 8,0 mg/kg KG u. Tag, 5 d/w, in Maiskeimöl, Reinheit >99%, Schlundsonde	0,03 mg/kg KG: NOAEL für Lebertoxizität; ab 0,12 mg/kg KG: Veränderungen im Spigelschen Leberlappen (siehe Tabelle 3), Apoptose Hepatozyten (♂), Kupferzellen mit gelben Pigmenteinlagerungen (♂), Foci subkapsulärer Entzündungszellen, biochemische Parameter: T4 (♂) ↑; ab 0,5 mg/kg KG: bei allen Tieren Veränderungen im Spigelschen Leberlappen, Ähnliches im linken Leberlappen; Zellschichtdicke mit Zytomegalie- u. Karyomegalie- Hepatozyten u. dunklem basophilem Zytoplasma ↑, Apoptose Hepatozyten, Kupferzellen mit gelben Pigmenteinlagerungen ↑ (♀), biochemische Parameter: Triglyceride (♂) ↓, Zahl der Blutplättchen (♀) ↑; ab 2,0 mg/kg KG: subkapsuläre u. periportale Proliferation ovaler Zellen, Gallenganghyperplasie, Infiltrate: Entzündungszellen, Fibrose, biochemische Parameter: ALT (♀) ↓, ALP (♂) ↑, Albumin (♀) ↓, Amylase (♂) ↓, Globulin (♂) ↓, Glukose ↓, Gesamtprotein (♀) ↑, Triglyceride (♀) ↓, Phosphor (♀) ↑, T3 (♀) ↑; 8,0 mg/kg KG: abs. Lebergew. 14–22% ↑, Noduli im Leber (v.a. im Spigelschen u. linken lateralen Leberlappen), histopathologische Veränderungen in allen Leberlappen, Hyperplasie von Gallengangepithel- u. Ovalzellen, Cholangiofibrose statt hepatisches Parenchym; biochemische Parameter: ALT ↓, Albumin ↑, Cholesterin (♂) ↑, Zahl der Blutplättchen ↑, %CD4 ⁺ CD8 ⁺ (♂) ↓, %CD4 ⁺ CD8 ⁺ (♂) ↑ (♀ auch Trend) (evtl. Thymus-Toxizität), <u>Untersuchungsumfang:</u> Futterverbrauch, KG- u. Organgew.; in allen Dosigruppen: Histopathologie von Leber, Nieren, Thymus, Milz; nur Kontrolle und höchste Dosisgruppe: Histopathologie von Magen, Schilddrüse, Nebennieren, Pankreas, Testes, Epididymides, Prostata, Samenvesikel, Ovarien, Uterus und Vagina; nur Gewichtsbestimmung: Herz; gepaarte Organe einzeln gewogen; Studienende: biochemische Parameter im Serum, Blutparameter, Phänotypisierung Thymozyten	Gill et al. 2010

Tab. 2 (Fortsetzung)

Spezies, Stamm, Anzahl pro Gruppe	Exposition	Befunde	Literatur
Ratte, F344, 80 (bis 190) ♂, zu Studienbeginn 7 Wochen alt	2 Jahre, Zwischenunter- suchung nach 9 (n = 20) u. 15 (n = 10) Monaten, 0 (n = 190); 0,02 (n = 180); 0,044 (n = 130); 0,092 (n = 130); 0,2; 0,44; 0,92; 2 mg/kg KG u. Tag, 5 d/w, in Maiskeimöl, Reinheit 99,5%, Schlundsonde	2 Jahre, Befunde in der Leber siehe Tabelle 4 (9 Monate), Tabelle 5 (15 Monate), Tabelle 6 (2 Jahre), 0,092 mg/kg KG (n = 100): NOAEL ; ab 0,2 mg/kg KG (n = 50): Lebertoxizität; nach 2 Jahren 76% der Tiere Cholangiofibrose (siehe Tabelle 6); 2 mg/kg KG (n = 50): Hyperplasie von Myeloidzellen im Knochenmark (43%*, Kontrolle 24%), Katarakt am Auge (13%*, Kontrolle 1%), Ödem im Vormagen (31%*, Kontrolle 18%), Hyperplasie im Epithel des Vormagens (44%*, Kontrolle 28%), chronische Entzündung Vormagen (40%*, Kontrolle 22%), Geschwür im Vormagen (19%*, Kontrolle 9%), Hyperplasie im Übergangsepithel der Nieren (38%*, Kontrolle 18%), Sinus-Dilatation im Lymphknoten des Pankreas (12%*, Kontrolle 0%), Hyperplasie in Nebenschilddrüse (38%*, Kontrolle 26%), Zysten an der Haut (12%*, Kontrolle 3%), follikuläre Zysten in der Schilddrüse (14%*, Kontrolle 5%), Mineralisation in Testis (6%*, Kontrolle 1%)	FDA 2015
Maus, SPF-B6C3F ₁ , 15 ♀, nur ♀ Tiere, da geringere Spontan-Lebertumor-Inzidenz (14%, ♂: 52%) und beide Geschlechter im Prinzip gleich reagierten	3 Wochen, 0; 0,5; 1; 2; 4; 8 mg/kg KG u. Tag, 5 d/w, in Maiskeimöl, Reinheit >99%, Schlundsonde	Studienende: nur Leberlappen einzeln u. histopathologisch untersucht; ab 0,5 mg/kg KG : Lebertoxizität (Degeneration hepatisches Parenchym, Entzündungen oder subkapsuläre Nekrose und Entzündungen in Hepatozyten an Fläche mit Kontakt zu Vormagen), Trend ALT ↑, Trend Zellproliferation (BrdU) und Labeling-Index ↑; ab 1 mg/kg KG : ALT ↑, Inzidenz mitotischer Figuren in Hepatozyten ↑, Lebertoxizität signifikant; ab 2 mg/kg KG : positiver Trend Labeling-Index ↑; ab 4 mg/kg KG : abs. u. rel. Lebergew. ↑; 8 mg/kg KG : Labeling-Index ↑	Moser et al. 2009

Tab. 2 (Fortsetzung)

Spezies, Stamm, Anzahl pro Gruppe	Exposition	Befunde	Literatur
Maus, B6C3F ₁ , 16 ♂, 16 ♀, 5 für Histopathologie (berichtet), 11 für molekulare und Proteinanalyse (Ergebnisse nicht berichtet)	13 Wochen, 0; 0,03; 0,12; 0,5; 2,0; 8,0 mg/kg KG u. Tag, 5 d/w; in Maiskeimöl, Reinheit >99%, Schlundsonde	0,12 mg/kg KG: NOAEL für Lebertoxizität, Phosphor (♂) ↑; ab 0,5 mg/kg KG: Blutharnstoff ↓, Läsionen im Spigelschen Leberlappen (subkapsulär); ab 2 mg/kg KG: Serumamylase (♀) ↓, Spigelsche Leberlappen: Apoptose von Hepatozyten, Kupferzellen mit gelben Pigmenteinlagerungen, Hyperplasie von Ovalzellen, Entzündungsinfiltrate, Grenzschicht aus vergrößerten Hepatozyten mit basophilem Zytoplasma und Nucleoli zwischen Parenchym und subkapsulären Läsionen, linker Lappen: subkapsuläre Hepatozytenapoptose und Kupferzellen mit Pigmenteinlagerungen, Entzündungsinfiltrate, rechter Lappen: ähnliche Befunde bei je 1 ♂ u. ♀; 8 mg/kg KG: abs. u. rel. Lebergew. (♀) 14% ↑, ALT ↑, Harnsäure (♂) ↑, Befunde im rechten Leberlappen bei je 2 ♂ u. ♀, apoptotische Hepatozyten im Parenchym (♀), Gallengangshyperplasie, Untersuchungsumfang: Futterverbrauch, KG- u. Organgew.; Histopathologie: in allen Dosisgruppen: einzelne Leberläppchen; Histopathologie nur Kontroll- u. höchste Dosisgruppe: Nieren, Milz, Lunge, Thymus, Magen, Nebennieren, Testes, Ovarien; Histologie von Uterus, Brustdrüsen, Samenvesikel, Schilddrüse, Lunge, Pankreas, Herz, Gehirn, Prostata, Epididymides, Colon, Gallenblase, Dünn- u. Dickdarm; gepaarte Organe einzeln gewogen; Studienende: biochemische Parameter im Serum, Blutparameter	Gill et al. 2011
Maus, SPF-B6C3F ₁ , 50 ♀, nur ♀ Tiere da geringere Spontan-Lebertumorzinidenz (14%, ♂: 52%) und beide Geschlechter im Prinzip gleich reagieren	2 Jahre, 0; 0,5 (n = 100); 1 (n = 75); 2; 4; 8 mg/kg KG u. Tag, 5 d/w; in Maiskeimöl, Reinheit >99%, Schlundsonde	nur Leberlappen histopathologisch untersucht, ab 0,5 mg/kg KG: Lebertoxizität (subkapsuläre Entzündung); ab 1 mg/kg KG: Zytotoxizität in Leber signifikant; ab 4 mg/kg KG: rel. Lebergew. ↑, Foci veränderter Hepatozyten, hepatozelluläre Adenome, hepatozelluläre Adenome plus Karzinome, Zahl Noduli in Hepatozyten ↑; 8 mg/kg KG: hepatozelluläre Karzinome, Multiplizität von Mikrotumoren ↑, Latenzzeit bis Tumor ↓	Moser et al. 2009

ALT: Alanin-Aminotransferase; ALP: alkalische Phosphatase; BrdU: 5-Brom-2'-deoxyuridin; LI: Labeling Index; SPF: Specific Pathogen Free; *: p<0,05; **: p<0,01

Tab. 3 Befunde in der Leber von F344-Ratten nach 13-wöchiger Gabe von Furan (5 Tage/Woche) mit der Schlundsonde (Gill et al. 2010)

		Dosis (mg/kg KG und Tag)					
		0	0,03	0,12	0,5	2	8
Gallenkanäle							
Hyperplasie	♂	0/12 (0%)	0/12 (0%)	0/12 (0%)	0/12 (0%)	6/12 (50%)	12/12 (100%)
	♀	0/12 (0%)	0/12 (0%)	0/12 (0%)	0/12 (0%)	1/12 (8%)	12/12 (100%)
Cholangiofibrose	♂	0/12 (0%)	0/12 (0%)	0/12 (0%)	0/12 (0%)	2/12 (17%)	12/12 (100%)
	♀	0/12 (0%)	0/12 (0%)	0/12 (0%)	0/12 (0%)	0/12 (0%)	11/12 (92%)
Hepatozyten							
Apoptose	♂	3/12 (23%)	4/12 (33%)	6/12 (50%)	12/12 (100%)	12/12 (100%)	12/12 (100%)
	♀	2/12 (17%)	0/12 (0%)	1/12 (8%)	10/12 (83%)	12/12 (100%)	12/12 (100%)
Basophilie im Zytoplasma	♂	0/12 (0%)	0/12 (0%)	0/12 (0%)	8/12 (67%)	12/12 (100%)	12/12 (100%)
	♀	0/12 (0%)	0/12 (0%)	0/12 (0%)	0/12 (0%)	12/12 (100%)	11/12 (92%)
Anisokaryose	♂	0/12 (0%)	0/12 (0%)	0/12 (0%)	0/12 (0%)	10/12 (83%)	12/12 (100%)
	♀	0/12 (0%)	k. A.	0/12 (0%)	0/12 (0%)	12/12 (100%)	10/12 (83%)
Kupfferzellen							
Pigmentierung	♂	1/12 (8%)	1/12 (8%)	5/12 (42%)	10/12 (83%)	12/12 (100%)	12/12 (100%)
	♀	2/12 (17%)	0/12 (0%)	3/12 (25%)	12/12 (100%)	12/12 (100%)	12/12 (100%)

Tab. 4 Befunde in der Leber nach oraler Gabe von Furan (5 Tage/Woche) an männliche F344-Ratten (FDA 2015) nach 9 Monaten

	Dosis (mg/kg KG und Tag)							
	0	0,02	0,044	0,092	0,2	0,44	0,92	2
Cholangiofibrose	0/20 (0%)	0/20 (0%)	0/20 (0%)	0/20 (0%)	0/20 (0%)	6/20** (30%)	17/20** (85%)	19/20** (95%)
gemischte Zellfoci	0/20 (0%)	0/20 (0%)	0/20 (0%)	0/20 (0%)	1/20 (5%)	0/20 (0%)	1/20 (5%)	5/20* (25%)
Gallengang Hyperplasie	1/20 (5%)	1/20 (5%)	0/20 (0%)	1/20 (5%)	0/20 (0%)	0/20 (0%)	6/20* (30%)	19/20** (95%)
Gallengang subkapsuläre Hyperplasie	0/20 (0%)	0/20 (0%)	0/20 (0%)	0/20 (0%)	1/20 (5%)	12/20** (60%)	19/20** (95%)	20/20** (100%)
Ovalzellen Hyperplasie	0/20 (0%)	0/20 (0%)	0/20 (0%)	0/20 (0%)	0/20 (0%)	0/20 (0%)	1/20 (5%)	16/20** (80%)
Hepatozyten Hypertrophie	0/20 (0%)	0/20 (0%)	0/20 (0%)	0/20 (0%)	1/20 (5%)	0/20 (0%)	2/20** (10%)	12/20** (60%)
zytoplasmatische Veränderungen im periportalen Feld	0/20 (0%)	0/20 (0%)	0/20 (0%)	0/20 (0%)	0/20 (0%)	0/20 (0%)	7/20* (35%)	19/20** (95%)
Fibrose subkapsulär	0/20 (0%)	0/20 (0%)	0/20 (0%)	0/20 (0%)	3/20 (15%)	14/20** (70%)	20/20** (100%)	20/20** (100%)
chronische Entzündung subkapsulär	0/20 (0%)	0/20 (0%)	0/20 (0%)	0/20 (0%)	2/20 (10%)	14/20** (70%)	20/20** (100%)	20/20** (100%)
Pigmentierung subkapsulär	0/20 (0%)	0/20 (0%)	0/20 (0%)	0/20 (0%)	2/20 (10%)	14/20** (70%)	20/20** (100%)	20/20** (100%)

*: p<0,05; **: p<0,01

Tab. 5 Befunde in der Leber nach oraler Gabe von Furan (5 Tage/Woche) an männliche F344-Ratten (FDA 2015) nach 15 Monaten

	Dosis (mg/kg KG und Tag)							
	0	0,02	0,044	0,092	0,2	0,44	0,92	2
Cholangiofibrose	0/20 (0%)	0/10 (0%)	0/10 (0%)	0/10 (0%)	0/10 (0%)	10/10** (100%)	10/10** (100%)	8/10** (80%)
gemischte Zellfoci	1/20 (5%)	0/10 (0%)	1/10 (10%)	0/10 (0%)	1/10 (10%)	1/10 (10%)	3/10 (30%)	6/10* (60%)
Gallengang Hyperplasie	7/20 (35%)	3/10 (30%)	1/10 (10%)	2/10 (20%)	1/10 (10%)	2/10 (20%)	3/10 (30%)	8/10* (80%)
Gallengang subkapsuläre Hyperplasie	0/20 (0%)	0/10 (0%)	0/10 (0%)	0/10 (0%)	1/10 (10%)	9/10** (90%)	10/10** (100%)	7/10** (70%)
Ovalzellen Hyperplasie	0/20 (0%)	0/10 (0%)	0/10 (0%)	0/10 (0%)	0/10 (0%)	0/10 (0%)	3/10* (30%)	7/10** (70%)
Hepatozyten Hypertrophie	0/20 (0%)	0/10 (0%)	0/10 (0%)	0/10 (0%)	0/10 (0%)	5/10* (50%)	4/10* (40%)	8/10** (80%)
zytoplasmatische Veränderungen im periportalen Feld	0/20 (0%)	0/10 (0%)	0/10 (0%)	1/10 (10%)	0/10 (0%)	1/10 (10%)	7/10** (70%)	8/10** (80%)
Fibrose subkapsulär	0/20 (0%)	0/10 (0%)	0/10 (0%)	0/10 (0%)	4/10* (40%)	9/10** (90%)	10/10** (100%)	7/10** (70%)
chronische Entzündung subkapsulär	0/20 (0%)	0/10 (0%)	0/10 (0%)	0/10 (0%)	8/10** (80%)	9/10** (90%)	10/10** (100%)	7/10** (70%)
Pigmentierung subkapsulär	0/20 (0%)	0/10 (0%)	0/10 (0%)	0/10 (0%)	8/10** (80%)	9/10** (90%)	10/10** (100%)	7/10** (70%)

*: p<0,05; **: p≤0,01

Tab. 6 Befunde in der Leber nach oraler Gabe von Furan (5 Tage/Woche) an männliche F344-Ratten (FDA 2015) nach 2 Jahren

	Dosis (mg/kg KG und Tag)						
	0	0,02	0,044	0,092	0,2	0,44	0,92 2
Cholangiofibrose	0/149 (0%)	0/150 (0%)	0/99 (0%)	1/100 (1%)	38/50** (76%)	49/49** (100%)	47/50** (94%) 49/49** (80%)
gemischte Zellfoci	7/149 (5%)	7/150 (5%)	6/99 (6%)	3/100 (3%)	5/50 (10%)	3/49 (6%)	6/50 (12%) 13/49** (27%)
basophile Foci	28/149 (19%)	16/150 (11%)	19/99 (19%)	18/100 (18%)	11/50 (22%)	13/49 (27%)	10/50 (20%) 13/49** (27%)
Gallengang Hyperplasie	89/149 (60%)	86/150 (57%)	59/99 (60%)	56/100 (56%)	29/50 (58%)	25/49 (51%)	32/50 (64%) 43/49** (88%)
Ovalzellen Hyperplasie	14/149 (9%)	15/150 (10%)	10/99 (10%)	8/100 (8%)	7/50 (14%)	6/49 (12%)	14/50** (28%) 33/49** (67%)
regenerative Hyperplasie	0/149 (0%)	1/150 (1%)	1/99 (1%)	2/100 (2%)	1/50 (2%)	1/49 (2%)	7/50** (14%) 12/49** (25%)
zytoplasmatische Vakuolisierung	23/149 (15%)	23/150 (15%)	14/99 (14%)	19/100 (19%)	12/50 (24%)	18/49** (37%)	23/50** (46%) 37/49** (76%)

*: p<0.05, **: p≤0.01

5.6 Genotoxizität

5.6.1 In vitro

Die Untersuchungen zur In-vitro-Genotoxizität sind in Tabelle 7 dargestellt.

Furan

Furan rief keine Genmutationen in *Salmonella typhimurium* mit und ohne Zusatz metabolischer Aktivierung (Mortelmans et al. 1986), keine unplanmäßige DNA-Reparatur in Hepatozyten der Ratte bzw. Maus (Wilson et al. 1992) und keine DNA-Strangbrüche in Mauslymphomzellen (Kellert et al. 2008) hervor.

Die Ergebnisse zur Induktion von Schwesterchromatidaustauschen waren zum Teil positiv, wurden jedoch im Rahmen des National Toxicology Program als nicht eindeutig beurteilt (NTP 1993).

Im Chromosomenaberrationstest an CHO-Zellen wurden mit und ohne Zusatz metabolischer Aktivierung ab 100 µM Aberrationen induziert (NTP 1993), in einer anderen Chromosomenaberrations-Studie zeigte sich nur nach metabolischer Aktivierung und Zusatz von NADP ab 12 500 µg/ml eine klastogene Wirkung (Stich et al. 1981).

Im Mikronukleustest an menschlichen Lymphozyten bzw. Mauslymphomzellen trat durch Behandlung mit Furan bis zur zytotoxischen Konzentration mit und ohne Zusatz metabolischer Aktivierung (Durling et al. 2007) bzw. ohne metabolische Aktivierung (Kellert et al. 2008) keine Induktion von Mikronuklei auf.

An Mauslymphomzellen wurden ohne metabolische Aktivierung keine Veränderungen am *tk*^{+/-}-Lokus hervorgerufen (Kellert et al. 2008; McGregor et al. 1988; NTP 1993). Es wurde in der Auswertung nicht zwischen kleinen und großen Kolonien unterschieden.

Metabolit cis-2-Buten-1,4-dial

Im Mutagenitätstest an *Salmonella typhimurium* zeigte sich für cis-2-Buten-1,4-dial keine Mutationsinduktion, außer für den Aldehyd-sensitiven Stamm TA104 (Peterson et al. 2000). cis-2-Buten-1,4-dial wurde 30 Minuten lang mit *Salmonella typhimurium* TA104 inkubiert, die DNA isoliert und nach Aufarbeitung massenspektroskopisch auf DNA-Addukte hin analysiert. Es zeigte sich ein dosisabhängiger Anstieg an Desoxy-Cytidin- und Desoxy-Adenosin-Addukten (Byrns et al. 2006; Peterson 2006).

In Mauslymphomzellen ließen sich im Comet-Assay DNA-Strangbrüche und DNA-Crosslinks ab 25 bzw. 100 µM nachweisen (Kellert et al. 2008). cis-2-Buten-1,4-dial induzierte bis zu zytotoxischen Konzentrationen in Mauslymphomzellen keine Mikronuklei, aber Genmutationen im *tk*^{+/-}-Lokus bei nur 30% relativem Zellwachstum (Kellert et al. 2008).

In embryonalen, *cII*-Transgen-tragenden Mäusefibroblasten erhöhte sich die Anzahl der Mutationen nicht, wohl aber das Mutationsspektrum zu Transversionen (AT→CG) statistisch signifikant (Terrell et al. 2014).

5.6.2 In vivo

Die In-vivo-Daten zur Genotoxizität sind in Tabelle 8 dargestellt. Es liegen nur Daten zu Furan, aber keine Daten zu dessen Metabolit cis-2-Buten-1,4-dial vor.

Tab. 7 Untersuchungen zur Genotoxizität von Furan und des Metaboliten cis-2-Buten-1,4-dial in vitro

Endpunkt	Testsystem	Konz.	wirksame Konz.	Zytotox.	Ergebnis	Anmerkung	Literatur
Furan							
Genmutation (SMT)	TA98	0–3333 µg/Platte	k. A.	–	–	S9-Mix aus Hamster und Rattenlebern	Mortelmans et al. 1986
	TA100				–		
	TA1535				–		
	TA1537				–		
SCE	CHO-Zellen	0–160 µg/ml (–m.A.)	ab 1,6 µg/ml	bis zur Zyto- tox. getestet (k. w.A.)	+	Versuch 1: +; Versuch 2: (+)	NTP 1993
		0–500 µg/ml (+m.A.)	ab 500 µg/ml				
DNA-Repara- tursynthese UDS	primäre Ratten- und Mäusehepa- tozyten	bis zu 10 mM (680 µg/ml)		k. A.	–	+/- Ergebnis nicht eindeutig adäquate Exposition laut Kontrollmessungen trotz hoher Flüchtigkeit des Furans	Wilson et al. 1992
				–			
DNA-Scha- den, Comet	L5178Y-Maus- lymphomzellen	nominal: 0; 250; 500; 1000; 2000; 4000 µg/ ml (gemessen: 0; 225; 450; 900; 1600; 3100 µM)		–	–	n. d.	Kellert et al. 2008
		aus Abb.: 0, 20, 40, 50, 100, 120, 184, 220 mM (0; ca. 1400; 2700; 3400; 6800; 8200; 12 500; 15 000 µg/ml)				Konz. im Kontrollmedi- um mit UV-Absorption bei 211 nm bestimmt	
Chromoso- menaberra- tion	CHO-Zellen		ab 184 mM (ab 12 500 µg/ ml)	k. A.	–	+	Stich et al. 1981
Chromoso- menaberra- tion	CHO-Zellen	0, 100, 500, 1000 µg/ ml	ab 100 (–m.A.) bzw. 500 (+m.A.) µg/ml	k. A.	+	+	NTP 1993
						dosisabh.	
Chromoso- menaberra- tion	CHO-Zellen						

Tab. 7 (Fortsetzung)

Endpunkt	Testsystem	Konz.	wirksame Konz.	Zytotox.	Ergebnis	Anmerkung	Literatur
Mikronukleus (CBMN)	humane Lymphozyten	1): 0–100 mM (–m.A.) 2): 0–25 mM (+m.A.)		–m.A.: 15 mM +m.A.: 15 mM	–	keine Analyse möglich bei 100 bzw. 25 mM aufgrund 100% Zytotox.	Durling et al. 2007
Mikronukleus (CBMN)	L5178Y-Maus-lymphomzellen	nominal: 0; 250; 500; 1000; 2000; 4000 µg/ml (gemessen: 0; 225; 450; 900; 1600; 3100 µM)		–	–	n. d.	Kellert et al. 2008
Genmutation ($tk^{+/+}$)	L5178Y-Maus-lymphomzellen	0–2600 µg/ml	1) – 2) 2600 µg/ml 3) 1139 µg/ml	RTG: um 20–60% vermindert	– +/- +/-	Zunahme der Mutantenhäufigkeit im zytotox. Bereich (k.A. zur Koloniegroße)	McGregor et al. 1988; NTP 1993
Genmutation ($tk^{+/+}$)	L5178Y-Maus-lymphomzellen	nominal: 0; 250; 500; 1000; 2000; 4000 µg/ml (gemessen: 0; 225; 450; 900; 1600; 3100 µM)		–	–	n. d.	Kellert et al. 2008
cis-2-Buten-1,4-dial							
Genmutation (SMT)	TA97 TA98 TA100 TA102 SMT+GSH	0; 1,4; 1,7; 2,1; 2,9; 4,3 µmol/Platte (0, ca. 118, 143, 177, 244, 362 µg/Platte)		–	– – – – ↓	S9-Mix aus Rattenlebern	Peterson et al. 2000

Tab. 7 (Fortsetzung)

Endpunkt	Testsystem	Konz.	wirksame Konz.	Zytotox.	Ergebnis	Anmerkung	Literatur
					-m.A.	+m.A.	
	TA104 (aldehyd-sensitiver Stamm)	0; 1,4; 1,7; 2,1; 2,9; 4,3 μ mol/Platte (0, ca. 118, 143, 177, 244, 362 μ g/Platte)		ab 244 μ g/Platte	- bei nicht zytotox. Konz.	Bildung von bis-GSH-Konjugaten; nicht reproduzierbar (Kellert et al. 2008; k. A.)	Peterson et al. 2000
	TA104 + GSH-Vorinkubation						
DNA-Addukt	Salmonella TA104	0, 1,42; 2,14; 2,86 mM (0, ca. 119, 180, 240 μ g/ml)	2,14 mM (ca. 180 μ g/ml)		+	n.d.	Byrns et al. 2006; Peterson 2006
DNA-Schaden, Comet	L5178Y-Maus-lymphomzellen	0; 6,3; 12,5; 25; 50 μ M (0, ca. 0,53; 1,05; 2,1; 4,2 μ g/ml)	25 μ M (2,1 μ g/ml)	50 μ M (4,2 μ g/ml)	+ (1,6-fach)	n.d.	Kellert et al. 2008
						Zytotoxizität: bei 50 μ M: 50% lebende Zellen, 25% apoptotische Zellen; Plating Efficiency <30%, RTG <10%	
DNA-Crosslinks, Comet		0, 1, 10, 100, 1000 μ M (0, ca. 0,084; 0,84; 8,4; 84 μ g/ml)	100 μ M (8,4 μ g/ml)	100 μ M (8,4 μ g/ml)	+	n.d.	Kellert et al. 2008
						DNA-Migration nach Behandlung erhöht; ab 100 μ M: DNA-Fragmentierung des Chromatins (apoptotische Zellen)	

Tab. 7 (Fortsetzung)

Endpunkt	Testsystem	Konz.	wirksame Konz.	Zytotox.	Ergebnis	Anmerkung	Literatur
Mikronukleus (CBMN)		0; 6,3; 12,5; 25; 50 µM (0, ca. 0,53; 1,05; 2,1; 4,2 µg/ml)		50 µM (4,2 µg/ml)	-	n. d.	Kellert et al. 2008
					- m.A.	+ m.A.	
Genmutation (<i>tk⁺/-</i>)		0; 6,3; 12,5; 25; 50 µM (0, ca. 0,53; 1,05; 2,1; 4,2 µg/ml)	25 µM (2,1 µg/ml)	50 µM (4,2 µg/ml)	+	n. d.	Kellert et al. 2008
<i>cH</i> -Transgen; Mutations-spektrum	embryonale Big-Blue-Mausfibroblasten	0–10 µM; nur 30 min Behandlung in PBS; 48 h nach Behandlung in großen Gefäßen bis zu 6–10×10 ⁶ Zellen kultiviert, (72 h), Isolierung der DNA		dosisabh. ↓, bei 10 µM 100% Zytotox; Abnahme der Lebensfähigkeit; vollständiges Kulturmedium neutralisiert die Toxizität von cis-2-Buten-1,4-dial	-	n. d.	Terrell et al. 2014

Konz. = Konzentration; n. d.: nicht durchgeführt; RTG: Relative Total Growth; Zytotox. = Zytotoxizität

Tab. 8 Untersuchungen zur Genotoxizität von Furan in vivo

Testsystem	Spezies	Dosis	Ergebnis	Bemerkung	Literatur
Drosophila					
SLRL	Drosophila, je 10–20 ♂ Canton-S Wildtyp	0, 10000 ppm, 3 d Fütterung in Saccharose, einmalige abdominale Injektion mit 25000 ppm	–		NTP 1993
Säugetiere					
¹⁴ C-DNA-Addukte, Leber, Nieren	Ratte, F344, ♂, k. A. zur Anzahl	0; 0,1; 2,0 mg/kg KG u. Tag, Schlundsonde, einmalig	+	3,4- ¹⁴ C-Furan-Gabe, Analyse mittels LC-MS, Untersuchung 2 h nach Substanzgabe, um zu verhindern, dass Substanz in metabolischem Kreislauf zu CO ₂ umgesetzt wird	Neuwirth et al. 2012
SCE, Knochenmark	Maus, B6C3F ₁ , 5 ♂/Gruppe	87,5–350 mg/kg KG od. 25–100 mg/kg KG, intraperitoneal,	–	Untersuchung 23 bzw. 42 h nach i.p. Behandlung	NTP 1993
SCE, Knochenmark	Ratte, F344, 8 ♂/Gruppe	0; 0,1; 0,5; 2,0 mg/kg KG u. Tag, Schlundsonde, 5 d/w, 5, 28 Tage, 0; 2,0 mg/kg KG u. Tag, 5 d/w, 28 Tage mit 14 Tagen Erholung	–	k. A. zur BrdU-Gabe u. Zytotoxizität	Neuwirth et al. 2012
DNA-Reparatur-Synthese (UDS), primäre Hepatozyten: ³ HThymidin-Markierung	Maus, B6C3F ₁ , 3 ♂/Gruppe	0, 10, 50, 100 mg/kg KG, od. 0, 10, 50, 200 mg/kg KG, Schlundsonde, einmalig	–	Untersuchung 12 h nach Behandlung Untersuchung 2 h nach Behandlung	Wilson et al. 1992

Tab. 8 (Fortsetzung)

Testsystem	Spezies	Dosis	Ergebnis	Bemerkung	Literatur
DNA-Reparatur-Synthese (UDS), primäre Hepatozyten: ³ H-Thymidin-Markierung	Ratte, F344, 3 ♂/Gruppe	0, 5, 30, 100 mg/kg KG, Schlundsonde, einmalig	–	Untersuchung 2 od. 12 h nach Behandlung	
DNA-Schäden, Crosslinks, Leber, (Comet-Assay, pH 13) Standardmethode	Maus, B6C3F1, 5–6 ♂/Gruppe	0, 15, 100, 250 mg/kg KG, Schlundsonde, einmalig	+ bei 250 mg/kg KG	Untersuchung nach 3 h: Effekte auf DNA-Strangbrüche, alkali-labile Stellen oder DNA-Reparatur-Intermediate zurückzuführen; ab 100 mg/kg KG: Anzeichen von Toxizität; Histologie: diffuse Veränderung des Parenchyms mit nekrotischen Bereichen	Cordelli et al. 2010
DNA-Schäden, Milz, nicht stimuliert (Comet-Assay, pH 13)	Maus, B6C3F1, 5 ♂/Gruppe	0, 15, 100, 250 mg/kg KG, Schlundsonde, einmalig,	–	Untersuchung nach 3 h	Leopardi et al. 2010
DNA-Schäden, Milz, nicht stimuliert (Comet-Assay, pH 13)	Maus, B6C3F1, 6 ♂/Gruppe	0, 2, 4, 8 od. 15 mg/kg KG u. Tag, Schlundsonde, 5 d/w, 28 Tage	–	Untersuchung 24 h nach letzter Behandlung: keine Zytotoxizität oder Toxizität; Histologie der Milz: Veränderungen der weißen Pulpa (T-, B-Zellregion); keine Veränderung der apoptotischen Zellen	
DNA-Schäden, Milz, proliferierend (γH2AX-Assay)			+ ab 8 mg/kg KG	Untersuchung 24 h nach letzter Behandlung	
DNA-Crosslinks, Milz, (Comet-Assay)		8, 15 mg/kg KG u. Tag, Schlundsonde, 5 d/w, 28 Tage	–	Untersuchung 24 h nach letzter Behandlung, k. w. A.	

Tab. 8 (Fortsetzung)

Testsystem	Spezies	Dosis	Ergebnis	Bemerkung	Literatur
DNA-Schäden, Leber, (Comet-Assay, pH 13)	Maus, B6C3F ₁ , 6 ♂/Gruppe	0, 2, 4, 8 od. 15 mg/kg KG u. Tag, Schlundsonde, 5 d/w 28 Tage	–	Untersuchung 24 h nach letzter Behandlung: keine Anzeichen von Toxizität; ab 4 mg/kg KG und Tag rel. Lebergewicht leicht ↑; ab 8 mg/kg KG und Tag: regenerative Hyperpla- sie, BRDU-positive Zellen ↑; apoptotische Zellen ↑; Gene für Zellproliferation, Makrophagen-Ant- wort, oxidativen Stress/ROS DNA-Schaden ↑; Gene für Entzündungsmarker (Interleukine) ↓	Cordelli et al. 2010
DNA-Schäden, Leber, (γH2AX-Assay)			–		
DNA-Gehalt, Leber, (Flow Cytometer)			+ bei 15 mg/ kg KG u. Tag	gering, aber stat. sign. Zunahme an polyploiden Zellen (8N)	
DNA-Methylierung, Leber, (Einbau von ³ H-Methyl-Grup- pen durch bakt. CpG-Methylase in genomische DNA)			–		

Tab. 8 (Fortsetzung)

Testsystem	Spezies	Dosis	Ergebnis	Bemerkung	Literatur
DNA-Schäden, Leber, (Comet-Assay, pH 13)	Ratte, F344,	I: 0, 16 mg/kg KG,	+	I: Untersuchung 1, 3, 6, 8, 16, 24 h nach Behandlung; DNA-Schweiflänge: ohne Vorbehandlung zwischen 1-8 h nach der Behandlung ↑ (sign.); Vorbehandlung mit EndoIII: 3-8 h nach der Behandlung ↑; FPGI: 1-3 h nach Behandlung ↑	Ding et al. 2012
	I: 6 ♂/Gruppe, II: 6-7 ♂/Gruppe	II: 0, 2, 4, 8, 12, 16 mg/kg KG, Schlundsonde, 4 × (0, 24, 48, 69 h)	+		
DNA-Schäden, Knochenmark, (Comet-Assay, pH 13)	Ratte, Big Blue, 6 ♂/Gruppe	I: s.o.	-	II: Untersuchung 72 h nach Behandlung, DNA-Schweiflänge: ab 8 mg/kg KG: ohne Vorbehandlung ↑ (sign.); ab 4 mg/kg KG: Vorbehandlung mit EndoIII: ↑; ab 12 mg/kg KG: FPGI: ↑ Histopathologie: dosisabh. ↑: Apoptose, Hypertrophie, Nekrose, Leukozyten-Infiltration; Zellproliferation (Ki-67): dosisabh. ↑; Genexpression von funktionellen Genen der Apoptose, des Zellzyklus-Arrest und der DNA-Reparatur ab 2 mg/kg KG sign. verändert keine Änderung der DNA-Schweiflänge; kein Einfluss durch Vorbehandlung mit EndoIII oder FPGI	McDaniel et al. 2012
		II: s.o.	-		
DNA-Schäden, Leber, (Comet-Assay, pH 13)	Ratte, Big Blue, 6 ♂/Gruppe	0, 2, 8, 16, 30 mg/kg KG u. Tag, Schlundsonde, 5 d/w, 8 w	+ ab 16 mg/kg KG u. Tag	Untersuchung 24 h nach letzter Behandlung: Zytotoxizität vermutlich mit Ursache des pos. Befundes	

Tab. 8 (Fortsetzung)

Testsystem	Spezies	Dosis	Ergebnis	Bemerkung	Literatur
DNA-Schäden, Knochenmark, peri- pheres Blut (Comet Assay, pH 13)	Ratte, F344, 8 ♂/Gruppe	0; 0,1; 0,5; 2,0 mg/kg KG u. Tag, Schlundsonde, 5 d/w, 5, 28 Tage, 0; 2,0 mg/kg KG u. Tag, 5 d/w, 28 Tage mit 14 Tagen Erholung	-		Neuwirth et al. 2012
DNA-Schäden, Leber (Comet Assay, pH 13)			- +	ohne Erholung mit Erholung bei 2 mg/kg KG u. Tag	
CA, Knochenmark	Maus, B6C3Fl, 10 ♂/ Gruppe	0-350 mg/kg KG od. 0-250 mg/kg KG i.p. einmalig	- + (250 mg/kg KG)	Untersuchung 17 h nach i.p. Behandlung, Untersuchung 36 h nach i.p. Behandlung: Zyto- toxizität ab 250 mg/kg KG	NTP 1993
CA, Knochenmark	Ratte, F344, 3 ♂/Gruppe	0; 0,1; 0,5; 2,0 mg/kg KG u. Tag, 5 d/w, 5, 28 Tage, 0; 2,0 mg/kg KG u. Tag, 5 d/w, 28 Tage mit 14 Tagen Erholung	-	k.A. zur Zytotoxizität	Neuwirth et al. 2012
CA, Milzzellen (ex vivo)			+	5 d: CA ↑ bei 2 mg/kg KG u. d., 28 d: CA ↑ ab 0,5 mg/kg KG, 28 d + Erholung: CA ↑ bei 2 mg/kg KG, k.A. zur Zytotoxizität	

Tab. 8 (Fortsetzung)

Testsystem	Spezies	Dosis	Ergebnis	Bemerkung	Literatur
Genmutationen, Leber, <i>cII</i> -Transgen	Maus, B6C3F1 Big Blue, 5 ♀/Gruppe	0, 15 mg/kg KG, Schlundsonde, einmalig 1 ×/w, 3 w, 5 d/w, 6 w (die ersten zwei Gaben nur 8 mg/kg KG u. Tag)	–	Untersuchung 24 h nach letzter Behandlung: Serum ALT-Werte ↑ (sign. nach 1 ×, 3- und 6-wöchiger Beh.), Histopathologie: hepatozelluläre Nekrose mit reaktiven Leukozyten und nach 6-wöchiger Beh. atypische Mitosen (multipolar in Hepatozyten, verzögerter Zellzyklus und nichtkondensiertes Chromatin); Zellproliferation: Ki-67-positiv gefärbte Zellen ↑ (sign. nach 6-wöchiger Beh.), Kontrolle: Mortalität 2/5	Terrell et al. 2014
<i>cII</i> -Transgen; Mutationspektrum			+	<i>cII</i> -Mutationspektrum: GC→AT Transitionen ↓ (sign.), GC→CG Transversionen ↑ (n. sign.)	
<i>cII</i> -Transgen; Mutationspektrum			+	<i>cII</i> -Mutationspektrum: GC→AT Transitionen ↓ (um 50%, sign.), Transversionen ↑ (sign.), GC→TA (verdoppelt)	
Gen-Mutationspektrum	Maus, B6C3F1, Lebertumoren	60% der Furan-induzierten Lebertumoren an K-ras oder H-ras (außerhalb von Kodon 61) mutiert	+	<i>Hras</i> -Kodon 117: GC→CG u. GC→TA Transversionen; Autoren: direkte genotoxische Wirkung	Reynolds et al. 1987
Genmutationen, Leber, <i>cII</i> -Transgen	Ratte, Big Blue, 6 ♂/Gruppe	0, 2, 8, 16, 30 mg/kg KG u. Tag, Schlundsonde, 5 d/w, 1 od. 8 w 8 w	–	Untersuchung 24 h nach letzter Behandlung 30 mg/kg KG u. Tag: KG ↓ (am Ende um 18%); gefleckte, erdbeer-farbige Leber	McDaniel et al. 2012

Tab. 8 (Fortsetzung)

Testsystem	Spezies	Dosis	Ergebnis	Bemerkung	Literatur
Genmutationen, Gesamtblut, <i>Pig-a</i> (CD59-deficient)		8 w	–	30 mg/kg KG u. Tag: % RET ↑	
Genmutationen, Milzlymphozyten, <i>Pig-a</i> -Assay		8 w	–		
Genmutationen, Milzzellen (T-Lymphozyten), <i>Hprt</i> -Assay		8 w	–		
Genmutationen, Gesamtblut, <i>Pig-a</i> (CD59-deficient)		1 w	–	% RET: dosisabh. ↓ (n. sign.)	
Mikronukleus, Retikulozyten, Flow Cytometer		8 w	–	30 mg/kg KG und Tag: % RET ↑	
Mikronukleus, Retikulozyten, Flow Cytometer		1 w	–	% RET: dosisabh. ↓ (n. sign.)	
Mikronukleus, Milzzellen (ex vivo)	Maus, B6C3F ₁ , 4–5 ♂/Gruppe	0, 15, 100, 250 mg/kg KG, Schlundsonde einmalig	–	Untersuchung 3 h nach letzter Behandlung, keine Zytotoxizität	Leopardi et al. 2010
Mikronukleus, Milzzellen (ex vivo)	Maus, B6C3F ₁ , 6 ♂/Gruppe	0, 2, 4, 8 od. 15 mg/kg KG und Tag, Schlundsonde, 5 d/w, 28 Tage	+ ab 4 mg/kg KG	Untersuchung 24 h nach letzter Behandlung, keine Zytotoxizität; keine Anzeichen von Toxizität; Histologie der Milz: Veränderungen der weißen Pulpa (T-, B-Zelregion); keine Veränderung der apoptotischen Zellen	

Tab. 8 (Fortsetzung)

Testsystem	Spezies	Dosis	Ergebnis	Bemerkung	Literatur
Mikronukleus, Knochenmark Comet	Ratte, F344, 8 ♂/Gruppe	0; 0,1; 0,5; 2,0 mg/kg KG u. Tag, Schlundsonde, 5 d/w, 5, 28 Tage, 0; 2,0 mg/kg KG u. Tag, 5 d/w, 28 Tage mit 14 Tagen Erholung	–	k. A. zur Zytotoxizität	Neuwirth et al. 2012
Mikronukleus, Retikulozyten (peripheres Blut) Flow Cytometer	Maus, Balb/C, 2–3 ♂/ Gruppe, 5–6 ♂/ Gruppe, CBA, 4 ♂/Gruppe	I: 0, 50, 75, 90, 110, 125, 150, 175, 200, 250, 300 mg/ kg KG; intrapriritoneal II: 0, 150 od. 275 mg/kg KG, – subkutan III: 0, 225 mg/kg KG, – intrapriritoneal	–	Untersuchung 42 h nach letzter Behandlung; keine Dosis-Wirkungsbeziehung nachweisbar; I: 300 bzw. 275 mg/kg KG Zeichen von reduzier- ter physischer Aktivität; II: 275 mg/kg KG; 2 Tiere gestorben	Durling et al. 2007
Mikronukleus, Retikulozyten (peripheres Blut) Flow Cytometer	Ratte, F344, 6–7 ♂/ Gruppe	0, 2, 4, 8, 12, 16 mg/kg KG, Schlundsonde, 4× (0, 24, 48, 69 h)	–	Untersuchung 3 h nach letzter Behandlung, ab 12 mg/kg KG; % RET sign. ↓ Histopathologie: dosisabh. ↑: Apoptose, Hyper- trophie, Nekrose, Leukozyten-Infiltration; Zellproliferation (Ki-67): dosisabh. ↑; Genexpres- sion von funktionellen Genen der Apoptose, des Zellzyklus-Arrest und der DNA-Reparatur ab 2 mg/kg KG sign. verändert	Ding et al. 2012

EndoIII: Endonuclease III; FPGI: Formamidopyrimidine DNA Glycosylase; RET: Retikulozyten

Drosophila

Im SLRL-Test an *Drosophila* wurden keine X-Chromosomal-gebundenen Letalmutationen induziert (IARC 1995).

Säugetiere

In Leber und Nieren von Ratten wurden ^{14}C -markierte DNA-Addukte nach einmaliger Schlundsondengabe von Furan gefunden. Es wurden keine Addukte des Metaboliten cis-2-Buten-1,4-dial mit den Basen Adenin, Cytosin und Guanin nachgewiesen (Neuwirth et al. 2012). Weder eine Induktion an Schwesterchromatidaustauschen noch an unplanmäßiger DNA-Reparatur wurden durch i.p. bzw. Schlundsondengabe mit einmaligen Dosierungen von bis zu 350 bzw. 100 mg Furan/kg KG an Mäusen erhalten (Neuwirth et al. 2012; NTP 1993; Wilson et al. 1992). In der Leber von Mäusen und Ratten nahm die DNA-Schädigung im Comet-Assay nach einmaliger Schlundsondengabe bei 250 bzw. ab 16 mg/kg KG (Cordelli et al. 2010; Ding et al. 2012), nach 28-tägiger Schlundsondengabe mit 14-tägiger Erholungszeit bei 2 mg/kg KG und Tag (Neuwirth et al. 2012) sowie nach achtwöchiger Schlundsondengabe ab 8 mg/kg KG und Tag (McDaniel et al. 2012) zu. Hingegen wurden bei der Maus nach vierwöchiger Behandlung mit bis zu 15 mg/kg KG und Tag keine DNA-Strangbrüche in der Leber induziert (Cordelli et al. 2010), ebenso nicht in der Milz nach einmaliger bzw. vierwöchiger Behandlung per Schlundsondengabe (Leopardi et al. 2010). Bei der Ratte wurde keine Zunahme der DNA-Strangbrüche weder nach einmaliger Behandlung im Knochenmark (Ding et al. 2012) noch nach 5- bzw. 28-tägiger Behandlung in Knochenmark und Leber festgestellt (Neuwirth et al. 2012). Bei der Maus wurden nach vierwöchiger Schlundsondengabe ab 8 mg/kg KG und Tag und Proliferationsanregung durch Concanavalin A DNA-Schäden in der Milz beobachtet, die mittels γH2AX -Färbung nachgewiesen wurden (Leopardi et al. 2010), in der Leber hingegen bei bis zu 15 mg Furan/kg KG und Tag nicht (Cordelli et al. 2010). In Leber und Milz trat nach einmaliger Behandlung mit bis zu 15 mg/kg KG keine erhöhte Zahl an DNA-Crosslinks auf (Cordelli et al. 2010; Leopardi et al. 2010).

In der Leber der Maus nahm die Zahl an polyploiden Zellen nach vierwöchiger Schlundsondengabe von bis zu 15 mg/kg KG und Tag statistisch signifikant zu, die Methylierung veränderte sich nicht (Cordelli et al. 2010).

Im Knochenmark der Maus wurden 36 Stunden nach einmaliger i.p. Gabe von 250 mg/kg KG bei gleichzeitiger Zytotoxizität chromosomale Aberrationen induziert, nicht aber 17 Stunden nach Gabe von 350 mg/kg KG (NTP 1993). Bei der Ratte nahmen nach 28-tägiger Schlundsondengabe die chromosomalen Aberrationen in den Milzzellen ab 0,5 mg/kg KG und Tag zu, hingegen zeigte sich im Knochenmark weder eine Induktion an chromosomalen Aberrationen noch an Mikronuklei bei bis zu 2 mg/kg KG und Tag (Neuwirth et al. 2012).

Mikronuklei in zur Proliferation stimulierten Milzzellen wurden weder bei der Maus nach einmaliger und vierwöchiger Schlundsondengabe von bis zu 250 mg/kg KG bzw. 15 mg/kg KG und Tag (Leopardi et al. 2010) oder einmaliger i.p. oder s.c. Gabe von 300 bzw. 275 mg/kg KG induziert (Durling et al. 2007) noch bei der Ratte nach einmaliger, einwöchiger oder achtwöchiger Schlundsondengabe von bis zu 16 mg/kg KG

bzw. bis zu 30 mg/kg KG und Tag im peripheren Blut (Ding et al. 2012; McDaniel et al. 2012).

In Big-Blue-Ratten wurde bis zu 30 mg/kg KG und Tag keine Induktion von Genmutationen in der Leber im *cII*-Transgen, in den T-Lymphozyten der Milz im *Hprt*-Gen und im peripheren Blut im *Pig-a*-Gen gefunden (McDaniel et al. 2012). Bei Big-Blue-Mäusen zeigte sich bis zu 15 mg/kg KG und Tag in der Leber ebenfalls keine Zunahme an Genmutationen im *cII*-Transgen, allerdings war das Mutationsspektrum verschoben. Es traten vermehrt Transversionen von GC zu AT auf, die aber nicht statistisch signifikant waren, und vermindert Transitionen von GC zu AT (stat. sign.) (Terrell et al. 2014). In 60% der Furan-induzierten Lebertumoren wiesen die Tumoren eine Verschiebung des Mutationsspektrums im Onkogen *Hras* im Codon 117 von G zu T und G zu C Transversionen auf, die die Autoren als direkte genotoxische Wirkung interpretierten (Reynolds et al. 1987).

Fazit: In vitro zeigt Furan ein klastogenes Potenzial und der Metabolit cis-2-Buten-1,4-dial ist in dem Aldehyd-sensitiven Salmonella-Stamm TA104 mutagen. Außerdem bildet cis-2-Buten-1,4-dial in vitro Addukte mit Desoxyribonukleotiden von Guanin, Cytosin und Adenin. Schließlich treten in aktivierten Onkogenen Furan-induzierter Lebertumoren Mutationen auf, die in spontanen Lebertumoren nicht beobachtet werden (Begründung 2006).

Zusammen mit den neuen Daten ergibt sich Folgendes:

Die uneinheitlichen In-vitro-Genotoxizitätstests mit Furan werden durch den niedrigen Siedepunkt, die Wahl der Zelllinie, das Fehlen geeigneter Aktivierungsenzyme (CYP2E1 fehlt in L5178Y-Zellen und ist in standard-induziertem Rattenleber-S9 nur in geringer Aktivität vorhanden) oder die Anwesenheit von Entgiftungssystemen beeinflusst. Der reaktive Metabolit des Furans, cis-2-Buten-1,4-dial, ist in vitro mutagen. Allerdings erschwert die hohe chemische Reaktivität des cis-2-Buten-1,4-dials den Nachweis der eindeutigen Verbindung zwischen dem Metabolismus des Furans und einer genotoxischen Wirkung in der Zelle. In vielen Testsystemen wird Furan extrazellulär aktiviert. Da cis-2-Buten-1,4-dial mit den Protein-Nukleophilen schnell reagiert, erreicht es wahrscheinlich nicht die Kern-DNA.

Die In-vivo-Genotoxizitätstests ergeben für Furan in den meisten Untersuchungen negative Ergebnisse. Es werden weder eine Zunahme von DNA-Schäden in Knochenmark und Milz, Mikronuklei in Blut und Milz noch Mutationen im *Hprt*-Gen in der Milz, im *Pig-a*-Gen in Blut und Milz sowie im *cII*-Transgen in der Leber von Big-Blue-Ratten und Mäusen festgestellt. Am Zielorgan Leber werden DNA-Schäden im Comet-Assay für Ratte und Maus sowie bei der Maus eine Verschiebung des Mutationsspektrums von GC zu TA Transversionen beobachtet.

In welchem Maße Furan in vitro oder in vivo metabolisiert wird, ist nicht bekannt. Somit besteht die Möglichkeit, dass so wenig Furan umgesetzt wird, dass die Empfindlichkeit der Testsysteme nicht ausreicht (auch mit den empfindlichsten Methoden), um eine genotoxische Wirkung zu detektieren (Durling et al. 2007).

Zum Metaboliten von Furan, dem cis-2-Buten-1,4-dial, liegen nur In-vitro-Daten vor. Diese zeigen, dass für den engen Konzentrationsbereich, in dem die Genotoxizität untersucht werden kann, für cis-2-Buten-1,4-dial ein genotoxischer Beitrag bei der Entstehung der Tumoren durch Furan nicht vollkommen ausgeschlossen werden

kann. Konzentrationen, die eine Verdopplung der Kontrollwerte in den Genotoxizitätstests hervorrufen, sind assoziiert mit einer Abnahme der Plating Efficiency, des relativen Wachstums und der Überlebensfähigkeit. Die Zytotoxizität des *cis*-2-Buten-1,4-dials scheint der dominierende Faktor bei der Toxizität und der Kanzerogenität zu sein (Kellert et al. 2008).

Insgesamt induziert Furan GC zu TA Transversionen im *cII*-Transgen in der Leber und wirkt bei zytotoxischen Dosierungen, die mit einer Entzündung und Zellproliferation einhergehen, durch sekundäre Mechanismen genotoxisch.

5.7 Kanzerogenität

Wie in der Begründung von 2006 dargestellt, kam es in der NTP-Kanzerogenitätsstudie an F344-Ratten ab der niedrigsten Dosierung von 2 mg/kg KG und Tag zu Cholangiokarzinomen (86–98%), bei höheren Dosierungen auch zu hepatozellulären Adenomen oder Karzinomen sowie mononukleärer Leukämie und Schäden am hämatopoetischen System. Bei Mäusen traten ab der niedrigsten Dosis von 8 mg/kg KG und Tag ebenfalls hepatozelluläre Adenome oder Karzinome und Phäochromozytome im Nebennierenmark auf.

Seitdem wurden neue Untersuchungen durchgeführt (siehe Tabelle 9).

In einer oralen 2-Jahre-Studie mit weiblichen B6C3F1-Mäusen, in der nur die Leber histopathologisch untersucht wurde, wurden in den unteren Dosisgruppen mehr Tiere eingesetzt, um den Beginn der Lebertoxizität besser belegen zu können. Ab 0,5 mg/kg KG und Tag trat dosisabhängig Lebertoxizität auf, ab 4 mg/kg KG und Tag war die Inzidenz hepatozellulärer Adenome oder Karzinome signifikant erhöht und bei 8 mg/kg KG und Tag die Inzidenz hepatozellulärer Karzinome (Moser et al. 2009).

Da weibliche und männliche F344-Ratten in der 2-Jahre-Schlundsondenstudie von NTP (1993) ähnlich empfindlich reagierten, wurden in einer neuen 2-Jahre-Schlundsondenstudie mit Dosierungen von 0,02 bis 2 mg/kg KG und Tag nur männliche Tiere eingesetzt. Nur bei 2 mg/kg KG und Tag traten mit gerade signifikanter Inzidenz maligne Mesotheliome in Epididymis oder Testis und ab 0,2 mg/kg KG und Tag eine erhöhte Inzidenz an mononukleärer Leukämie auf, die jedoch im Bereich von Mittelwert und Standardabweichung der historischen Kontrollen dieses Labors liegt und daher eher nicht der Furan-Behandlung zugeschrieben wird. Um die Möglichkeit des Nachweises von Befunden bei niedriger Dosierung zu verstärken, wurden in den unteren Dosisgruppen mehr Tiere eingesetzt (150 oder 100 pro Dosis). Ziel der Studie war es, die Dosis-Wirkungs-Beziehung der Cholangiokarzinome zu bestimmen. Die Identifizierung von Cholangiokarzinomen erfolgte nach den Kriterien, die von Thoolen et al. (2010) aufgestellt wurden. Nach diesen Kriterien traten bei männlichen F344-Ratten keine Cholangiokarzinome auf. Eine Nachuntersuchung von 23 Lebern der 2-mg/kg-Gruppe aus der NTP-Studie von 1993 nach den Kriterien von Thoolen et al. (2010) ergab, dass nur in drei Lebern das Auftreten von Cholangiokarzinomen bestätigt werden konnte (bei NTP (1993): 43/50). Eine Nachuntersuchung von 6 Lebern der 8-mg/kg-Gruppe der NTP-Studie von 1993 nach den Kriterien von Thoolen et al. (2010) bestätigte bei allen Tieren das Auftreten von Cholangiokarzinomen (FDA 2015).

Tab. 9 Studien zur Kanzerogenität von Furan

Autor:	Moser et al. 2009							
Stoff:	Furan (99% rein)							
Spezies:	Maus, B6C3F1, je 50 ♀							
Applikation:	oral							
Konzentration:	0, 0,5 (n = 100); 1 (n = 75); 2; 4; 8 mg/kg KG u. Tag							
Dauer:	2 Jahre, 5 Tage/Woche							
Toxizität:	ab 0,5 mg/kg KG: dosisabhängige Lebertoxizität							
Dosis (mg/kg KG und Tag)								
Überlebende		0	0,5	1	2	4	8	
	♀	33/50 (66%)	69/100 (69%)	45/75 (60%)	40/50 (81%)	32/50 (64%)	27/50 (54%)	
Tumoren und Präneoplasien in der Leber								
Noduli	♀	2/25 (8%)	17–20% (k. w. A.)	17–20% (k. w. A.)	17–20% (k. w. A.)	15/25 (60%)*	22/22 (100%)*	
veränderte Hepatozyten terminale Rate	♀	3/25 (12%)	5/55 (9%)	4/36 (11%)	5/31 (16%)	10/25 (40%)*	13/22 (59%)*	
hepatozelluläre Adenome terminale Rate	♀	3/25 (12%)	3/55 (5%)	4/36 (11%)	3/31 (10%)	8/25 (32%)*	18/22 (82%)*	
hepatozelluläre Karzinome terminale Rate	♀	0/25 (0%)	2/55 (4%)	1/36 (3%)	1/31 (3%)	1/25 (4%)	6/22 (27%)*	
hepatozelluläre Adenome oder Karzinome terminale Rate	♀	3/25 (12%)	5/55 (9%)	5/36 (14%)	4/31 (13%)	9/25 (36%)*	14/22 (64%)*	

*: p<0,05;

Tab. 9 (Fortsetzung)

Autor:	FDA 2015							
Stoff:	Furan (99,5% rein)							
Spezies:	Ratte, F344, je 50 ♂ wenn nicht anders angegeben							
Applikation:	Schlundsonde							
Konzentration:	0 (n = 190); 0,02 (n = 180); 0,044 (n = 130); 0,092 (n = 130); 0,2; 0,44; 0,92; 2 mg/kg KG u. Tag um geringe Effekte bei niedriger Dosierung nachweisen zu können,							
	Zwischenuntersuchung nach 9 (n = 20) u. 15 (n = 10) Monaten ohne neoplastische Befunde							
Dauer:	2 Jahre, 5 Tage/Woche							
Toxizität:	ab 0,2 mg/kg KG: dosisabhängige Lebertoxizität							
	Dosis (mg/kg KG und Tag)							
	0	0,02	0,044	0,092	0,2	0,44	0,92	2
Überlebende	45/150 (30%)	42/150 (28%)	28/100 (28%)	28/100 (28%)	16/50 (32%)	13/50 (26%)	12/50 (24%)	08/50 (16%)
Tumoren und Präneoplasien								
maligne Mesotheliome ^{a)}								
Epididymis	6/149 (4%)	8/149 (5%)	1/98 (1%)	2/100 (2%)	0/50 (0%)	2/50 (4%)	2/50 (4%)	5/50 (10%)
Testis	5/150 (3%)	7/149 (5%)	1/98 (1%)	1/100 (1%)	0/50 (0%)	2/49 (4%)	2/50 (4%)	4/50 (8%)
Epididymis oder Testis	6/150 (4%)	8/150 (5%)	1/98 (1%)	2/100 (2%)	0/50 (0%)	2/50 (4%)	2/50 (4%)	6/50 (12%)*
alle Organe ^{b)}	6/150 (4%)	9/150 (6%)	1/100 (1%)	2/100 (2%)	0/50 (0%)	3/50* (6%)	2/50 (4%)	6/50 (12%)*
mononukleäre Leukämie ^{c)}								
Overall rate	47/150 (31%)	56/150 (37%)	36/100 (36%)	44/100 (44%)*	29/50 (58%)**	18/50 (36%)	27/50 (54%)*	28/50 (56%)**

*: p<0,05; **: p<0,01 (Poly-3-test);
^{a)}: historische Kontrolle in diesem Labor von 1988–2014: 31/742 (4,2%; 0,0–6,4%);
^{b)}: mit Mesotheliom des Herzvorhofes;
^{c)}: historische Kontrolle in diesem Labor von 1988–2014: 348/742 (46,9%; 31,3–64,6%)

6 Bewertung

Inhalationsstudien fehlen. Kritischer Effekt der Furan-Wirkung nach oraler Gabe ist die Toxizität, vor allem in der Leber von Ratten und Mäusen und in den Gallengängen der Ratte, die bei Langzeitexposition zu Karzinomen führt.

Krebserzeugende Wirkung. Aus der Gesamtschau der in der Begründung von 2006 dargestellten und der seither veröffentlichten Untersuchungen lässt sich schließen, dass eine geringe Genotoxizität von Furan nur bei toxischen Dosierungen beobachtet wird und somit als sekundäre Wirkung zu sehen ist. Es liegen nun auch Untersuchungen im niedrigen Dosisbereich vor, die negativ sind. Aus den 13-Wochen-Schlundsondenstudien mit Ratten (Gill et al. 2010) und Mäusen (Gill et al. 2011) geht hervor, dass die Hepatozyten bei geringeren Dosierungen geschädigt werden als die Gallengangszellen (siehe Abschnitt 5.2.2). In 2-Jahre-Schlundsondenstudien mit männlichen F344-Ratten (FDA 2015) und weiblichen B6C3F1-Mäusen (Moser et al. 2009) gibt es Dosierungen ohne kanzerogene Wirkung. Bei Ratten wird ein NOAEL von 0,092 mg Furan/kg KG und Tag erhalten, bei Mäusen tritt bei der niedrigsten getesteten Dosis von 0,5 mg/kg KG subkapsuläre Entzündung in der Leber auf. In der 13-Wochen-Studie ist der NOAEL für Mäuse 0,12 mg/kg KG und Tag. Da für Mäuse und Ratten NOAEL vorliegen und ein nicht-genotoxischer Wirkungsmechanismus als Ursache der kanzerogenen Wirkung angesehen wird, wird Furan in die Kategorie 4 für Kanzerogene umgestuft, und ein MAK-Wert kann festgelegt werden.

Keimzellmutagene Wirkung. In In-vitro-Untersuchungen zeigt Furan ein klastogenes Potenzial. Der Metabolit cis-2-Buten-1,4-dial wirkt in vitro mutagen und klastogen, wird in vivo jedoch schnell inaktiviert. In vivo induziert Furan GC zu TA Transversionen im *cII*-Transgen in der Leber und wirkt erst bei zytotoxischen Dosierungen genotoxisch über sekundäre Mechanismen, die mit Entzündung und Zellproliferation einhergehen. Untersuchungen an Keimzellen liegen nicht vor. Auch in Toxizitätsstudien treten Schäden an Ovar und Testes nur dann auf, wenn die Tiere hoch exponiert sind und bereits massive Leberschäden aufweisen. Es erfolgt daher weiterhin keine Einstufung in eine der Kategorien für Keimzellmutagene.

MAK-Wert. Die Schlundsondengabe von Furan in niedrigen Dosierungen führt bei Ratten und Mäusen zu Lebertoxizität. Bei F344-Ratten treten nach 13 Wochen ab 0,12 mg/kg KG und Tag bei den männlichen Tieren Entzündungen und Apoptosen der Hepatozyten auf (Gill et al. 2010), nach 2 Jahren ab 0,2 mg/kg KG und Tag Cholangiofibrose (FDA 2015), die nach 13 Wochen erst ab 2 mg/kg KG und Tag beobachtet werden. Eine zunehmende Wirkung mit längerer Expositionsdauer zeigt sich auch darin, dass bei 0,44 mg/kg KG und Tag nach 9 Monaten 30% der Tiere und nach 15 Monaten 100% der Tiere betroffen sind. Der NOAEL beträgt 0,092 mg/kg KG und Tag.

Die bei F344-Ratten in der 13-Wochen-Studie beobachteten Entzündungen und Apoptosen der Hepatozyten traten in der 2-Jahre-Studie mit F344-Ratten nicht auf. Dies könnte an genetischen Unterschieden der F344-Stämme liegen, die von unterschiedlichen Züchtern stammten. Es könnte sich aber auch um vorübergehende

Effekte handeln, die bei längerfristiger Gabe von Furan von der Leber kompensiert werden können. Da Apoptosen in der 2-Jahre-Studie auch in der Zwischenuntersuchung nach 9 Monaten nicht gefunden wurden (Beland 2016; FDA 2015), ist eine solche Bewertung nicht belegbar. Die Entzündungen und Apoptosen in den Hepatozyten von F344-Ratten nach 13-wöchiger Furan-Gabe werden daher als Ausgangspunkt für die Ableitung des MAK-Wertes herangezogen. Der NOAEL für diesen Effekt liegt bei 0,03 mg/kg KG und Tag.

Zur toxikokinetischen Übertragung dieses NOAEL in eine Konzentration in der Luft am Arbeitsplatz werden berücksichtigt: der dem toxikokinetischen Unterschied zwischen der Ratte und dem Menschen entsprechende speziesspezifische Korrekturwert (1:4), die nachgewiesene orale Resorption (100%), das Körpergewicht (70 kg) und das Atemvolumen (10 m^3) des Menschen sowie die nachgewiesene 90%ige inhalative Resorption. Damit errechnet sich eine entsprechende Luftkonzentration von $0,06 \text{ mg/m}^3$ bzw. $0,021 \text{ ml/m}^3$. Auf die Berücksichtigung einer Wirkungsverstärkung mit der Zeit wird verzichtet, weil der Effekt in der chronischen Studie nicht auftritt.

Ein PBPK-Modell für den Menschen ergibt, dass dieser bei einer 4-stündigen Exposition gegen 10 ml/m^3 3- bzw. 10-mal weniger gegen den toxischen Metaboliten cis-2-Buten-1,4-dial exponiert ist als Ratte oder Maus. Der geschwindigkeitsbestimmende Schritt der Reaktion ist der Transport von Furan in die Leber und nicht die Metabolisierung zum Dialdehyd (Kedderis und Held 1996). Daher haben interindividuelle Unterschiede in der Expression des Enzyms CYP2E1 beim Menschen keinen Einfluss auf die Konzentration von cis-2-Buten-1,4-dial in der Leber. Der Mensch ist nach diesen Berechnungen bei gleicher Expositionskonzentration geringer mit Furan bzw. seinem Metaboliten belastet als Ratte und Maus. Somit wird auf den üblichen Abstand zwischen NOAEL aus dem Tierversuch und dem MAK-Wert verzichtet, und der MAK-Wert für Furan wird auf $0,02 \text{ ml/m}^3$ festgesetzt.

Angesichts dieses niedrigen Wertes, der weit unter dem MAK-Wert des reizend wirkenden Chlorwasserstoffs von 2 ml/m^3 liegt, ist bei Exposition in Höhe des MAK-Wertes von Furan eine Reizwirkung trotz fehlender Daten nicht anzunehmen. Da der MAK-Wert aus einer oralen Studie berechnet und gezeigt worden ist, dass nach Inhalation die Konzentration in der Leber niedriger als im Blut ist, anders als bei oraler Applikation (Churchwell et al. 2015), schützt der MAK-Wert auch vor lokaler Wirkung am Atemtrakt.

Spitzenbegrenzung. Die Spitzenbegrenzung erfolgt nach Kategorie II, da der MAK-Wert aus einer systemischen Wirkung abgeleitet ist. Furan wird schnell ausgeschieden (85% innerhalb von 24 Stunden; Begründung 2006), die Halbwertszeit des reaktiven Metaboliten cis-2-Buten-1,4-dial ist jedoch unbekannt. Daher wird der Basis-Überschreitungsfaktor von 2 festgelegt.

Fruchtschädigende Wirkung. Hierzu liegen weiterhin keine Untersuchungen vor. Daher wird Furan der Schwangerschaftsgruppe D zugeordnet.

Hautresorption. Untersuchungen zur dermalen Resorption des Furans liegen nicht vor. Bei Exposition in Höhe des MAK-Werts werden bei 10 m^3 Atemvolumen und 90%iger Resorption ca. 0,5 mg aufgenommen. Unter den Standardbedingungen,

eine Stunde Exposition von 2000 cm² Hautoberfläche gegen eine gesättigte wässrige Lösung, werden nach Modellberechnungen mindestens 126 mg aufgenommen. Daher kann die dermale Aufnahme signifikant zur Toxizität von Furan beitragen, und der Stoff wird weiterhin mit „H“ markiert.

Sensibilisierende Wirkung. Zur sensibilisierenden Wirkung liegen keine klinischen Befunde oder Ergebnisse aus experimentellen Untersuchungen am Tier vor, so dass Furan weiterhin weder mit „Sh“ noch mit „Sa“ markiert wird.

7 Literatur

- Beland F (2016) Detektion von Hepatozyten-Apoptosen in der 2-Jahre-Studie an männlichen F344-Ratten von FDA (2015). Mitteilung an die Kommission vom 16.02.2016
- Byrns MC, Vu CC, Neidigh JW, Abad J-L, Jones RA, Peterson LA (2006) Detection of DNA adducts derived from the reactive metabolite of furan, cis-2-butene-1,4-dial. *Chem Res Toxicol* 19: 414–420
- Carthew P, DiNovi M, Woodrow Setzer R (2010) Application of the margin of exposure (MoE) approach to substances in food that are genotoxic and carcinogenic, Example: Furan (CAS No. 110-00-9). *Food Chem Toxicol* 48: S69–S74
- Chen T, Mally A, Ozden S, Chipman JK (2010) Low dose of the carcinogen furan alter cell cycle and apoptosis gene expression in rat liver independent of DNA methylation. *Environ Health Perspect* 118: 1597–1602
- Chen T, Williams TD, Mally A, Hamberger C, Mirbahai L, Hickling K, Chipman JK (2012) Gene expression and epigenetic changes by furan in rat liver. *Toxicology* 292: 63–70
- Churchwell MI, Scheri RC, Von Tungeln LS, Gamboa da Costa G, Beland FA, Doerge DR (2015) Evaluation of serum and liver toxicokinetics for furan and liver DNA adduct formation in male Fischer 344 rats. *Food Chem Toxicol* 86: 1–8
- de Conti A, Kobets T, Escudero-Lourdes C, Montgomery B, Tryndyak V, Beland FA, Doerge DR, Pogribny IP (2014) Dose- and time-dependent epigenetic changes in the livers of Fisher 344 rats exposed to furan. *Toxicol Sci* 139: 371–308
- Cooke GM, Taylor M, Bourque C, Curran I, Gurofsky S, Gill S (2014) Effects of furan on male rat reproduction parameters in a 90-day gavage study. *Reprod Toxicol* 46: 85–90
- Cordelli E, Leopardi P, Villani P, Marcon F, Macri C, Caiola S, Siniscalchi E, Conti L, Eleuteri P, Malchiodi-Albedi F, Crebelli R (2010) Toxic and genotoxic effects of oral administration of furan in mouse liver. *Mutagenesis* 25: 305–314
- Ding L, Sullivan MM, Phillips MB, Peterson LA (2009) Degraded protein adducts of cis-2-butene-1,4-dial are urinary and hepatocyte metabolites of furan. *Chem Res Toxicol* 22: 997–1007
- Ding W, Petibone DM, Latendresse JR, Pearce MG, Muskhelishvili L, White GA, Chang CW, Mittelstaedt RA, Shaddock JG, McDaniel LP, Doerge DR, Morris SM, Bishop ME, Manjanatha MG, Aidoo A, Heflich RH (2012) In vivo genotoxicity of furan in F344 rats at cancer bioassay doses. *Toxicol Appl Pharmacol* 261: 164–171
- Durling LJK, Svensson K, Abramsson-Zetterberg L (2007) Furan is not genotoxic in the micro-nucleus assay in vivo or in vitro. *Toxicol Lett* 169: 43–50
- ECHA (European Chemicals Agency) (2015) Information on registered substances. Dataset on furan (CAS Number 110-00-9), joint submission, first publication 17.05.2013, last modificati-

- on 03.08.2015,
<http://echa.europa.eu/web/guest/information-on-chemicals>
- FDA (Food and Drug Administration)) (2015) Two-year carcinogenicity bioassay of furan in F344 rats. US FDA, NCTR, Technical report for NCTR experiment no. E2168.01 (test no. E2168.02), 04.09.2015, NCTR, Jefferson, AR, USA
- Fiserova-Bergerova V, Pierce JT, Droz PO (1990) Dermal absorption potential of industrial chemicals: criteria for skin notation. *Am J Ind Med* 17: 617–635
- Gill S, Bondy G, Lefebvre DE, Becalski A, Kavanagh M, Hou Y, Turcotte M, Barker M, Weld M, Vavasour E, Cooke GM (2010) Subchronic oral toxicity study of furan in Fischer-344 rats. *Toxicol Pathol* 38: 619–630
- Gill S, Kavanagh M, Barker M, Weld M, Vavasour E, Hou Y, Cooke GM (2011) Subchronic oral toxicity study of furan in B6C3F1 mice. *Toxicol Pathol* 39: 787–794
- Guy RH, Potts RO (1993) Penetration of industrial chemicals across the skin: a predictive model. *Am J Ind Med* 23: 711–719
- Hamberger C, Kellert M, Schauer UM, Dekant W, Mally A (2010) Hepatobiliary toxicity of furan: identification of furan metabolites in bile of male F344/N rats. *Drug Metab Dispos* 38: 1698–1706
- Hickling KC, Hitchcock JM, Chipman JK, Hammond TG, Evans JG (2010 a) Induction and progression of cholangiofibrosis in rat liver injured by oral administration of furan. *Toxicol Pathol* 38: 213–229
- Hickling KC, Hitchcock JM, Oreffo V, Mally A, Hammond TG, Evans JG, Chipman JK (2010 b) Evidence of oxidative stress and associated DNA damage, increased proliferative drive, and altered gene expression in rat liver produced by the cholangiocharcinogenic agent furan. *Toxicol Pathol* 38: 230–243
- IARC (International Agency for Research on Cancer) (1995) Furan. IARC monographs on the evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to humans, Band 63, IARC, Lyon, FR, 393–407
- Jackson AF, Williams A, Recio L, Waters MD, Lambert IB, Yauk CL (2014) Case study on the utility of hepatic global gene expression profiling in the risk assessment of the carcinogen furan. *Toxicol Appl Pharmacol* 274: 63–77
- Kedderis GL, Held SD (1996) Prediction of furan pharmacokinetics from hepatocyte studies: comparison of bioactivation and hepatic dosimetry in rats, mice, and humans. *Toxicol Appl Pharmacol* 140: 124–130
- Kedderis GL, Carfagna MA, Held SD, Batra R, Murphy JE, Gargas ML (1993) Kinetic analysis of furan biotransformation by F-344 rats in vivo and in vitro. *Toxicol Appl Pharmacol* 123: 274–282
- Kellert M, Brink A, Richter I, Schlatter J, Lutz WK (2008) Tests for genotoxicity and mutagenicity of furan and its metabolite cis-2-butene-1,4-dial in L5178Y tk+/- mouse lymphoma cells. *Mutat Res* 657: 127–132
- Leopardi P, Cordelli E, Villani P, Cremona TP, Conti L, De Luca G, Crebelli R (2010) Assessment of in vivo genotoxicity of the rodent carcinogen furan: evaluation of DNA damage and induction of micronuclei in mouse splenocytes. *Mutagenesis* 25: 57–62
- Lu D, Sullivan MM, Phillips MB, Peterson LA (2009) Degraded protein adducts of cis-2-butene-1,4-dial are urinary and hepatocyte metabolites of furan. *Chem Res Toxicol* 22: 997–1007
- McDaniel LP, Ding W, Dobrovolsky VN, Shaddock JG Jr, Mittelstaedt RA, Doerge DR, Heflich RH (2012) Genotoxicity of furan in Big Blue rats. *Mutat Res* 742: 72–78
- McGregor DB, Brown A, Cattaneach P, Edwards I, McBride D, Riach C, Caspary WJ (1988) Responses of the L5178Y tk+/tk--mouse lymphoma cell forward mutation assay: III 72 coded chemicals. *Environ Mol Mutagen* 12: 85–154

- Moro S, Chipman JK, Antczak P, Turan N, Dekant W, Falciani F, Mally A (2012) Identification and pathway mapping of furan target proteins reveal mitochondrial energy production and redox regulation as critical targets of furan toxicity. *Toxicol Sci* 126: 336–352
- Mortelmans K, Haworth S, Lawlor T, Speck, W, Tainer B, Zeiger E (1986) Salmonella mutagenicity tests: II Results from the testing of 270 chemicals. *Environ Mutagen* 8, Suppl 7: 1–119
- Moser GJ, Foley J, Burnett M, Goldsworthy TL, Maronpot R (2009) Furan-induced dose–response relationships for liver cytotoxicity, cell proliferation, and tumorigenicity (furan-induced liver tumorigenicity). *Exp Toxicol Pathol* 61: 101–111
- Neuwirth C, Mosesso P, Pepe G, Fiore M, Malfatti M, Turteltaub K, Dekant W, Mally A (2012) Furan carcinogenicity: DNA binding and genotoxicity of furan in rats in vivo. *Mol Nutr Food Res* 56: 1363–1374
- NTP (National Toxicology Program) (1993) Toxicology and carcinogenesis studies of furan (CAS Nr. 110-00-9) in F344/N rats and B6C3F1 mice (Gavage Studies). Technical Report Series No. 402, US Department of Health and Human Services, National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA,
<http://ntp.niehs.nih.gov/ntp/htdocs/lttrpts/tr402.pdf>
- Peterson LA, Naruko KC, Predecki DP (2000) A reactive metabolite of furan, cis-2-butene-1,4-dial, is mutagenic in the ames assay. *Chem Res Toxicol* 13: 531–534
- Peterson LA (2006) Electrophilic intermediates produced by bioactivation of furan. *Drug Metab Rev* 38: 615–626
- Peterson L, Phillips MB, Lu C, Sullivan MM (2011) Polyamines are traps for reactive intermediates in furan metabolism. *Chem Res Toxicol* 24: 1924–1936
- Reynolds SH, Stowers SJ, Patterson RM, Maronpot RR, Aaronson SA, Anderson MW (1987) Activated oncogenes in B6C3F1 mouse liver tumors: implications for risk assessment. *Science* 237: 1309–1316
- Stich HF, Rosin MP, Wu CH, Powrie WD (1981) Clastogenicity of furans found in food. *Cancer Lett* 13: 89–95
- Terrell AN, Huynh M, Grill AE, Kovi RC, O’Sullivan MG, Guttentplan JB, Ho Y-Y, Peterson LA (2014) Mutagenicity of furan in female Big Blue B6C3F1 mice. *Mutat Res Genet Toxicol Environ Mutagen* 770: 46–54
- Thoolen B, Maronpot RR, Harada T, Nyska A, Rousseaux C, Nolte T, Malarkey DE, Kaufmann W, Küttler K, Deschl U, Nakae D, Gregson R, Vinlove MP, Brix AE, Singh B, Belpoggi F, Ward JM (2010) Proliferative and nonproliferative lesions of the rat and mouse hepatobiliary system. *Toxicol Pathol* 38: 5S–81S
- WHO (World Health Organization) (2011) Furan. In: Safety evaluation of certain contaminants in food, FAO JECFA Monograph 8, WHO food additives series, 63, WHO, Genf, 487–603, <http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v63je01.pdf>
- Wilschut A, ten Berge WF, Robinson PJ, McKone TE (1995) Estimating skin permeation. The validation of five mathematical skin permeation models. *Chemosphere* 30: 1275–1296
- Wilson DM, Goldsworthy TL, Popp JA, Butterworth BE (1992) Evaluation of genotoxicity, pathological lesions, and cell proliferation in livers of rats and mice treated with furan. *Environ Mol Mutagen* 19: 209–222

abgeschlossen am 24.02.2016