

The MAK Collection for Occupational Health and Safety

Methylstyrol (Vinyltoluol) (alle Isomere)

MAK-Begründung, Nachtrag

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

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

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

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

Keywords: Methylstyrol; MAK-Wert; maximale Arbeitsplatzkonzentration; Spitzenbegrenzung; Reizwirkung; Nase

Citation Note: Hartwig A, MAK Commission. Methylstyrol (Vinyltoluol) (alle Isomere). MAK-Begründung, Nachtrag. MAK Collect Occup Health Saf [Original-Ausgabe. Weinheim: Wiley-VCH; 2017 Mai;2(2):667-696]. Korrigierte Neuveröffentlichung ohne inhaltliche Bearbeitung. Düsseldorf: German Medical Science; 2026. https://doi.org/10.34865/mb2501315isd0063_w

Neuveröffentlichung (Online): 07 Aug 2026

Vormals erschienen bei Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA; <https://doi.org/10.1002/3527600418.mb2501315isd0063>

Addendum abgeschlossen: 12 Apr 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.

Methyl styrene (vinyl toluene) (all isomers) / ethenylmethylbenzene [Methylstyrol]

MAK Value Documentation in German language

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

DOI: 10.1002/3527600418.mb2501315isd0063

Abstract

The German Commission for the Investigation of Health Hazards of Chemical Compounds in the Work Area has re-evaluated methyl styrene [25013-15-4] considering all toxicological endpoints and revised the maximum concentration at the workplace (MAK value). Publications are described in detail.

In long-term inhalation studies with methyl styrene, inflammation and hyperplasia were observed in nasal tissue of rats and mice with LOAECs of 100 ml/m³ and 10 ml/m³, respectively. As was shown with styrene, the reason for mice being more susceptible than rats is differences in the rates of phase I and phase II metabolism. While the rate of oxidation to the epoxide is almost the same in rats and mice, the detoxification via epoxide hydrolase and GSH-transferase is about 10-fold faster in rats than in mice. In human nasal tissue in vitro, oxidation of styrene is minimal but metabolization via epoxide hydrolase and GSH-transferase occurs at almost the same rate as in rat nasal tissue. Therefore, humans are much less sensitive to nasal effects of styrene and this species difference is assumed to be the same for the similarly metabolized methyl styrene. The MAK value is derived from the LOAEC in rats and set at 20 ml methyl styrene/m³. Due to the local effect being critical, the substance is assigned to Peak Limitation Category I. As there was no sensory irritation in volunteers with methyl styrene at 50 ml/m³, the excursion factor is 2.

Methyl styrene has a limited genotoxic potential only at systemically toxic doses, and 2-year carcinogenicity studies were negative.

Dermal absorption does not contribute significantly to the systemic toxicity and investigations in humans and animals do not indicate a significant sensitizing effect.

Because 3 studies on the developmental toxicity of methyl styrene are only available as summaries and the reason for the differing effects cannot be evaluated, methyl styrene is assigned to Pregnancy Risk Group D.

Keywords

2-Methylstyrol; 3-Methylstyrol; 4-Methylstyrol; Ethenylmethylbenzene; 1-Ethenyl-2-methylbenzene; 1-Ethenyl-3-methylbenzene; 1-Ethenyl-4-methylbenzene; Ethenylmethylbenzol; Methylvinylbenzol; Vinyltoluol; Wirkungsmechanismus; Toxikokinetik; Metabolismus; (sub)akute Toxizität; (sub)chronische Toxizität; Reizwirkung; allergene Wirkung; Reproduktionstoxizität; Fertilität; Entwicklungstoxizität; 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)

Methylstyrol (Vinyltoluol) (alle Isomere)

[25013-15-4]

Nachtrag 2017

MAK-Wert (2016)	20 ml/m³ (ppm) $\triangleq$ 98 mg/m³
Spitzenbegrenzung (2002)	Kategorie I, Überschreitungsfaktor 2

Hautresorption	–
Sensibilisierende Wirkung	–
Krebserzeugende Wirkung	–
Fruchtschädigende Wirkung (2016)	Gruppe D
Keimzellmutagene Wirkung	–
BAT-Wert	–

Synonyma	Ethenylmethylbenzol Methylvinylbenzol Vinyltoluol
Chemische Bezeichnung	Methylstyrol
CAS-Nr. Isomerengemisch	25013-15-4
2-Methylstyrol	611-15-4
3-Methylstyrol	100-80-1
4-Methylstyrol	622-97-9
Molmasse	118,18 g/mol
Schmelzpunkt Isomerengemisch	–76,7°C (US EPA 2010)
3-Methylstyrol	–86,3°C (US EPA 2010)
4-Methylstyrol	–34,1°C (US EPA 2010)

Siedepunkt bei 1013 hPa Isomeren- gemisch	170–171°C (US EPA 2010)
3-Methylstyrol	164°C (US EPA 2010)
4-Methylstyrol	172,8°C (US EPA 2010)
Dichte bei 20°C Isomerengemisch	0,898 g/cm ³ (IARC 1994)
2-Methylstyrol	0,904 g/cm ³ (IARC 1994)
3- und 4-Methylstyrol	0,911 g/cm ³ (IARC 1994)
Dampfdruck bei 20°C Isomerenge- misch	1,47–2 hPa (US EPA 2010)
3-Methylstyrol	2,3 hPa (US EPA 2010)
4-Methylstyrol	2,4 hPa (US EPA 2010)
log K _{ow} Isomerengemisch	3,58 (US EPA 2003)
3-Methylstyrol	3,35 (US EPA 2010)
4-Methylstyrol	3,35 (US EPA 2010)
Löslichkeit bei 25°C Isomerengemisch	89 mg/l Wasser (US EPA 2010)
3-Methylstyrol	151 mg/l Wasser (ber.; US EPA 2010)
4-Methylstyrol	89 mg/l Wasser (SRC 2015)

1 ml/m³ (ppm) $\triangleq$ 4,904 mg/m³

1 mg/m³ $\triangleq$ 0,204 ml/m³ (ppm)

Zu Methylstyrol (alle Isomeren) liegt eine Begründung 1976 und ein Nachtrag von 2002 vor, in denen der MAK-Wert von 1958 bestätigt und 2002 eine Spitzenbegrenzung nach Kategorie I mit einem Überschreitungsfaktor von 2 ohne weitere Markierungen und Einstufungen festgelegt worden sind. Seit der Begründung 1976 sind weitere bewertungsrelevante Untersuchungen veröffentlicht worden.

Das unter der CAS-Nr. 25013-15-4 definierte Methylstyrol besteht zu ca. 60–70% aus 3-Methylstyrol und zu ca. 30–40% aus 4-Methylstyrol (US EPA 2010).

Dieser Nachtrag basiert im Wesentlichen auf den Untersuchungen im Rahmen des NTP (1990), der Bewertung der IARC (1994), der US EPA (2003, 2010) und den öffentlich verfügbaren Registrierungsdaten im Rahmen von REACH (ECHA 2015). Neben Methylstyrol, alle Isomeren (CAS-Nr. 25013-15-4), werden auch Untersuchungen mit dem Isomer 4-Methylstyrol (CAS-Nr. 622-97-9) aufgeführt.

Methylstyrol-Monomere werden allein oder in Kombination mit anderen Substanzen in der Polymerherstellung und -verarbeitung, als Kleber und Bindemittel, Kunstharz, synthetischer Kautschuk, als Oberflächenbeschichtung, Farbstoff und Pigment, zur Herstellung organischer Chemikalien und in Insektiziden eingesetzt. Methylstyrol-Isomere sind unter Normalbedingungen flüssig mit sehr unangenehmem Geruch (ECHA 2015; NTP 1990; US EPA 2010).

1 Allgemeiner Wirkungscharakter

Methylstyrol wird inhalativ und oral resorbiert und durch CYP450-Monooxygenasen wahrscheinlich vor allem zu Vinyltoluol-7,8-oxid als reaktivem Hauptmetaboliten umgesetzt. Im Urin werden nach intraperitonealer Gabe ca. 55% der Dosis in Form von Metaboliten wiedergefunden.

In nicht den heutigen Prüfrichtlinien entsprechenden, aber gut dokumentierten Untersuchungen wirkt Methylstyrol mäßig reizend an der Haut und leicht reizend am Auge von Kaninchen.

Methylstyrol führt in 2-Jahre-Inhalationsstudien ab der niedrigsten eingesetzten Konzentration von 10 ml/m³ bei Mäusen und bei 100 ml/m³ bei Ratten zu starken Wirkungen am Atemtrakt. Bei Mäusen treten bei 10 ml/m³ mit Inzidenzen von nahezu 100% Entzündungen und Hyperplasien im respiratorischen Epithel der Nase und bei 30% der Tiere Entzündungen in der Lunge bzw. den Bronchiolen auf. Bei Ratten sind bei 100 ml/m³ im olfaktorischen Epithel Erosionen und Hyperplasien bei 12% bzw. 16% der Tiere und bei 26% der Tiere intraepitheliale Zysten im respiratorischen Epithel zu beobachten. Ratten sind somit ca. um das 10-Fache unempfindlicher als Mäuse. Vermindertes Körpergewicht wird bei Mäusen bei 25 ml/m³ und bei Ratten bei 300 ml/m³ beobachtet.

Zur hautsensibilisierenden Wirkung liegen nur sehr vereinzelte Berichte über positive Epikutantest-Befunde mit Methylstyrol vor. Experimentelle Untersuchungen an Meerschweinchen mit Methylstyrol und dem strukturell eng verwandten Styrol zeigen am Meerschweinchen keine bzw. keine eindeutige hautsensibilisierende Wirkung.

Es liegen keine Untersuchungen zur Entwicklungstoxizität mit dem Methylstyrol-Isomerengemisch vor, sondern drei nur sekundär zitierte Entwicklungstoxizitätsstudien mit 4-Methylstyrol, zwei davon an Ratten und eine an Kaninchen. Bei Kaninchen treten bis zur höchsten untersuchten Dosis von 150 mg/kg KG und Tag und bei Ratten bis zu 600 mg/kg KG und Tag keine entwicklungstoxischen Befunde auf. In der anderen Entwicklungstoxizitätsstudie an Ratten wird bei der höchsten Dosis von 600 mg/kg KG und Tag eine Meningozele als seltene Missbildung beobachtet. Da alle drei Untersuchungen nicht als Originalveröffentlichung zu erhalten sind, kann keine abschließende Bewertung einer möglicherweise entwicklungstoxischen Wirkung von Methylstyrol (alle Isomeren) erfolgen.

In In-vitro-Untersuchungen wirkt Methylstyrol nicht mutagen in Bakterien. In CHO-Zellen zeigt sich keine Induktion von Schwester-Chromatid-Austauschen (SCE) oder chromosomalen Aberrationen (CA), hingegen werden in humanen Lymphozyten in sehr viel höheren Konzentrationen SCE und CA induziert. Angaben zur Zytotoxizität fehlen bei der Untersuchung der CA. Methylstyrol wirkt auch nicht mutagen in Säugerzellen. In In-vivo-Untersuchungen ist aus dem gleichen Labor, in dem die In-vitro-Studien zur Klastogenität mit positivem Befund durchgeführt worden sind, ein Mikronukleustest bei allerdings zytotoxischen Dosierungen positiv. Tests auf SCE, CA und dominante Letalmutationen weisen kein genotoxisches Potenzial nach.

In Kanzerogenitätsstudien sind bis 300 ml Methylstyrol/m³ bei Ratten und bis 25 ml/m³ bei Mäusen keine signifikant erhöhten Tumorzinidenzen aufgetreten.

2 Wirkungsmechanismus

Zum Wirkungsmechanismus von Methylstyrol selbst liegen keine Untersuchungen vor. Deshalb werden im Folgenden auch einige Untersuchungen zum Styrol beschrieben.

Vergleichende Daten Methylstyrol – Styrol

In einer Genotoxizitätsuntersuchung von Norppa und Vainio (1983), in der die SCE- und CA-Bildung in humaner Vollblut-Lymphozytenkultur durch Methylstyrol-Isomere und Styrol gemessen wurde, waren 3- und 4-Methylstyrol in etwa ähnlich wirksam wie Styrol, und 2-Methylstyrol etwas weniger wirksam.

Die sensorische Reizwirkung und die ZNS-Wirkung sind die kritischen Endpunkte bei der Ableitung des Luftgrenzwertes für Styrol. Für die sensorische Reizwirkung ergeben sich nach einer älteren Probandenstudie keine wesentlichen Unterschiede zwischen Styrol und Methylstyrol. Zur „Color Vision Discrimination“ als empfindlichstem Endpunkt für Styrol (EU 2008) liegen zu Methylstyrol keine Studien vor. Die Ototoxizität als weiterer wichtiger Endpunkt von Styrol tritt bei Methylstyrol nicht auf (Gagnaire und Langlais 2005).

Unterschiede in der Empfindlichkeit von Ratte und Maus gegenüber Methylstyrol

Mäuse reagierten in 2-Jahre-Inhalationsstudien in der Nasenhöhle auf Methylstyrol um ca. den Faktor 10 empfindlicher als Ratten. Auch die intraperitoneale Gabe führte bei Mäusen zu einer größeren Reduzierung des Glutathion-Gehaltes in der Leber als bei Ratten. Bei Ratten wurden die hepatischen CYP450-Enzyme durch Methylstyrol nicht beeinflusst, während sie bei Mäusen deutlich reduziert waren. Der Mechanismus, der für diesen Speziesunterschied bei Methylstyrol verantwortlich ist, ist unbekannt (NTP 1990).

Untersuchungsergebnisse zur Wirkweise von Styrol bzw. zum spezies-spezifischen quantitativen Unterschied des Metabolismus bei Ratten und Mäusen können wahrscheinlich auch auf Methylstyrol übertragen werden.

Empfindlichkeit von Ratte und Maus gegenüber Styrol im Vergleich zum Menschen

Styrol wird zu einem Epoxid oxidiert, das durch Epoxidhydrolase und GSH-Transferase entgiftet wird. Während in der Nase die Oxidation bei Ratten und Mäusen in etwa gleich schnell verläuft, ist die Detoxifizierung bei Ratten um ca. den Faktor 10 schneller als bei Mäusen. Ein In-vitro-Vergleich mit Nasengewebe vom Menschen zeigt, dass dort fast keine Oxidation erfolgt, jedoch die Epoxidhydrolase- und GSH-Transferase-Aktivität in etwa der der Ratte entspricht. Somit ist der Mensch an der Nase weniger empfindlich als Ratte und Maus (Green et al. 2001). Die Befunde an der Nase wurden im EU Risk Assessment Report für Styrol deshalb nicht als Ausgangsbasis für die Risikobewertung herangezogen (EU 2008).

In der Lunge erfolgt bei Mäusen die Oxidation von Styrol in Clara-Zellen, die beim Menschen dort in viel geringerem Umfang vorhanden sind. Somit ist der Mensch auch hier weniger empfindlich als die Maus (EU 2008).

Auch an der Leber ist der Mensch weniger empfindlich als die Maus, was durch Mortalität von Mäusen bei Styrol-Konzentrationen belegt wird, gegen die Arbeiter jahrelang exponiert waren, ohne dass Lebertoxizität oder Mortalität auftrat (EU 2008).

Ähnliche Unterschiede in der Empfindlichkeit durch einen quantitativen Unterschied bei der Metabolisierung sind auch für Methylstyrol anzunehmen.

3 Toxikokinetik und Metabolismus

3.1 Aufnahme, Verteilung, Ausscheidung

Es liegen keine In-vivo-Daten zur oralen, inhalativen oder dermalen Aufnahme von Methylstyrol und der Verteilung im Körper vor. Die systemische Wirkung vor allem in der Leber von Ratten und Mäusen nach inhalativer und oraler Exposition lässt auf eine gute Resorption schließen.

Nach einmaliger intraperitonealer Gabe von 50 mg Methylstyrol/kg KG an Ratten wurde 55% der Dosis in Form von Metaboliten im Urin wiedergefunden, bei höheren Dosierungen war der Prozentsatz nur wenig höher. Die Ausscheidung erfolgte vor allem in den ersten sechs Stunden (ECHA 2015; NTP 1990; US EPA 2003).

In einem In-vitro-Modell mit statischer Diffusionszelle mit 5 ml Rezeptorflüssigkeit und einer Expositionsfläche von 0,64 cm² wurde Humanhaut eingesetzt. Zur Bestimmung des Permeationskoeffizienten wurde Methylstyrol (Reinheit >99%, ca. 55% 3- und 45% 4-Isomer) mit einer Rate von je 100 µl/cm² auf 6 Hautproben von 4 Spendern aufgetragen und die Menge an Methylstyrol in der Rezeptorflüssigkeit nach 1 Stunde und 2, 4, 12, 24, 36 und 48 Stunden bestimmt. Die Steady-State-Geschwindigkeit bei der (als Dichte angegebenen) Konzentration von 894,6 µg/cm³ betrug 203,3±120 µg pro cm² und Stunde. Es wurde ein Permeationskoeffizient von $2,27 \pm 1,34 \times 10^{-4}$ cm pro Stunde erhalten. Zur Bestimmung der Resorption bei Kurzzeitexposition wurden 12 Hautproben von drei Spendern mit einer Rate von 10 µl/cm² mit der Probe befüllt und die Kammer dann mit Parafilm für 10 oder 60 Minuten verschlossen. Je 6 Proben wurden nach Ende der Expositionszeit geöffnet, die Epidermis gewaschen und Methylstyrol in der Rezeptorflüssigkeit und der Haut bestimmt. Nach 10 Minuten wurden in der Rezeptorflüssigkeit 3,39±2,42 µg Methylstyrol und in der Haut 3,79±1,8 µg bestimmt, nach 60-minütiger Expositionszeit 59,8±39,5 µg in der Rezeptorflüssigkeit und 6,86±3,18 µg in der Haut. Für eine 10- und 60-minütige Expositionszeit wurden Resorptionsraten von 66,0 (± 29,9) bzw. 104,2 (± 63,0) µg pro cm² und Stunde berechnet (Fasano und Baer 2006). Aus dem letzteren Wert berechnet sich eine Aufnahme von 208 mg bei 2000 cm² exponierter Hautoberfläche und einer Stunde Expositionszeit.

3.2 Metabolismus

Nach einmaliger intraperitonealer Gabe von 50 mg Methylstyrol/kg KG an Ratten wurden 55% der Dosis in Form von Metaboliten mit dem Urin ausgeschieden (siehe Abb. 1). Dies waren zu 25% Thioether, 5,7% 4-Methylmandelsäure, 11,9% 4-Methylphenylglyoxalsäure, 9,3% 4-Methylbenzoylglycin, 2,5% 4-Methylphenylacetyl-glycin und 1% 4-Vinylbenzoylglycin. Das heißt, dass die Hauptmenge der identifizierten Metaboliten über den Epoxidweg entstand und 1% über die Oxidation der Methylgruppe. Durch die vorherige Gabe eines Inhibitors der CYP450-Monooxygenasen wurde die Ausscheidung dieser Metaboliten verhindert. Eine einmalige intraperitoneale Gabe von Methylstyrol an Ratten führte zu einem verminderten Glutathionspiegel in Leber und Nieren. Daraus wurde geschlossen, dass Methylstyrol durch CYP450 zu Vinyltoluol-7,8-oxid als reaktivem Hauptmetaboliten umgesetzt und dann mit Glutathion konjugiert oder zu einem Diol hydriert wird. Auch bei Exposition gegen 50, 100 oder 300 ml/m³ an 6 Stunden pro Tag, 5 Tage pro Woche, 15 Wochen lang traten dosis- und zeitabhängig verminderte Glutathionspiegel in Leber und Nieren von Ratten, Mäusen und Hamstern auf (ECHA 2015; IARC 1994; NTP 1990; US EPA 2003).

4-Methylstyrol wird in vitro ebenso schnell durch CYP450-Enzyme an der Vinylgruppe zum Diol oxidiert wie Styrol. Auch die Proteinbindung in vitro ist sehr ähnlich (IARC 1994).

4 Erfahrungen beim Menschen

Hierzu liegen nur Untersuchungen zur Reiz- und sensibilisierenden Wirkung vor.

Reizwirkung

In einer Probandenstudie (k. w. A.) betrug die Geruchsschwelle 50 ml Methylstyrol/m³. Starker Geruch ohne übermäßige Belästigung wurde bei 200 ml/m³ beschrieben, und bei ≥ 400 ml/m³ traten starke Reizungen an Auge und Nase auf (Wolf et al. 1956). Die NOAEC für die Reizwirkung liegt bei 50–100 ml/m³. Die Studie entspricht nicht heutigen Anforderungen an eine Probandenstudie und ist schlecht dokumentiert. Da aber Styrol ebenfalls untersucht wurde und bei ähnlichen Konzentrationen Befunde wie für Methylstyrol auslöste, gibt die Studie zumindest qualitativ den Hinweis, dass die sensorische Reizwirkung von Methylstyrol der des besser untersuchten Styrols entspricht.

Sensibilisierende Wirkung

Für den Epikutantest mit Methylstyrol oder Styrol steht keine kommerziell erhältliche Testzubereitung zur Verfügung. Es liegen keine Fallberichte über eine Kontaktsensibilisierung gegen Methylstyrol vor, sondern lediglich ein Bericht über positive Epikutantest-Befunde im Sinne einer Kreuzreaktivität bei einem Patienten mit vermuteter Sensibilisierung gegen Styrol. Dieser entwickelte nach mehrfacher Anwendung eines Styrol-haltigen ungesättigten Polyesterharzes sowie eines Dibenzoylperoxid-haltigen Härters eine vesikuläre Dermatitis an den Händen. Im Epi-

kutantest zeigten sich stark positive Reaktionen auf das Harz und auf Styrol (10%ig bzw. 5%ig in Methylethylketon getestet) sowie eine schwach irritative Reaktion auf 5% Dibenzoylperoxid. In weiteren Epikutantests reagierte der Patient erneut auf Styrol bis zu einer Konzentration von 0,001% und auf ein Gemisch aus 3- und 4-Methylstyrol in einer Konzentration von 0,11% in Ethanol. Auf dieses Gemisch zeigten 16 zur Kontrolle getestete Patienten keine Reaktion, ebenso wenig wie 303 zur Kontrolle mit 5% Styrol getestete Patienten (Sjöborg et al. 1982). Auch auf die einzelnen Methylstyrol-Isomere reagierte der Patient positiv sowie auf Styrolepoxid (0,1%ig in Ethanol) und auf 4-Hydroxystyrol (Sjöborg et al. 1984).

Außerdem wurde in weiteren Publikationen zwar über Reaktionen auf Styrol bei 4 von 45 getesteten Patienten mit Ekzem durch Schuhe (keine Angabe zur Testkonzentration; Grimalt und Romaguera 1975) sowie bei einem Juwelier mit Hautreaktionen an den Fingern nach Exposition gegen „Kunsthharze“ und positivem Epikutantest auf 1% Styrol (in Olivenöl sowie in Methylethylketon; Condé-Salazar et al. 1989) berichtet. Mit Methylstyrol ist in diesen Untersuchungen aber offenbar nicht getestet worden.

5 Tierexperimentelle Befunde und In-vitro-Untersuchungen

5.1 Akute Toxizität

5.1.1 Inhalative Aufnahme

Hierzu lagen für die Begründung 1976 keine Daten vor.

Bei 6-Stunden-Ganzkörperexpositionen von je fünf männlichen und weiblichen Sprague-Dawley-Ratten gegen 1510 oder 1960 ml Methylstyrol/m³ („MCTR-161-79“, k.w.A.) und 14-tägiger Nachbeobachtung starb keines der weiblichen und bei der hohen Konzentration ein männliches Tier. Bei der niedrigen Konzentration traten während der Exposition verminderte Aktivität, tränende und geschlossene Augen, extremer Speichelfluss und angestrenzte Atmung auf. Nach Expositionsende und bis zum Ende des Tages wurden Ataxie, verlangsamter Aufrichtreflex und gekrümmte Haltung beobachtet. Am Tag nach der Exposition war das Verhalten der Tiere unauffällig. Bei der hohen Konzentration waren die Symptome während der Exposition verstärkt, und zusätzlich wurden Ataxie, sehr schnelle oder Schnappatmung, Prostration und zuckende und geschwollene Extremitäten beobachtet. Auch nach beendeter Exposition hielten die motorischen Schwierigkeiten noch zwei Tage an, danach war das Verhalten unauffällig (ECHA 2015). Die LC₅₀ für Ratten liegt in dieser Untersuchung oberhalb von 1960 ml/m³.

Eine weitere Untersuchung mit einer 4-Stunden-Ganzkörperexposition von je fünf männlichen und weiblichen Sprague-Dawley-Ratten gegen 3500 ml/m³ (16891 mg/m³, „MCTR-142-79“, k.w.A.) führte zu keinen Todesfällen. Während der Exposition zeigten alle Tiere Atmungsanomalien und ab ca. 15 Minuten eine Sekretion aus Augen, Nase und Ohren. Nach dem Herausnehmen aus der Expositionsatmosphäre wurden neuromuskuläre Effekte wie Schwäche der Muskeln, Verlust von Reflexen, spontane Muskelaktivitäten, unkoordinierte Bewegungen und Zittern beobachtet. Die Sekretion nahm innerhalb von vier Stunden nach Expositionsende

ab, während die neuromuskulären Auffälligkeiten und Atemschwierigkeiten zunahmen. Ein Tag nach beendeter Exposition waren diese Wirkungen verschwunden, während Rasselgeräusche bei der Atmung bis zum dritten Tag nach Expositionsende anhielten (ECHA 2015). Die LC_{50} für Ratten liegt in dieser Untersuchung oberhalb von 3500 ml/m³.

5.1.2 Orale Aufnahme

Die orale LD_{50} für männliche Wistar-Ratten, bestimmt anhand von 42 Tieren, lag bei ca. 4000 mg/kg KG (ca. 55–70% 3- und 30–45% 4-Methylstyrol; Begründung 1976; NTP 1990; US EPA 2010).

Je zehn männliche Sprague-Dawley-Ratten erhielten mit der Schlundsonde 0,6; 1,3; 2,5 oder 5 ml/kg KG unverdünntes Methylstyrol („MCTR-243-77“, k.w.A.), die errechnete LD_{50} betrug 3,68 ml/kg KG, woraus eine LD_{50} zwischen 2000 und 5000 mg/kg KG abgeleitet wurde. Ab 2,5 ml/kg KG wurden Zittern, erhöhte Atmungsrate und leichte Apathie beobachtet, die bis zu drei Tage anhielten. Bei den gestorbenen Tieren traten blutige Lungen, blutiger Dünndarm, farblose Flüssigkeit in der Blase und roter Ausfluss in Maul, Nase und Augen auf (ECHA 2015).

Je zwei männlichen und weiblichen Beagle-Hunden wurde einmal unverdünnt 4000 oder 5000 mg Methylstyrol/kg KG („MCTR-88-79“, k.w.A.) sowie einmal 4000 mg/kg KG als 50%ige Lösung mit der Schlundsonde verabreicht und die Tiere wurden 14 Tage lang beobachtet. Alle Tiere erbrachen innerhalb der ersten ein bis zwei Stunden nach Substanzgabe, zitterten und bei Gabe von 5000 mg/kg KG trat Speichelfluss auf. Einige Tiere der niedrigen und alle Tiere der hohen Dosisgruppe verloren nach der Substanzgabe 100 bis 400 g an Körpergewicht, histopathologische Veränderungen und Todesfälle traten nicht auf (ECHA 2015). Die LD_{50} für Hunde liegt in dieser Untersuchung oberhalb von 5000 mg/kg KG.

5.1.3 Dermale Aufnahme

In einer Untersuchung von 1977 wurde Neuseeländer-Kaninchen 4-Methylstyrol unbekannter Reinheit in Dosierungen von 0,5; 1; 2; 4 oder 5 ml/kg KG (450, 900, 1800, 3600, 4500 mg/kg KG) auf die Rückenhaut aufgetragen. Je ein männliches und weibliches Tier pro Dosis hatte eine abradierte, je ein männliches und weibliches Tier pro Dosis eine intakte Rückenhaut. Die Applikationsstelle wurde während der 24-stündigen Expositionszeit nicht abgedeckt, die orale Aufnahme wurde jedoch verhindert und es folgte eine 14-tägige Nachbeobachtung. Es traten weder Mortalität noch Anzeichen für systemische Toxizität auf. An lokalen Wirkungen wurden dosisabhängig leichte bis mäßige Erytheme, Ödeme und lederartige Haut beobachtet, die bei der höchsten Dosisgruppe auch am Ende der Beobachtungszeit noch vorhanden, bei geringeren Dosen jedoch innerhalb von einer Woche abgeklungen waren. Es traten keine histopathologischen Befunde auf. Damit war die dermale LD_{50} größer als 4500 mg/kg KG (ECHA 2015).

5.2 Subakute, subchronische und chronische Toxizität

5.2.1 Inhalative Aufnahme

In einer 2-Jahre-Inhalationsstudie mit F344-Ratten und Exposition gegen 0, 100 oder 300 ml Methylstyrol/m³ kam es ab der niedrigsten Konzentration zu Zysten im respiratorischen und olfaktorischen Epithel und Hyperplasien im respiratorischen Epithel der Nase (siehe Tabelle 1 und 2). Letztere waren diffus und durch eine erhöhte Anzahl an Becherzellen und eine Verdickung des Epithels charakterisiert. Die Zysten waren klein, intraepithelial, drüsenartig und mit Schleim gefüllt. Die Befunde im olfaktorischen Epithel traten vor allem in der Region entlang des oberen Nasenganges auf (zwischen oberer und mittlerer Nasenmuschel). Das olfaktorische Epithel war stellenweise erodiert, die darunter befindlichen Bowmanschen Drüsen zystisch erweitert und das Drüsenepithel durch säulenartiges Flimmerepithel ersetzt. Bei manchen männlichen Ratten war auch eine respiratorische Metaplasie im olfaktorischen Epithel vorhanden. Bei den weiblichen Tieren traten im olfaktorischen Epithel vor allem eosinophile Hyperplasien auf, die vermutlich auf die zytoplasmatische Akkumulation von sekretorischem Material beruhte. Bei zwei männlichen Ratten der 300-ml/m³-Gruppe wurden Lipome in der Niere und bei zwei ebenfalls männlichen Tieren Papillome in der Harnblase gesehen (NTP 1990). Eine Neuropathie grenzwertiger Ausprägung, wie in einer anderen Inhalationsstudie bei 300 ml/m³ bei Ratten beschrieben, trat nicht auf (NTP 1990). In dieser Studie wurde keine lokale NOAEC erhalten. Die LOAEC für Effekte an der Nase liegt bei 100 ml Methylstyrol/m³.

Der auffälligste Effekt bei Ratten ist der Ersatz des olfaktorischen Epithels durch respiratorisches Epithel vor allem entlang des oberen Nasenganges und der Ersatz der Bowmanschen Drüsen durch ein säulenartiges Flimmerepithel. Diese Veränderungen werden auch bei Exposition gegen andere Reizstoffe gesehen. Die Hyperplasie des respiratorischen Epithels tritt oft im Zusammenhang mit Entzündungen auf (NTP 1990).

In einer 2-Jahre-Inhalationsstudie mit B6C3F1-Mäusen und Exposition gegen 0, 10 oder 25 ml Methylstyrol/m³ kam es ab der niedrigsten Konzentration mit hoher Inzidenz zu Hyperplasien und chronischer Entzündung im respiratorischen Epithel der Nase und chronischer Entzündung in den Bronchiolen bzw. der Lunge (siehe Tabelle 1 und 2). Die Schwere der Befunde in der Nase war leicht bis mäßig bei 10 ml/m³ und mäßig bis deutlich bei 25 ml/m³. Die Effekte traten vor allem im respiratorischen Epithel im mittleren und hinteren Teil des Nasenganges auf, zwischen mittlerer und unterer Nasenmuschel. Die Entzündung war durch eine fokale Infiltration von Neutrophilen und mononukleären Zellen in die Mukosa gekennzeichnet. Die Hyperplasie des respiratorischen Epithels zeigte sich durch eine größere Dicke des Epithels, Einwachsen von Flimmerepithelzellen in die Drüsen der Submukosa, Bildung drüsenähnlicher Strukturen im Epithel und Ausdehnung des respiratorischen Epithels in Bereiche des olfaktorischen Epithels. In den Bronchiolen der Lunge traten leichte bis mäßige chronische Entzündungen mit einer Ansammlung von Neutrophilen, Makrophagen und Lymphozyten in den Wänden der Bronchiolen und des Interstitiums zu angrenzenden Alveolen auf. Das Epithel der betroffenen Alveolen

hatte eine erhöhte Zahl an kuboidalen Zellen, im Lumen fanden sich Entzündungszellen, proteinöses Material und bei stärker betroffenen Stellen auch eosinophile Kristalle und Cholesterinspalten. Die Inzidenz an Neoplasien in Bronchiolen und Lungen, hämatopoetischem System und Leber war bei den exponierten Tieren geringer als in der Kontrollgruppe (siehe Abschnitt 5.2.7). In dieser Studie wurde keine lokale NOAEC erhalten. Die LOAEC für lokale Effekte im Respirationstrakt liegt bei 10 ml/m³.

Wistar-Ratten, die 15 Wochen lang an 6 Stunden pro Tag, 5 Tage pro Woche gegen Methylstyrol exponiert waren, hatten ab 100 ml/m³ eine verminderte motorische Nervenleitgeschwindigkeit im Schwanznerv und eine verminderte Amplitude des evozierten motorischen Potentials, 50 ml/m³ hatten keinen elektrophysiologischen Effekt (Seppäläinen und Savolainen 1982). Eine ähnliche Untersuchung an Sprague-Dawley-Ratten mit 21-wöchiger Exposition ergab eine entsprechende NOAEC von 100 ml/m³ mit einer LOAEC von 300 ml/m³ für motorische und sensorische Nervenleitgeschwindigkeiten (Originalzitat in US EPA 2010).

Fazit: Methylstyrol führt in 2-Jahre-Inhalationsstudien ab der niedrigsten eingesetzten Konzentration von 10 ml/m³ bei Mäusen zu Entzündungen und Hyperplasien im respiratorischen Epithel und Entzündungen in der Lunge bzw. den Bronchiolen und ab 100 ml/m³ bei Ratten zu Zysten und Hyperplasien im olfaktorischen und respiratorischen Epithel. Die systemische NOAEC ist 10 ml/m³ für Mäuse und 100 ml/m³ für Ratten, da bei der jeweils nächsthöheren Konzentration von 25 bzw. 300 ml/m³ die Körpergewichtszunahmen vermindert sind.

Tab. 1 Wirkung von Methylstyrol nach wiederholter Inhalation

Spezies, Stamm, Anzahl pro Gruppe	Exposition	Befunde	Literatur
Ratte, F344/N, 5 ♂, 5 ♀	15 Tage, 0, 200, 400, 800, 1300 ml/m ³ gemischte Isomeren (65–71% 3- und 32–35% 4-Isomer), Ganzkörperexposition, 6 h/d, 5 d/w, Reinheit 99%	histopathologische Untersuchung nur der Tiere der 1300 ml/m ³ - und je 1 ♂ u. ♀ Tier der Kontrollgruppe; ab 400 ml/m³: KG ♂ 13–19% ↓ u. KG ♀ 10–13% ↓; 1300 ml/m³: Lethargie, tränende Augen, rote Verfärbung um Nase und Schnauze, Dysplasie des bronchialen auskleidenden Epithels, chronische Bronchitis, lymphoide Hyperplasie in der Lunge, abs. u. rel. Lebergew. ↑, ♂: zentrilobuläre Nekrosen u. fokale Entzündungszellinfiltration in Leber bei 4/5, ♀: minimale zentrilobuläre Vakuolisierung in Leber bei 5/5	NTP 1990
Ratte, F344/N, 10 ♂, 10 ♀	13 Wochen, 0, 25, 60, 160, 400, 1000 ml/m ³ gemischte Isomeren (65–71% 3- und 32–35% 4-Isomer), Ganzkörperexposition, 6 h/d, 5 d/w, Reinheit 99%	histopathologische Untersuchung nur der Tiere der 1000-ml/m ³ - u. der Kontrollgruppe; ab 160 ml/m³: KG ♂ 6% ↓ u. KG ♀ 5% ↓, ♂: Verstärkung der (bei allen ♂ Tieren vorhandenen) Nephropathie; ab 400 ml/m³: KG ♂ 8% ↓ u. KG ♀ 6% ↓; 1000 ml/m³: starker Tränenfluss, geschlossene Augen, struppiges Fell, ♂: KG 19% ↓, rel. Lebergew. 34% ↑, ♀: KG 12% ↓, rel. Lebergew. 27% ↑ (nicht abs.), bei ♀ keine substanzbedingten histopathologischen Befunde	NTP 1990
Ratte, Sprague Dawley, 15 ♂, 15 ♀	13 Wochen, 0, 100, 500, 1600/1300 ml/m ³ , 6 h/d, 5 d/w, 97% 4-Methylstyrol (3% 3-Methylstyrol)	unvollständiger Studienbericht, 100 ml/m³: keine lokale Wirkung, Angaben zu Histopathologie fehlen; ab 500 ml/m³: starker Tränenfluss, geschwollene Augen, verfärbtes Fell im Anogenitalbereich; 1600 ml/m³: Mortalität: 2 ♀ 1. Woche (wurden ersetzt) danach: 3 ♀ u. 1 ♂, Zittern, Balance-Verlust, Entkräftung, mattes Fell, erhöhte Aktivität mit Koordinationsproblemen, Reduktion auf 1300 ml/m³: mattes Fell, alkalische Phosphatase ↑, Lebergew. ↑ ohne histopathologisches Korrelat, ♀: Zahl weißer Blutkörperchen ↓	ECHA 2015

Tab. 1 (Fortsetzung)

Spezies, Stamm, Anzahl pro Gruppe	Exposition	Befunde	Literatur
Ratte, Wistar, 20 ♂, 12 Wochen alt	15 Wochen, 0, 50, 100, 300 ml/m ³ gemischte Isomeren, 6 h/d, 5 d/w, Reinheit k. A.	Exposition in Dunkelheit. Messung der motorischen Nervenleitgeschwindigkeit (MCV) des Schwanznervs immobilisierter Tiere vor Studienbeginn und nach 4, 8, 12 und 15 Wochen, Amplitude des evozierten motorischen Potentials, Untersuchung der Protein-Zusammensetzung Myelin-befreiter Nerven des Rückenmarks, ab 100 ml/m³ ; ab 12. Wo: MCV ↓, Potential halb so hoch wie in Kontroll- und 50-ml/m ³ -Tieren; 300 ml/m³ : Tiere inaktiv während Exposition, KG ↓	Seppäläinen und Savolainen 1982; US EPA 2010
Ratte, Sprague Dawley, 10 ♂, 6 Wochen alt	21 Wochen, 0, 100, 300 ml/m ³ gemischte Isomeren, 6 h/d, 5 d/w, Reinheit k. A.	100 ml/m³ : NOAEC; 300 ml/m³ : KG ↓ (nicht sign.), ab 15. Wo: motorische und sensorische Leitgeschwindigkeit des Schwanznervs ↓, Histopathologie o. B.	Gagnaire et al. 1986
Ratte, Wistar, 10–25 ♂, 10–25 ♀	28 Wochen, 0, 580, 1130, 1350 ml/m ³ , 7–8 h/d, 5 d/w, 139 d, Reinheit k. A.	keine genauen Studiendetails , untersucht wurden: Histopathologie u. Gewicht ausgewählter Organe u. Gewebe, hämatologische Parameter, Blutharnstoff-Stickstoff, Knochenmark; ab 1130 ml/m³ : KG-Zunahme ↓, Lebergew. ↑, fettige Degeneration der mittleren u. zentralen Zellen der Leberläppchen; 1350 ml/m³ : „mäßige Mortalität“ (k. w. A.)	Wolf et al. 1956
Ratte, F344/N, 50 ♂, 50 ♀	2 Jahre, 0, 100, 300 ml/m ³ gemischte Isomeren (65–71% 3- und 32–35% 4-Isomer), Ganzkörperexposition, 6 h/d, 5 d/w, Reinheit 99%	überlebende Tiere am Studienende (Kontrolle, 100 ml/m ³ , 300 ml/m ³): ♂: 19/49, 17/50, 19/50; ♀: 31/50, 28/50, 26/50, keine klinischen Anzeichen für Toxizität; ab 100 ml/m³ : Befunde in der Nasenmuschel, siehe Tabelle 2, ♀: KG 5% ↓; 300 ml/m³ : KG ♂ 4–8% ↓ u. ♀ 11% ↓, Lipom Niere (♂ 2/50), Papillom Harnblase (♂ 2/50)	NTP 1990

Tab. 1 (Fortsetzung)

Spezies, Stamm, Anzahl pro Gruppe	Exposition	Befunde	Literatur
Maus, B6C3F ₁ , 5 ♂, 5 ♀	15 Tage, 0, 10, 25, 50, 100, 200 ml/m ³ gemischte Isomeren (65–71% 3- und 32–35% 4-Isomer), Ganzkörperexposition, 6 h/d, 5 d/w, Reinheit 99%	histopathologische Untersuchung nur bei 200 ml/m ³ u. je 1 ♂ u. ♀ Tier der Kontrollgruppe; 100 ml/m³: Ataxie; 200 ml/m³: Lethargie, geschlossene Augen, abs. u. rel. Lebergew. ↑, ♂: Mortalität 3/5 (davon 1 mit Hyperämie u. blutigem Lungenparenchym, 2 mit interstitieller Pneumonie), mittlere bis schwere hepatozelluläre Nekrosen bei 4/5, ♀: Hyperplasie des Epithels der intrapulmonären Bronchien bei 5/5, zen- trilobuläre Nekrosen u. Vakuolisierung u. inflammatorische Zellinfiltrate in der Leber bei 5/5	NTP 1990
Maus, B6C3F ₁ , 10 ♂, 10 ♀	13 Wochen, 0, 10, 25, 60, 160 ml/m ³ gemischte Isomeren (65–71% 3- und 32–35% 4-Isomer), Ganzkörperexposition, 6 h/d, 5 d/w, Reinheit 99%	histopathologische Untersuchung aller Tiere bei 25, 60, 160 ml/m ³ u. der Kontrollgruppe; 0 ml/m³: Entzündung in Lunge u. Metaplasien im respiratorischen Epithel siehe Tabelle 2; ab 10 ml/m³: Metaplasien im respiratorischen Epithel siehe Tabelle 2; 25 ml/m³: KG ♂ 12% ↓ u. KG ♀ 13% ↓; 60 ml/m³: Lethargie, KG ♂ 12% ↓ u. KG ♀ 14% ↓, Entzündung in Lunge siehe Tabelle 2; 160 ml/m³: Lethargie, geschlossene Augen, KG ♂ 20% ↓ u. KG ♀ 16% ↓, Entzündung in Lunge siehe Tabelle 2	NTP 1990
Maus, B6C3F ₁ , 50 ♂, 50 ♀	2 Jahre, 0, 10, 25 ml/m ³ gemischte Isomeren (65–71% 3- und 32–35% 4-Isomer), Ganzkörperexposition, 6 h/d, 5 d/w, Reinheit 99%	überlebende Tiere am Studienende (Kontrolle, 10 ml/m ³ , 25 ml/m ³); ♂: 33/50, 30/50, 41/50; ♀: 36/50, 37/50, 34/50 ab 10 ml/m³: KG 5–14% ↓, Degeneration u. Entzündungen in Nasenmu- kosa (Tabelle 2), Entzündung in Bronchiolen (Tabelle 2); 25 ml/m³: KG 10–23% ↓	NTP 1990

Tab. 1 (Fortsetzung)

Spezies, Stamm, Anzahl pro Gruppe	Exposition	Befunde	Literatur
Meerschweinchen, Albino, 5–10 ♂, 5–10 ♀	28 Wochen, 0, 580, 1130, 1350 ml/m ³ , 7–8 h/d, 5 d/w, 139 d, Reinheit k. A.	keine genauen Studiendetails , untersucht wurden: Histopathologie und Gewicht ausgewählter Organe und Gewebe, hämatologische Parameter, Blutharnstoff-Stickstoff, Knochenmark; ab 1130 ml/m³ : KG-Zunahme ↓, Nierengew. ↑, fettige Degeneration der mittleren u. zentralen Zellen der Leberläppchen; 1350 ml/m³ : Lebergew. ↑	US EPA 2010
Kaninchen, Albino, 1–2 ♂, 1–2 ♀	28 Wochen, 0, 580, 1130, 1350 ml/m ³ , 7–8 h/d, 5 d/w, 139 d, Reinheit k. A.	keine genauen Studiendetails , untersucht wurden: Histopathologie u. Gewicht ausgewählter Organe u. Gewebe, hämatologische Parameter, Blutharnstoff-Stickstoff, Knochenmark; ab 1130 ml/m³ : Nierengew. leicht ↑; 1350 ml/m³ : fettige Degeneration der mittleren und zentralen Zellen der Leberläppchen	US EPA 2010
Affe, Rhesus, 1–2 ♂, 1–2 ♀	28 Wochen, 0, 580, 1130, 1350 ml/m ³ , 7–8 h/d, 5 d/w, 139 d, Reinheit k. A.	keine genauen Studiendetails , untersucht wurden: Histopathologie u. Gewicht ausgewählter Organe u. Gewebe, hämatologische Parameter, Blutharnstoff-Stickstoff, Knochenmark; keine substanzbedingten Befunde	US EPA 2010

abs.: absolut, rel.: relativ, u.: und, k.A.: keine Angabe

Tab. 2 Befunde am Atemtrakt von F344-Ratten und B6C3F1-Mäusen in 2-Jahre-Inhalationsstudien mit Methylstyrol (NTP 1990)

Ratten, 2 Jahre	0 ml/m ³	100 ml/m ³	300 ml/m ³	0 ml/m ³	100 ml/m ³	300 ml/m ³
	männliche Tiere			weibliche Tiere		
Nase						
olfaktor. Epithel						
Zysten	0/48	4/50	6/50*	0/50	5/49*	13/50**
fokale Erosionen	0/48	8/50**	1/50	0/50	3/49	4/50
eosinophile Hyperplasie	1/48	0/50	0/50	2/50	9/49*	21/50**
Metaplasie	0/48	6/50*	4/50	0/50	1/49	0/50
respirator. Epithel						
intraepitheliale Zysten	2/48	13/50**	9/50*	0/50	6/49*	10/50**
diffuse Hyperplasien	12/48	24/50*	28/50**	8/50	19/49**	19/50**
Mäuse, 2 Jahre	0 ml/m ³	10 ml/m ³	25 ml/m ³	0 ml/m ³	10 ml/m ³	25 ml/m ³
	männliche Tiere			weibliche Tiere		
Nase						
respirator. Epithel						
chronisch aktive Entzündung	2/50	47/48**	48/49**	3/48	49/49**	47/48**
Hyperplasie	5/50	48/48**	49/49**	5/48	49/49**	47/48**
Lunge/Bronchiolen						
chronisch aktive Entzündung	0/50	15/49**	30/49**	0/48	14/49**	37/49**

*: p < 0,05 (einseitig) (NTP 1990); **: p < 0,01 (einseitig) (NTP 1990); olfaktor.: olfaktorisch; respirator.: respiratorisch

Tab. 3 Befunde am Atemtrakt von B6C3F1-Mäusen nach 13-wöchiger Inhalation von Methylstyrol (NTP 1990)

13 Wochen	0 ml/m ³	10 ml/m ³	25 ml/m ³	60 ml/m ³	160 ml/m ³
Akute Entzündung und Metaplasien im respiratorischen Epithel der Nasenmuscheln					
♂	0/10	3/10 p = 0,105	8/9** p = 0,0001	7/8** p = 0,0002	7/10** p = 0,0015
♀	1/10	4/10 p = 0,152	9/10** p = 0,0005	10/10** p = 0,0000	9/9** p = 0,0001
Entzündung in Lunge					
♂	0/10	0/10	0/9	4/9* p = 0,032	5/10* p = 0,0162
♀	1/10	0/10	0/10	2/10 p = 0,5	3/9 p = 0,25

*: $p < 0,05$ (einseitig) (NTP 1990); **: $p < 0,01$ (einseitig) (NTP 1990)

5.2.2 Orale Aufnahme

Die drei Isomere 2-, 3- und 4-Methylstyrol waren nach 14-tägiger Gabe von 8,47 mmol/kg KG und Tag (1001 mg/kg KG und Tag) an Sprague-Dawley-Ratten nicht ototoxisch (Gagnaire und Langlais 2005).

Nach Angabe in der ECHA-Registrierungsdatenbank wurde 1979 eine 90-Tage-Studie mit 4-Methylstyrol (Reinheit 99,7%) und F344-Ratten durchgeführt. Zur OECD-Prüfrichtlinie 408 bestanden die Abweichungen, dass keine spezifischen funktionellen Beobachtungstests, weniger klinisch-pathologische Parameter und deutlich weniger Organe histopathologisch untersucht wurden. Je 15 männliche und weibliche Tiere erhielten mit der Schlundsonde täglich 0, 50, 100, 300, 700 oder 1500 mg 4-Methylstyrol/kg KG und Tag in Olivenöl. Gewogen wurden die Organe Gehirn, Herz, Nieren, Leber, Lunge, Hoden mit Nebenhoden und Ovarien. Makroskopisch begutachtet wurden die Organe Gehirn, Hypophyse, Rückenmark, Augen, mandibuläre Speicheldrüse, Schilddrüse, Thymus, Trachea, Oesophagus, Lunge, Herz, Leber, Milz, Nieren, Nebennieren, Magen, Pankreas, Zwölffingerdarm, Leerdarm, Krummdarm, Dickdarm, Blinddarm, mesenteriale Lymphknoten, Harnblase, Hoden mit Nebenhoden, Prostata, Ovarien, Uterus, Oberschenkelknochen, Knochenmark und alle auffälligen Läsionen. Die Organe Lunge, Leber, Nieren, Hoden, Ovarien, Prostata und Uterus wurden histopathologisch untersucht. Ab 300 mg/kg KG und Tag trat Mortalität auf: 1 von 30 Tieren bei 300, 3 von 30 Tieren bei 700 und einige Tiere („notable mortality“, k. w. A.) bei 1500 mg/kg KG und Tag. Die höchste Dosis überschritt damit die maximal tolerierbare Dosis. Weitere Anzeichen klinischer Toxizität wurden nicht beobachtet. Die männlichen Tiere aller Dosisgruppen hatten ein im Vergleich zu den Kontrolltieren vermindertes Körpergewicht (k. w. A.), dieser Effekt trat bei den weiblichen Tieren nicht auf. Ab der Dosis von 700 mg/kg KG und Tag wurden im Blut ein erhöhter Hämatokritwert und eine erhöhte Anzahl an Erythrozyten sowie ein Anstieg an Gesamtprotein und Albumin beobachtet.

Diese pathologischen Veränderungen charakterisieren nach den Ausführungen in der Registrierungsdatenbank eher eine Dehydrierung als eine toxikologische Veränderung. Die Urinparameter waren unauffällig. Beobachtet wurden vereinzelt leicht erhöhte Blutharnstoff-Stickstoff-Werte, die jedoch nicht dosisabhängig waren. Bei den exponierten männlichen Tieren unterschieden sich manche Organgewichte signifikant von denen der Kontrolltiere, was aber eher dem verminderten Körpergewicht zugeschrieben wurde. Ab 300 mg/kg KG und Tag war das Lebergewicht und ab 700 mg/kg KG und Tag auch das Nierengewicht erhöht (k.w.A.). Histopathologische Veränderungen traten nur in der Lunge ab der niedrigsten Dosis von 50 mg/kg KG und Tag auf. Die Reizungen in der Lunge wurden durch Verschorfung des respiratorischen Epithels mit histiozytärer Ansammlung an der betroffenen Stelle, peribronchialer Fibrose, fokaler Bronchiektasen (irreversible sackartige Erweiterungen der Bronchien), Hypersekretion mit starker Mukusbildung in den Alveolen und ab 700 mg/kg KG und Tag auch perivaskuläre und peribronchiale Ansammlung von Eosinophilen charakterisiert. Bei den Kontrolltieren wurden entzündliche Stellen mit minimaler bis geringfügiger Stärke beobachtet, bei den behandelten Tieren öfter und mit mäßiger Stärke. Ein NOAEL wurde nicht erhalten, da ab der niedrigsten Konzentration von 50 mg/kg KG und Tag bei allen exponierten Tieren verstärkt multifokale chronisch entzündete Stellen in der Lunge und fokale Hyperplasien der Bronchien und Bronchiolen und bei den männlichen Tieren ein vermindertes Körpergewicht auftrat (ECHA 2015). Diese Studie wurde nicht im Original erhalten.

In einer ähnlich durchgeführten 90-Tage-Studie von 1979 mit je 15 männlichen und weiblichen Sprague-Dawley-Ratten und ähnlich eingeschränktem Untersuchungsumfang wie oben beschrieben, wurden mit der Schlundsonde 0, 0,1; 0,3 oder 0,6 ml 4-Methylstyrol/kg KG und Tag (0, ca. 91, 273, 547 mg/kg KG und Tag) an 5 Tagen pro Woche, 13 Wochen lang verabreicht. Es trat keine substanzbedingte Mortalität auf. Die Tiere hatten nach der Substanzgabe erhöhten Speichelfluss und erhöhte motorische Aktivität, zum Teil zitterten sie leicht. An der Stelle der Schnauze, an der die Substanz verabreicht wurde, hatten die Tiere Abschürfungen und durch Aspiration entstand eine Lungenentzündung als Zeichen der Reizwirkung der Substanz. Das Körpergewicht der männlichen Tiere war dosisabhängig vermindert (ECHA 2015). Diese Studie wurde nicht im Original erhalten.

Je 60 oder 90 männliche und weibliche Sprague-Dawley-Ratten pro Gruppe erhielten 108 Wochen lang an 5 Tagen pro Woche Methylstyrol (96,8% 4- und 3% 3-Isomer, Reinheit >99%) mit der Schlundsonde in Dosierungen von 0, 10, 50, 250 oder 500 mg/kg KG und Tag in Olivenöl verabreicht. Die Studie wurde nach 123 Wochen beendet, als in wenigstens einer Gruppe die Überlebensrate unter 50% gesunken war. Eine Zwischenuntersuchung fand mit je 5 männlichen und weiblichen Tieren nach 54 und 107 Wochen statt. Ab 250 mg/kg KG und Tag war bei den männlichen Tieren die Überlebensrate vermindert (k.w.A.). Es zeigte sich bei den Tieren keine substanzbedingt erhöhte oder erniedrigte Tumorraten (k.w.A.; IARC 1994).

In einer Studie mit 4-Methylstyrol wurden je 10 männlichen und weiblichen CFW-Mäusen 4 Wochen lang 250, 500, 1000, 2000 oder 4000 mg/kg KG und Tag verabreicht. Von einer Kontrollgruppe wurde nicht berichtet. Ab 1000 mg/kg KG und Tag starben die Tiere nach der ersten Dosierung. In den beiden unteren Dosisgruppen traten eine feuchte gelbe Substanz an Hals und Thorax, verminderte moto-

rische Aktivität, erschwerte Atmung und ventrale Bauchmassen auf (ECHA 2015). Diese Studie wurde nicht im Original erhalten. Die Studienbeschreibung ist unzureichend, zeigt jedoch, dass ein NOAEL für 4-Methylstyrol bei Mäusen unterhalb von 250 mg/kg KG und Tag liegt.

Fazit:

Die hier beschriebenen, nicht im Original vorliegenden und z.T. unzureichend berichteten Studien, ergeben bei 90-tägiger Schlundsondengabe von 4-Methylstyrol an Ratten keinen NOAEL, da die Körpergewichtszunahme bei allen Dosierungen vermindert war. Erfolgte die Gabe 108 Wochen lang, zeigte sich keine erhöhte Tumorzinzidenz mit dem Gemisch 96,8% 4- und 3% 3-Methylstyrol. Eine 4-Wochen-Studie mit Mäusen führte ab 1000 mg/kg KG und Tag zu erhöhter Mortalität.

5.2.3 Dermale Aufnahme

4-Methylstyrol wurde unverdünnt in stark reizend wirkender Dosierung (0,5 oder 2 ml/kg KG) 21 Tage lang täglich offen auf 25% der Gesamthaut von je 3 männlichen und weiblichen Neuseeländer-Kaninchen appliziert. Die orale Aufnahme wurde verhindert. Nach der sechsständigen Applikationszeit wurde die rasierte Hautstelle gewaschen und getrocknet. Der Studienbericht ist nach Angabe in der ECHA-Registrierungsdatenbank lückenhaft. Es zeigten sich keine Anzeichen einer systemischen Wirkung. Da die Substanz bereits nach wenigen Auftragungen zu schweren Reizungen an der Haut führte, die nach aktuellen Prüfrichtlinien eine weitere Behandlung verboten hätten, sind der aufgetretene Schmerz bei Substanzapplikation, das verminderte Körpergewicht und die erhöhte Zahl an weißen Blutzellen wahrscheinlich der reizenden Wirkung zuzuschreiben (ECHA 2015). Diese Studie kann daher nicht zur Bewertung der systemischen Wirkung herangezogen werden.

5.3 Wirkung auf Haut und Schleimhäute**5.3.1 Haut**

Einem Kaninchen (k. w. A.) wurde 24 Stunden lang Methylstyrol („MCTR-109-77“ k. w. A.) unverdünnt oder als 10%ige Lösung in Butylcarbitolacetat auf ein Ohr oder die rasierte Rückenhaut aufgetragen. In einem anderen Versuch wurde einem Kaninchen (k. w. A.) 10-mal innerhalb von 13 Tagen unverdünntes Methylstyrol auf ein Ohr oder die rasierte Rückenhaut appliziert. Bei allen Applikationen trat eine mäßige Reizung an der Applikationsstelle auf, die 10 Tage nach der letzten Substanzgabe noch nicht verheilt war. Eine ähnliche Versuchsdurchführung mit 1- oder 10%igem Methylstyrol in Butylcarbinolacetat führte zu sehr leichter Reizung mit schneller vollständiger Heilung und wurde mit leichter bis mäßiger Reizwirkung bewertet (US EPA 2010).

In einer Untersuchung aus dem Jahr 1977, die nach Angaben in der ECHA-Registrierungsdatenbank nur als Zusammenfassung vorlag, wirkten 0,5 ml 4-Methylstyrol bei offener 24-stündiger Applikation auf der intakten und abradierten Haut von je 3 männlichen und weiblichen Neuseeländer-Kaninchen leicht reizend. An Reaktio-

nen traten nach 24 Stunden bei 3 von 6 Tieren Erytheme mit Bewertungsgrad 2 und bei den anderen 3 Tieren mit Bewertungsgrad 1 auf, sodass ein mittlerer primärer Reizindex von 1,5 von maximal 8 angegeben wurde (ECHA 2015).

In einer anderen Untersuchung aus dem Jahr 1977, die nach Angaben in der ECHA-Registrierungsdatenbank ebenfalls nur als Zusammenfassung vorlag, wirkte 0,5 ml 4-Methylstyrol bei okklusiver 24-stündiger Applikation auf der rasierten oder rasierten und abradiierten Haut von je 3 männlichen und weiblichen Neuseeländer-Kaninchen leicht reizend mit einem primären Reizindex von 1,1 von maximal 8 (ECHA 2015).

Wurde Weißen-Kaninchen (k. w. A.) am Ohr oder an der rasierten Haut des Körpers 2 bis 4 Wochen lang bzw. 10- bis 20-mal Methylstyrol (55–70% 3-Isomer, 30–45% 4-Isomer) aufgetragen, traten „merkbar definierte Erytheme, Ödeme, oberflächliche Nekrosen und Blasenbildung“ auf. Methylstyrol wurde in dieser Untersuchung als mäßig reizend bewertet (US EPA 2010).

5.3.2 Auge

Wurden Weißen-Kaninchen (k. w. A.) zwei Tropfen (ca. 90 mg) Methylstyrol (55–70% 3-Isomer, 30–45% 4-Isomer) in einen Bindehautsack verabreicht, führte dies zu einer leichten Reizung der Bindehaut (US EPA 2010).

In einer Untersuchung aus dem Jahr 1977, die nach Angaben in der ECHA-Registrierungsdatenbank nur als Zusammenfassung vorlag, wirkten 0,1 ml 4-Methylstyrol in je ein Auge von Neuseeländer-Kaninchen (n = 6) appliziert (k. A. ob das Auge ausgewaschen wurde) sehr leicht reizend. Direkt nach der Substanzgabe schlossen die Tiere die Augen und vokalisiert, es kam zu leichten Erythemen und etwas Ausfluss, die nach 4 Tagen reversibel waren (ECHA 2015). Nach GHS erfordert dieser Befund keine Klassifizierung als augenreizend.

Fazit: In nicht den heutigen Prüfrichtlinien entsprechenden Untersuchungen wirkt Methylstyrol mäßig reizend an der Haut und leicht reizend am Auge von Kaninchen.

5.4 Allergene Wirkung

5.4.1 Hautsensibilisierende Wirkung

Für einen Maximierungstest an 15 Meerschweinchen mit einem Gemisch aus 3- und 4-Methylstyrol wurde ein negatives Ergebnis angegeben. Die intradermale und die topische Induktion erfolgte mit 2,5% bzw. 5% des Gemisches in Aceton. Bei der Auslösung mit 0,5% des Gemisches reagierte keines von 15 Tieren positiv. Das gleiche Ergebnis lieferte ein Maximierungstest mit Styrol (Induktion intradermal mit 10%, topisch mit 20% und Auslösung mit 2% Styrol in Aceton) (Sjöborg et al. 1982).

Ein unvollständig dokumentierter modifizierter Maximierungstest mit Styrol lieferte, unter Berücksichtigung der Zahl der reagierenden Tiere und der Reaktionsausprägung, ein grenzwertiges bis negatives Ergebnis. In dieser Untersuchung erfolgte die intradermale und die topische Induktionsbehandlung mit 5% Styrol (keine Angaben zum Vehikel). Vor der topischen Induktionsbehandlung erfolgte eine 24-stündige of-

fene Applikation einer 10%igen Zubereitung von Natriumdodecylsulfat in Vaseline. Bei der mit 1% Styrol durchgeführten Auslösebehandlung trat bei 3 der 9 Tiere eine gering ausgeprägte Reaktion auf (Grad 1 auf einer Skala von 0–3). Der auf die gleiche Weise untersuchte Zimtalkohol führte bei keinem von 10 Tieren zu einer Reaktion und auf Zimtaldehyd sowie α -Amylzimtaldehyd reagierten 10 von 10 bzw. 2 von 9 Tieren. Die Autoren geben für α -Amylzimtaldehyd und Styrol eine Sensibilisierungsquote von 11% an (Senma et al. 1978), die sich offenbar aber aus dem Quotienten von beobachteter und maximal möglicher Reaktionsausprägung herleitet.

5.4.2 Atemwegssensibilisierende Wirkung

Hierzu liegen keine Daten vor.

5.5 Reproduktionstoxizität

5.5.1 Fertilität

In den 13-Wochen- und 2-Jahre-Inhalationsstudien mit Methylstyrol-Isomeren (siehe Abschnitt 5.2.1) traten weder bei Ratten bei bis zu 300 ml/m³ noch bei Mäusen bei bis zu 25 ml/m³ substanzbedingte Befunde an den Reproduktionsorganen auf (NTP 1990; US EPA 2010).

In einer 2-Generationenstudie, die nach Angaben in der ECHA-Registrierungsdatenbank nicht im Original vorlag, wurden 0, 25, 200, 500 oder 600 mg 4-Methylstyrol/kg KG und Tag 404 Tage lang mit der Schlundsonde an Sprague-Dawley-Ratten verabreicht. Der NOAEL für Toxizität bei Elterntieren und Nachkommen betrug 200 mg/kg KG und Tag. Bei 500 mg/kg KG und Tag wurde erhöhte Mortalität und verminderte Körpergewichtszunahme bei den Elterntieren und bei den Jungtieren der F1-Generation ein leichter Anstieg der Mortalität beobachtet. Es wurden keine Wirkungen auf Verpaarung, Fertilität, Trächtigkeit, Austragung und Geburt sowie den Laktationsindex beobachtet (ECHA 2015; US EPA 2003).

5.5.2 Entwicklungstoxizität

Hierzu liegen keine Untersuchungen mit dem Methylstyrol-Isomerengemisch vor.

Mit der Schlundsonde wurden 0, 60, 190 oder 600 mg 4-Methylstyrol/kg KG und Tag vom 6. bis zum 15. Trächtigkeitstag an je 20 trachtige Sprague-Dawley-Ratten pro Dosis verabreicht. Die Muttertiere zeigten keine substanzbedingten Befunde. Bei den Feten der 60- und 190-mg/kg-Gruppe trat eine unvollständige Ossifizierung der Vertebrae (Wirbel), bei der niedrigsten Dosisgruppe eine erhöhte Inzidenz an rudimentären Rippen und bei der mittleren Dosisgruppe eine erhöhte Zahl an zusätzlichen Rippen auf. Bei den Feten der 600-mg/kg-Gruppe zeigten sich keine substanzbedingten Befunde (k. w. A.; US EPA 2010). Die NOAEL für Entwicklungstoxizität und Maternaltoxizität liegen bei über 600 mg 4-Methylstyrol/kg KG und Tag.

Je 25 trachtige COBS-CD-Ratten erhielten mit der Schlundsonde 0, 50, 300 oder 600 mg 4-Methylstyrol/kg KG und Tag vom 6. bis zum 19. Trächtigkeitstag. Die

Muttertiere hatten dosisabhängig verminderte Körpergewichtszunahmen und die Feten ein dosisabhängig geringeres mittleres Körpergewicht. Im Registrierungs-dossier der ECHA wird das statistisch signifikant erniedrigte Körpergewicht der Feten auf ungewöhnlich hohe Werte der Kontrolltiere, die höher waren als die der historischen Kontrollen, zurückgeführt. Die US EPA wertete den Befund jedoch als substanzbedingt, da der Vergleich auch mit den mitlaufenden Kontrolltieren vorgenommen werden muss. Bei einem Fetus der höchsten Dosisgruppe wurde eine Meningozele beobachtet. Die Tiere der höchsten Dosisgruppe hatten eine verminderte Zahl an Corpora lutea. Da Ovulation und Implantation vor der Substanzgabe erfolgten, wurde dieser Effekt als nicht substanzbedingt bewertet. Wegen der verminderten Körpergewichtszunahmen der Muttertiere und den im Vergleich zu den Kontrolltieren reduzierten Körpergewichten der Feten wurde die niedrigste Dosis von 50 mg 4-Methylstyrol/kg KG und Tag als LOAEL gewertet (ECHA 2015; US EPA 2010). Ein NOAEL lässt sich nicht ableiten. Damit steht die Studie im Widerspruch zu der vorher beschriebenen Rattenstudie. Unterschiede zwischen den Studien sind die verschiedenen Rattenstämme, die unterschiedliche Behandlungsdauer und möglicherweise verschiedene Untersuchungslabors. Auffällig ist das Auftreten einer Meningozele bei 600 mg/kg KG und Tag, die bei CD-Ratten relativ selten sind. So kam es nach Hood (2011) zu einer spontanen Meningozele bei 59 744 Feten in 165 Studien im Zeitraum von 1998 bis 2010 bzw. nach MARTA (1993) zu einer spontanen Meningozele bei 88 270 Feten in 352 Studien im Zeitraum bis 1993 (k. A. ab welchem Jahr). Studien zu Chemikalien-induzierten Meningozelen ergaben, dass diese mit weiteren Missbildungen einhergingen und die Inzidenzen in der Regel sofort relativ hoch waren (Khera 1973; Nolen 1969; Saillenfait et al. 1991). Es war auch eine unterschiedliche Empfindlichkeit der Rattenstämme für die Meningozelenbildung zu beobachten (Nolen 1969). Insgesamt wird daher das Auftreten nur einer Meningozele bei 25 Feten als zufallsbedingt gewertet.

Je 16 trächtigen Holländer-Kaninchen wurde mit der Schlundsonde 0, 50, 100 oder 150 mg 4-Methylstyrol/kg KG und Tag vom 6. bis zum 27. Trächtigkeitstag verabreicht. In der Studienzusammenfassung wird berichtet, dass keine biologischen Effekte und keine Teratogenität auftraten (k. w. A.; US EPA 2010). Die NOAEL für Entwicklungstoxizität und Maternaltoxizität liegen damit in dieser Studie bei der höchsten getesteten Dosis von 150 mg 4-Methylstyrol/kg KG und Tag.

Die drei oben beschriebenen Studien waren nicht im Original zu erhalten und können daher nicht zur Bewertung herangezogen werden.

Erhielten weibliche Ratten intraperitoneal 3750 mg/kg KG und Tag der gemischten Methylstyrol-Isomeren vom 1. bis zum 15. Trächtigkeitstag verabreicht, traten Postimplantationsverluste und verkümmerte Feten auf. Bei 250 mg/kg KG und Tag wurde keine Fetotoxizität beobachtet (k. w. A.; US EPA 2003). Da bei intraperitonealer Gabe ein direkter Effekt auf den Fetus nicht ausgeschlossen werden kann, wird die Studie nicht zur Bewertung herangezogen.

Die Gabe von 6 ppm Methylstyrol-Isomeren über einen Zeitraum von vier Monaten oder 6200 ppm einen Monat lang war bei Meerschweinchen teratogen. Die Autoren weisen darauf hin, dass die Studien in Patty's Industrial Hygiene and Toxicology, 4th Edition, 1991, falsch referenziert waren und die Studien nicht beschafft werden konnten (k. w. A.; US EPA 2003).

5.6 Genotoxizität

5.6.1 In vitro

Methylstyrol führte in An- und Abwesenheit eines metabolischen Aktivierungssystems aus der Rattenleber bei bis zu 1000 µg/Platte nicht zu Mutationen in den Salmonella-typhimurium-Stämmen TA98, TA100, TA1538 oder TA1537. Methylstyrol induzierte keine Schwester-Chromatid-Austausche (SCE) oder chromosomale Aberrationen (CA) in CHO-Zellen in An- und Abwesenheit eines metabolischen Aktivierungssystems aus der Rattenleber (siehe Tabelle 4; NTP 1990).

Die Untersuchungen von Norppa (Norppa 1981 a; Norppa et al. 1981) weisen im Gegensatz dazu eine Induktion von SCE und chromosomalen Aberrationen nach. In diesen Studien fehlen jedoch Positivkontrollen und die Angaben zur Zytotoxizität. Die eingesetzten Konzentrationen waren höher als bei den Studien, die im Rahmen des NTP untersucht worden sind.

Im TK^{+/+}-Mutationstest mit L5178Y-Mauslymphomzellen wurde bei der höchsten, zytotoxischen Konzentration (60 µg/ml; relatives Wachstum <10%) in Abwesenheit eines metabolischen Aktivierungssystems in 2 von 3 Versuchen ein positives Ergebnis erhalten. Dieser Test wurde nicht in Anwesenheit eines metabolischen Aktivierungssystems durchgeführt, und es wurde auch nicht zwischen großen und kleinen Kolonien unterschieden (siehe Tabelle 4; NTP 1990).

5.6.2 In vivo

Methylstyrol war im Drosophila X-chromosomal-gebundenen rezessiven Letaltest (NTP 1990) männlicher Tiere nach 5-tägiger Exposition gegen 0, 50, 100, 300 ml/m³ oder 24- oder 72-stündiger Fütterung mit 0, 200, 500 mg/l Flüssigkeit nicht mutagen (k. w. A.; Norppa et al. 1981).

Je 4 bis 5 männliche C57BL/6-Mäuse erhielten einmalig intraperitoneal 0, 100, 200, 300 oder 500 mg Methylstyrol/kg KG. Nach 30 Stunden wurde Knochenmark gesammelt und auf Mikronuklei hin untersucht. Bei 500 mg/kg KG starben 3 von 5 Tieren. In den niedrigeren Dosisgruppen war das Verhältnis polychromatischer zu normochromatischen Erythrozyten im Vergleich zu dem der Kontrolltiere signifikant vermindert. Ab 200 mg/kg KG trat ein signifikanter Anstieg an polychromatischen Erythrozyten mit Mikronuklei auf. In normochromatischen Erythrozyten wurden keine Mikronuklei beobachtet (Norppa 1981 b; US EPA 2010).

Wurde einmal täglich, fünf Tage lang bis zu 1,34 g 4-Methylstyrol/kg KG und Tag mit der Schlundsonde an je 5 männliche Sprague-Dawley-Ratten verabreicht, traten keine chromosomalen Aberrationen im Knochenmark auf (ECHA 2015).

4-Methylstyrol war im Dominant-Letaltest, in dem männliche Sprague-Dawley-Ratten einmal täglich fünf Tage lang gegen bis zu 1,5 ml/kg KG und Tag exponiert und dann 7 Wochen lang mit unbehandelten Weibchen verpaart wurden, negativ. Die Tiere der beiden oberen Dosisgruppen zeigten eine verminderte Körpergewichtszunahme (ECHA 2015).

Tab. 4 Genotoxizität von Methylstyrol in vitro

Endpunkt	Testsystem	Konzentration [$\mu\text{g}/\text{Platte}$] ^{a)}	wirksame Konz. ^{a)}	Zytotoxizität ^{a)}	Ergebnis	Literatur
Genmutation	S. typhimurium TA98, TA100, TA1535, TA1537	0; 1; 3,3; 10; 33; 100; 333; 1000	–	ab 333 oder 1000 $\mu\text{g}/\text{Platte}$ (je nach Stamm; US EPA 2010)	–	NTP 1990; US EPA 2010
	S. typhimurium TA98, TA100, TA1535, TA1537, TA1538	0,01–10 $\mu\text{mol}/\text{Platte}$	–	k. A.	–	Norppa et al. 1981
SCE	CHO-Zellen	– m.A.: Versuch 1: 1,6; 5; 16; 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$; Versuch 2: 1, 5, 10, 25, 50, 75, 100, 150 $\mu\text{g}/\text{ml}$; Versuch 3: 25, 50, 75, 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ + m.A.: Versuch 1: 5, 16, 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$; Versuch 2: 10, 25, 50, 75 $\mu\text{g}/\text{ml}$	–	k. A.	–	NTP 1990
	humane Lymphozyten	0; 0,33; 1,0; 2,7; 4,0 mM (0, 39, 118, 0,33 mM, 319, 472 $\mu\text{g}/\text{ml}$)	–	k. A.	+	n. d. Norppa 1981 a; Norppa und Vainio 1983; Norppa et al. 1981
CA	CHO-Zellen	– m.A.: 1,6; 5; 16; 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$; + m.A.: 10, 25, 50, 75 $\mu\text{g}/\text{ml}$	–	–	–	NTP 1990
	humane Lymphozyten	0, 0,33; 1,0; 2,7; 4,0 mM (0, 39, 118, 2,7 mM, 319, 472 $\mu\text{g}/\text{ml}$)	–	k. A.	+	n. d. Norppa 1981 a; Norppa et al. 1981
Genmutation TK ^{+/–}	Mauslymphomzellen L5178Y, keine Unterscheidung zwischen großen und kleinen Kolonien	Versuch 1: 12,5; 25; 50; 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$; Versuch 2: 1, 10, 20, 40, 60, 80 $\mu\text{g}/\text{ml}$; Versuch 3: 40, 45, 50, 55, 60, 65 $\mu\text{g}/\text{ml}$	60 $\mu\text{g}/\text{ml}$	Versuch 1) 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$; lethale Versuch 2) u. 3) 60 $\mu\text{g}/\text{ml}$; RTG <10%; 80 bzw. 65 $\mu\text{g}/\text{ml}$; lethale	nur + bei Zytotox.	n. d. McGregor et al. 1988; NTP 1990

^{a)} Wenn nicht anders angegeben, bezieht sich die Angabe auf [$\mu\text{g}/\text{Platte}$]; n. d.: nicht durchgeführt; RTG: Relative Total Growth

Fazit:

In In-vitro-Untersuchungen wirkt Methylstyrol nicht mutagen in Bakterien. In CHO-Zellen zeigt sich keine Induktion von Schwester-Chromatid-Austauschen (SCE) oder chromosomalen Aberrationen (CA), hingegen werden in humanen Lymphozyten in sehr viel höheren Konzentrationen SCE und CA induziert. Angaben zur Zytotoxizität fehlen bei der Untersuchung auf CA. Methylstyrol wirkt auch nicht mutagen in Säugerzellen. In In-vivo-Untersuchungen ist aus dem gleichen Labor, in dem die In-vitro-Studien zur Klastogenität mit positivem Befund durchgeführt worden sind, ein Mikronukleustest bei allerdings zytotoxischen Dosierungen positiv. Tests auf SCE, chromosomale Aberrationen und dominante Letalmutationen weisen kein genotoxisches Potenzial nach.

5.7 Kanzerogenität**Inhalation**

In 2-Jahre-Inhalationsstudien wurden je 50 männliche und weibliche Fischer-344-Ratten gegen 0, 100 und 300 ml Methylstyrol/m³ und je 50 männliche und weibliche B6C3F1-Mäuse gegen 0, 10 oder 25 ml/m³ exponiert. Es traten ab der niedrigsten Konzentration lokale Befunde (siehe Abschnitt 5.2.1) jedoch keine substanzbedingten signifikant erhöhten Tumorinzidenzen auf (NTP 1990).

Bei zwei männlichen Ratten der 300-ml/m³-Gruppe wurden Lipome in der Niere beobachtet, eine gutartige mesenchymale Neoplasie, die bei unbehandelten F344-Kontroll-Ratten eine Inzidenz von 2 von 1590 (0,1%) Tieren in den historischen Kontrollen und 0 von 346 bei Kammer-Kontrolltieren (ebenfalls in einer Kammer gegen Luft exponiert) hat. Die Lipome der Niere werden als Zufallsbefund bewertet. Außerdem wurden bei zwei männlichen Ratten der 300-ml/m³-Gruppe Papillome in der Harnblase gesehen, deren Inzidenz in historischen Kontrollen unbehandelter Kontrolltiere 1 von 1552 (0,1%) und bei Kammer-Kontrolltieren 3 von 339 (0,9%) beträgt. Wegen fehlender Vorstufen (Hyperplasien) wurden die Harnblasen-Befunde ebenfalls als nicht substanzbedingt bewertet (NTP 1990).

Bei den exponierten Mäusen war die Inzidenz an Neoplasien in der Lunge geringer als in der Kontrollgruppe. Die Inzidenz an Adenomen und Karzinomen der Lunge aller männlichen Mäuse einer Konzentrationsgruppe betrug bei den Kammer-Kontrolltieren 12/50, bei den 10 ml/m³-Tieren 5/49 und bei den 25 ml/m³-Tieren 2/49, bei den weiblichen Tieren traten keine Lungentumoren auf. Auch die Inzidenz an Lymphomen des hämatopoetischen Systems war bei den männlichen Kontrolltieren mit 7/50 am höchsten und sank mit der Konzentration von 3/50 bei 10 ml/m³ auf 0/50 bei 25 ml/m³. Ein ähnlicher Trend zeigte sich auch bei den weiblichen Mäusen mit 16/48, 9/49 und 8/50. In der Leber war die Inzidenz hepatozellulärer Adenome und Karzinome bei den weiblichen Tieren bei 25 ml/m³ gegenüber der der Kontrolltiere ebenfalls signifikant vermindert: 9/48 (Kontrolle), 5/16 (10 ml/m³), 2/49 (25 ml/m³) (NTP 1990).

Oral

Methylstyrol (Reinheit >99%, 96,8% 4- und 3% 3-Methylstyrol) wurde mit der Schlundsonde 123 Wochen lang in Dosierungen von 0, 10, 50, 250 oder 500 mg/kg KG und Tag an je 60 oder 90 männliche und weibliche Sprague-Dawley-Ratten und 83 Wochen lang in Dosierungen von 0, 10, 50 oder 250 mg/kg KG und Tag an je 60 männliche und weibliche Swiss-Mäuse verabreicht. Es traten keine substanzbedingten signifikant erhöhten Inzidenzen an gutartigen oder bösartigen Tumoren pro Tier und kein erhöhter Prozentsatz an Tieren mit gutartigen oder bösartigen Tumoren auf. Bei den männlichen Ratten war die Überlebensrate ab 250 mg/kg KG und Tag, und bei den männlichen Mäusen in allen Behandlungsgruppen reduziert (k. w. A.; IARC 1994).

6 Bewertung

Der empfindlichste Effekt bei Ratten und Mäusen ist die Reizwirkung in der Nase bei inhalativer Exposition.

MAK-Wert. Methylstyrol führt in 2-Jahre-Inhalationsstudien ab der niedrigsten eingesetzten Konzentration von 10 ml/m³ bei Mäusen zu Entzündungen und Hyperplasien im respiratorischen Epithel und Entzündungen in der Lunge bzw. den Bronchiolen und ab 100 ml/m³ bei Ratten zu Zysten und Hyperplasien im olfaktorischen und respiratorischen Epithel. Die systemische NOAEC ist 10 ml/m³ für Mäuse und 100 ml/m³ für Ratten, da bei der jeweils nächsthöheren Konzentration von 25 bzw. 300 ml/m³ die Körpergewichtszunahmen vermindert sind.

Der Metabolismus von Methylstyrol verläuft ähnlich wie der von Styrol. Wie bei Styrol beschrieben, verläuft die Oxidation von Styrol zum Epoxid in der Nase bei Ratte und Maus in etwa gleich schnell, während die Entgiftung des Epoxides durch Hydrolase und Glutathion bei Ratten um ca. den Faktor 10 schneller erfolgt (siehe Abschnitt 2; EU 2008). Auch ein In-vitro-Vergleich mit Nasengewebe vom Menschen zeigt, dass beim Menschen fast keine Oxidation erfolgt, jedoch die Epoxidhydrolase- und GSH-Transferase-Aktivität in etwa der der Ratte entspricht. Somit ist der Mensch für Effekte an der Nase weniger empfindlich als Ratte und Maus (Green et al. 2001). Diese Speziesunterschiede sind auch für Methylstyrol anzunehmen. Ausgehend von der LOAEC von 100 ml Methylstyrol/m³ für eine lokale Wirkung bei der Ratte, berechnet sich eine NAEC von 33 ml/m³. Es handelt sich bei dieser Studie um eine Langzeitstudie, eine Wirkungsverstärkung mit der Zeit ist somit nicht zu berücksichtigen. Der Mensch ist an der Nase vermutlich deutlich weniger empfindlich als die Ratte, daher wird in diesem Fall die NAEC nicht durch 2 geteilt. So ergibt sich mit dem Preferred Value Approach aus der NAEC von 33 ml/m³ ein MAK-Wert von 20 ml Methylstyrol (alle Isomere)/m³. In einer Probandenstudie von 1956 zeigen Methylstyrol und Styrol eine starke Reizwirkung bei 400 ml/m³, führen jedoch zu keiner übermäßigen Belästigung bei 200 ml/m³ und haben eine Geruchsschwelle von 50 ml/m³. Daraus lässt sich schließen, dass die sensorische Reizwirkung von Styrol und Methylstyrol beim Menschen ähnlich ist. Auch Styrol hat einen MAK-Wert von 20 ml/m³, wodurch der MAK-Wert von Methylstyrol zusätzlich gestützt wird.

Spitzenbegrenzung. Da der MAK-Wert aufgrund der Reizwirkung am Atemtrakt abgeleitet wird, bleibt Methylstyrol der Spitzenbegrenzungs-Kategorie 1 zugeordnet. In der Probandenstudie tritt mit Methylstyrol ebenso wie mit Styrol bei 50 ml/m³ keine sensorische Irritation auf (Wolf et al. 1956). Da bei Ratten bei subchronischer bis chronischer Exposition gegen jeweils 1300 ml Styrol/m³ Nasen- und Augenreizung beobachtet werden, mit Methylstyrol jedoch nicht (Wolf et al. 1956), ist die sensorische Reizwirkung von Methylstyrol offenbar geringer als die von Styrol. Mit Styrol liegen auch weitere Probandenstudien vor, die eine höhere NOAEC als 50 ml/m³ nahelegen (EU 2008). Deshalb wird der bisherige Überschreitungsfaktor von 2 für Methylstyrol (alle Isomere) bestätigt.

Fruchtschädigende Wirkung. Es liegen nur mit 4-Methylstyrol Untersuchungen zur Entwicklungstoxizität vor.

In einer Entwicklungstoxizitätsstudie an Sprague-Dawley-Ratten ergeben sich bis auf nicht dosisabhängige Entwicklungsverzögerungen bei den Feten bis zur höchsten Dosis von 600 mg 4-Methylstyrol/kg KG und Tag keine entwicklungstoxischen oder maternaltoxischen Effekte (US EPA 2010).

Hingegen treten in einer weiteren Entwicklungstoxizitätsstudie an COBS-CD-Ratten ab der niedrigsten Dosis von 50 mg 4-Methylstyrol/kg KG und Tag bereits verminderte Körpergewichtszunahmen der Muttertiere und reduzierte Körpergewichte der Feten auf (US EPA 2010). Das Auftreten einer Meningozele bei 25 Feten wird als zufallsbedingt gewertet.

In einer Entwicklungstoxizitätsstudie an Holländer-Kaninchen werden bis zur höchsten Dosis von 150 mg 4-Methylstyrol/kg KG und Tag keine entwicklungstoxischen und maternaltoxischen Effekte beobachtet (US EPA 2010).

Da die drei beschriebenen Studien nicht im Original vorliegen und eine detaillierte Bewertung der Effekte nicht vorgenommen werden kann, wird Methylstyrol (alle Isomere) der Schwangerschaftsgruppe D zugeordnet.

Krebserzeugende Wirkung. In 2-Jahre-Inhalationsstudien an F344-Ratten und B6C3F1-Mäusen treten keine substanzbedingten signifikant erhöhten Tumorzinzenzen auf. Es erfolgt auch weiterhin keine Einstufung in eine der Kategorien für Kanzerogene.

Keimzellmutagene Wirkung. In In-vitro-Untersuchungen wirkt Methylstyrol nicht mutagen in Bakterien. In CHO-Zellen zeigt sich keine Induktion von Schwester-Chromatid-Austauschen (SCE) oder chromosomalen Aberrationen (CA), hingegen werden in humanen Lymphozyten in sehr viel höheren Konzentrationen SCE und CA induziert. Angaben zur Zytotoxizität fehlen bei der Untersuchung auf CA. Methylstyrol wirkt auch nicht mutagen in Säugerzellen. In In-vivo-Untersuchungen ist aus dem gleichen Labor, in dem die In-vitro-Studien zur Klastogenität mit positivem Befund durchgeführt worden sind, ein Mikronukleustest bei allerdings zytotoxischen Dosierungen positiv. Tests auf SCE, chromosomale Aberrationen und dominante Letalmutationen weisen kein genotoxisches Potenzial nach. Methylstyrol (alle Isomere) wird nicht in eine der Kategorien für Keimzellmutagene eingestuft.

Hautresorption. Aus einer In-vitro-Studie lässt sich abschätzen, dass eine einstündige Exposition der Hände und Unterarme (2000 cm^2) gegen unverdünntes Methylstyrol zu einer Gesamtaufnahme von etwa 208 mg ($\pm 126 \text{ mg}$) führt. Aus einer 2-Jahre-Studie an F344-Ratten leitet sich eine systemische NOAEC von 100 ml/m^3 ($490,5 \text{ mg/m}^3$) ab. Unter Berücksichtigung der Übertragung von tierexperimentellen Befunden auf den Menschen (1:2) sowie des erhöhten Atemvolumens am Arbeitsplatz (1:2) ergibt sich für eine Inhalation von 10 m^3 eine Gesamtaufnahme von 1225 mg . Die dermale Aufnahme beträgt damit weniger als 25% der inhalativen Aufnahme, so dass Methylstyrol nicht mit „H“ markiert wird.

Sensibilisierende Wirkung. Es liegen nur sehr vereinzelte Berichte über positive Epikutantest-Befunde mit Methylstyrol vor. Experimentelle Untersuchungen an Meerschweinchen mit Methylstyrol und dem strukturell eng verwandten Styrol zeigen keine bzw. keine eindeutige hautsensibilisierende Wirkung. Seit dem Nachtrag von 2002 sind keine Daten hinzugekommen, die eine Änderung der Bewertung der sensibilisierenden Wirkung erforderlich machen. Es erfolgt daher weiterhin weder eine Markierung mit „Sh“ noch mit „Sa“.

7 Literatur

- Condé-Salazar L, González MA, Guimaraens D, Romero L (1989) Occupational allergic contact dermatitis from styrene. *Contact Dermatitis* 21: 112
- ECHA (European Chemicals Agency) (2015) Information on registered substances. Dataset on vinyltoluene (CAS Number 25013-15-4), individual submission, first publication 16.03.2011, last modification 24.12.2015, <http://echa.europa.eu/web/guest/information-on-chemicals>
- EU (European Union) (2008) European Union Risk Assessment Report, Styrene, CAS No 100-42-5. Draft for publication, June 2008, United Kingdom, http://echa.europa.eu/documents/10162/13630/trd_rar_uk_styrene_en.pdf
- Fasano WJ, Baer KN (2006) The in vitro permeability coefficient and short-term absorption rates for vinyl toluene using human cadaver skin mounted in a static diffusion cell model. *Drug Chem Toxicol* 29: 39–55
- Gagnaire F, Nicot T, Zissu D, Bonnet P, Ceaurriz J (1986) Assessment of tail nerve function in rats chronically exposed to vinyltoluene. *Toxicol Lett* 30: 27–34
- Gagnaire F, Langlais C (2005) Relative ototoxicity of 21 aromatic solvents. *Arch Toxicol* 79: 346–354
- Green T, Lee R, Toghill A, Meadowcroft S, Lund V, Foster J (2001) The toxicity of styrene to the nasal epithelium of mice and rats: studies on the mode of action and relevance to humans. *Chem Biol Interact* 137: 185–202
- Grimalt F, Romaguera C (1975) New resin allergens in shoe contact dermatitis. *Contact Dermatitis* 1: 169–174
- Hood (2011) Developmental and reproductive toxicology: a practical approach, CRC Press, Boca Raton, FL, USA, 1–870
- IARC (International Agency for Research on Cancer) (1994) Vinyl toluene. IARC monographs on the evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to humans, Band 60, IARC, Lyon, FR, 373–388
- Khera KS (1973) Ethylenethiourea: teratogenicity study in rats and rabbits. *Teratology* 7: 243–252

- MARTA (Middle Atlantic Reproduction and Teratology Association) (1993) Historical control for development and reproductive toxicity studies using the CrI:CD*BR rat. Compiled by MARTA, Horsham, PA, USA,
http://www.criver.com/files/pdfs/rms/cd/rm_rm_r_tox_studies_crlcd_br_rat.aspx
- McGregor D, Brown A, Cattanach P, Edward 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
- Nolen GA (1969) Variations in teratogenic response to hypervitaminosis A in three strains of the albino rat. *Food Cosmet Toxicol* 7: 209–214
- Norppa H (1981 a) The in vitro induction of sister chromatid exchanges and chromosome aberrations in human lymphocytes by styrene derivatives. *Carcinogenesis* 3: 237–242
- Norppa H (1981 b) Styrene and vinyltoluene induce micronuclei in mouse bone marrow. *Toxicol Lett* 8: 247–251
- Norppa H, Vainio H (1983) Induction of sister-chromatid exchanges by styrene analogues in cultured human lymphocytes. *Mutat Res* 116: 379–387
- Norppa H, Skyttä E, Donner M, Sorsa M, Vainio H (1981) Mutagenicity of vinyl toluene. *Mutat Res* 85: 294
- NTP (National Toxicology Program) (1990) Toxicology and carcinogenesis studies of vinyl toluene (mixed isomers) (65–71% meta-isomer and 32–35% para-isomer) (CAS No. 25013-15-4) in F344/N rats and B6C3F1 mice (inhalation studies). NTP Technical Report Series No. 375, US Department of Health and Human Services, National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA,
https://ntp.niehs.nih.gov/ntp/htdocs/lt_rpts/tr375.pdf
- Saillenfait AM, Sabate JP, Langonne I, de Ceaurriz J (1991) Difference in the developmental toxicity of ethylenethiourea and three N,N'-substituted thiourea derivatives in rats. *Fundam Appl Toxicol* 17: 399–408
- Senma M, Fujiwara N, Sasaki S, Toyama M, Sakaguchi K, Takaoka I (1978) Studies on the cutaneous sensitization reaction of guinea pigs to purified aromatic chemicals. *Acta Derm Venereol* 58: 121–124
- Seppäläinen AM, Savolainen H (1982) Dose-dependent neurophysiological and biochemical effects of prolonged vinyltoluene vapour inhalation in rat. *Neurotoxicology* 3: 36–43
- Sjöborg S, Dahlquist I, Fregert S, Trulsson L (1982) Contact allergy to styrene with cross reaction to vinyltoluene. *Contact Dermatitis* 8: 207–208
- Sjöborg S, Fregert S, Trulsson L (1984) Contact allergy to styrene and related chemicals. *Contact Dermatitis* 10: 94–96
- SRC (Syracuse Research Corporation) (2015) p-Methylstyrene, CAS No. 622-97-9, PhysProp database,
<http://esc.syrres.com/fatepointer/webprop.asp?CAS=622979>
- US EPA (US Environmental Protection Agency) (2003) EPA's HPV challenge program: tier I screening SIDS dossier for styrene, AR-methyl-(vinyl toluene), CAS No. 25013-15-4. US EPA, Washington, DC, USA
- US EPA (2010) Screening-level hazard characterization, sponsored chemical vinyl toluene (CASRN 25013-15-4), supporting chemical p-Methylstyrene (CASRN 622-97-9). US EPA, Washington, DC, USA
- Wolf MA, Rowe VK, McCollister DD, Hollingsworth RL, Oyen F (1956) Toxicological studies of certain alkylated benzenes and benzene. *AMA Arch Ind Health* 14: 387–398

abgeschlossen am 12.04.2016