

Forum Arbeitsmedizin Wien, 3.-4. Oktober 2013
Arbeitsmedizinische Toxikologie – Update

Arbeitsstoffe mit Auswirkung auf die Reproduktion / Fertilität

Prof. Dr. Gisela H. Degen

Leibniz Institut für Arbeitsforschung an der TU Dortmund (IfADo)



Leitung Projektgruppe *Chemikalienrisiken*

Mitglied im UA III des AGS und des SCCS

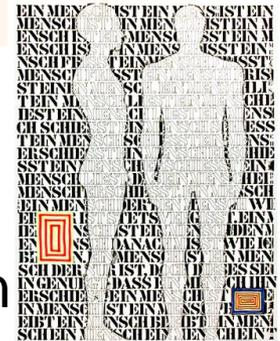


Gliederung

Ausgewählte FOLIEN (mehr im Vortrag)

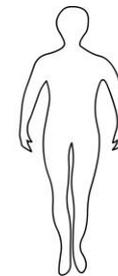
Teil 1

- **Reproduktion** → $R_{D/E}$ und R_F
- Reprotoxische Stoffe mit div. Wirkmechanismen
 - Endokrin aktive Substanzen
- Regulatorische Aspekte



Teil 2

- **Borsäure** u. Borate
- Hazard (CLP) ! und Risk ?



Diskussion

Reproduktionstoxikologie

Reproductive Health Hazards

Agentien, die

1. Fertilität in adulten Individuen (m, f)
beeinträchtigen

reproductive toxins

und / oder

2. zu Entwicklungsstörungen oder zum Tod
des Embryo (bzw. Feten; Kindes)
führen können

developmental toxins

**R_F –
Stoffe**

**R_E –
(R_D –
Stoffe**

Reproduktionstoxine in Arbeits- und Umwelt

Stoffgruppen

Beispiele

Industriechemikalien

1,2-Dibrom-3-chlorpropan

Dibromethan

Vinylchlorid

Benzol, Toluol, Xylol

Glykoläther

Polychlorierte Biphenyle

Metalle

Blei

Quecksilber

Zink

Anästhetika

Halothan

Medikamente

Östrogene und Androgene (Anti-H.)

Valproinsäure

Zytostatika

– viele potentielle Angriffspunkte (*targets*)

– unterschiedliche Mechanismen (*threshold* ?)

Chemische und physikalische Gefährdungen in “Military Settings”

- Anesthetic Gases
- Antineoplastic drugs
- Carbon Monoxide
- Lead
- Radiation
- Vibration
- PCBs
- Organic Mercury
- Fules/JP-8
- Physical stress
- Organic Solvents
- High Altitude

Fruchtschädigende Agenzien (R_E)

AT : Buch der Richter (13)

Rat an Simson 's künftige Mutter:

*Du wirst empfangen und einen Sohn austragen;
... trink keinen Wein oder starke Getränke
und iss nichts Unreines ...*

Heute:

**und rauche nicht und nimm keine Drogen !
(auch wenn Du eine Tochter gebären wirst ...)**

**Wichtige *teratogene* Risikofaktoren :
Alkohol - „drugs“ - Tabakrauch**

Fertilität

Minderung bei Exposition von
adulten Individuen (**m**, **f**)
reversibel oder irreversibel ?

FERTILITÄTS-Minderung nach
vorgeburtlicher Einwirkung von
Chemikalien ... *irreversibel*

Faktoren - Fertilität beim Mann *

- *Chemikalien können durch unterschiedliche Mechanismen die Fertilität mindern*

indirekt: z.B. Funktionsänderung an Hypothalamus & Hypophyse

direkt: z.B. Schäden an den Samenbläschen

- **Arbeitsplatz und Umwelt** ♦ **Hitze** (Scrotum Temperatur)

hohe Mengen in Produktion / häufiger Gebrauch erleichtern

Nachweis Dosis-abhängiger Effekte

- *Halogen-haltige Stoffe*: z.B. 1,2-Dibrom-3-chlorpropan (DBCP)
- *Metalle*: Blei, Cadmium,
- *Hormone*: synthetische (potente) Östrogene

- **Lebensstil**

- *Rauchen*: Vasokonstriktion, reduz. Spermienvol.
- *Alkohol*: Hypoandrogenismus bei Trinkern
- *Illegale Drogen*: Marijuana, Cocain

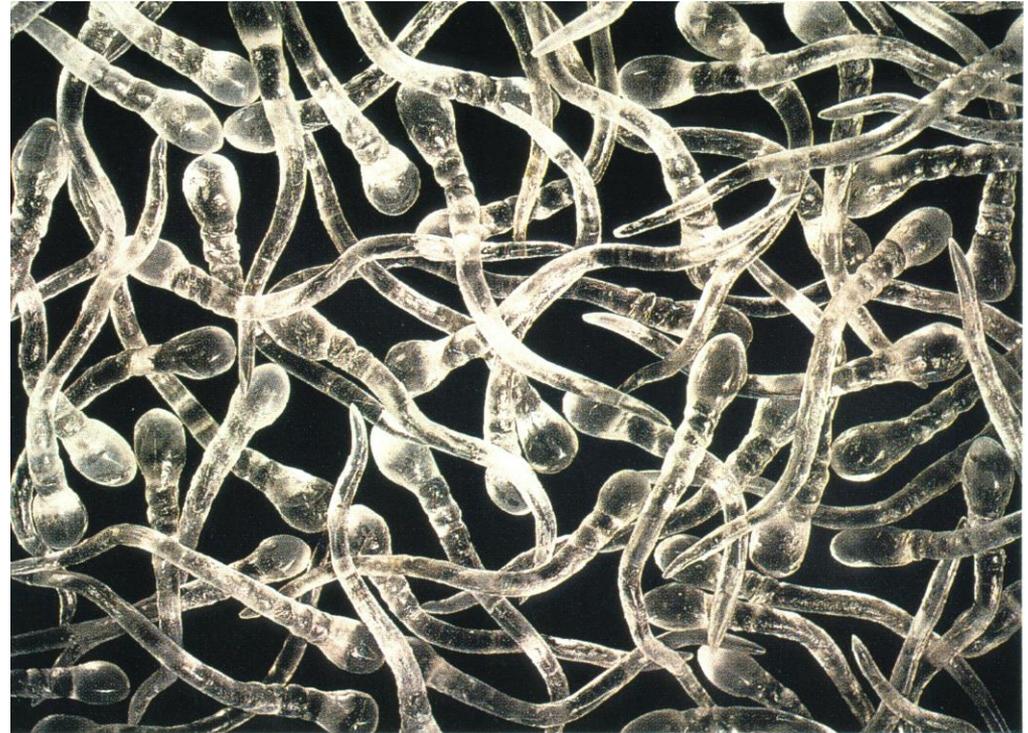
„Endokrine Disruptoren“ :

Sind **EAC** 's in der Umwelt verantwortlich für

adverse Effekte

beim Menschen ?

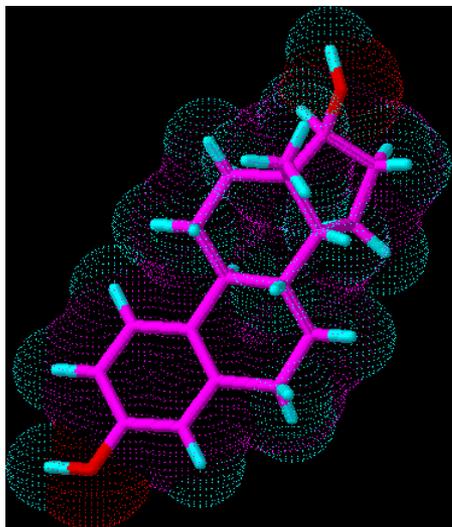
- die „Spermienkrise“
- Hypospadien
- Hodenkrebs
- **Brustkrebs**
- neuroendokrine und
- immunologische
Veränderungen



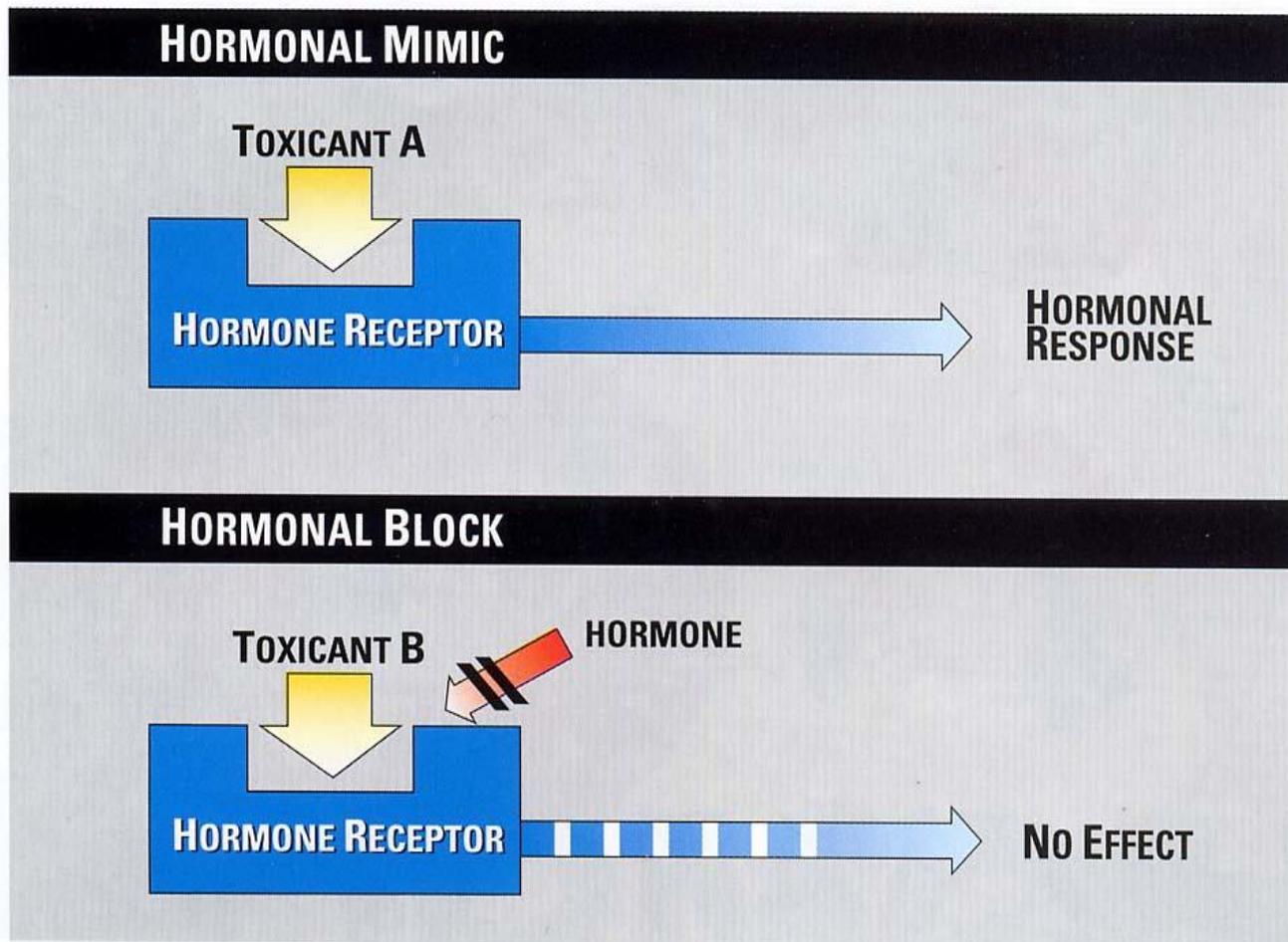
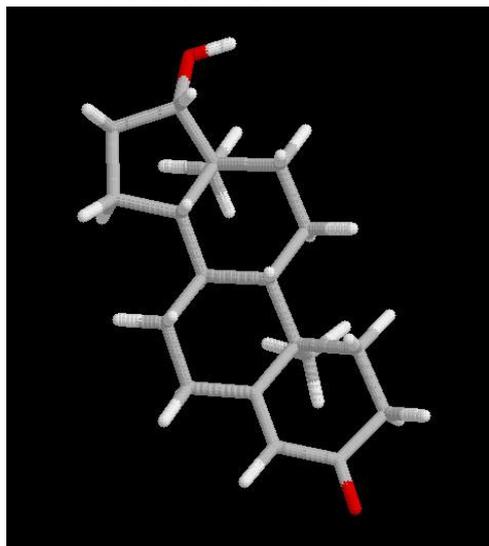
Kiki Smith, Untitled (sperm), 1989–90

Endokrin aktive Chemikalien: Mode of Action A/B

17 β -Estradiol



Testosteron

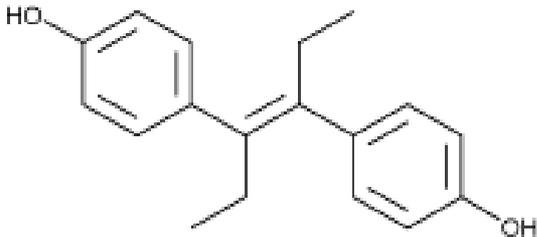


Toxic actions. Exogenous chemicals may act at hormone receptor sites by mimicking an endogenous hormone to create a response or by blocking an endogenous hormone from producing an effect.

Source: McLachlan JA. Functional toxicology: a new approach to detect biologically active xenobiotics. *Environ Health Perspect* 101:386-387 (1993).

Diethylstilbestrol

potentes Hormon,
in den 1950-1970er
Schwangeren als
Medikation verordnet ...



→ Teratogen &

transplazentares
Kancerogen

"Really?"



Yes ...

desPLEX

to prevent ABORTION, MISCARRIAGE and
PREMATURE LABOR

recommended for routine use
in ALL pregnancies . . .

96 per cent live delivery with **desPLEX**
in one series of 1200 patients⁴—
— bigger and stronger babies, too.¹

No gastric or other side effects with **desPLEX**
— in either high or low dosage^{3,4,5}

(Each **desPLEX** tablet starts with 25 mg. of diethylstilbestrol, U.S.P., which is then ultramicronized to smooth and accelerate absorption and activity. A portion of this ultramicronized diethylstilbestrol is even included in the tablet coating to assure prompt help in emergencies. **desPLEX** tablets also contain vitamin C and certain members of the vitamin B complex to aid detoxification in pregnancy and the effectuation of estrogen.)

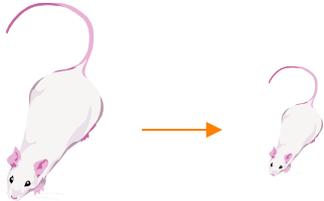
For further data and a generous
trial supply of **desPLEX**, write to:
Medical Director

REFERENCES

1. Canario, E. M., et al.: *Am. J. Obst. & Gynec.* 65:1298, 1953.
2. Gitman, L., and Kaplan, A.: *N. Y. St. J. Med.* 50:2822, 1950.
3. Karnaky, K. J.: *South. M. J.* 45:1166, 1952.
4. Pena, E. E.: *Med. Times* 87:921, 1954; *Am. J. Surg.* 87:95, 1954.
5. Ross, J. W.: *J. Nat. M. A.* 43:70, 1951; 45:223, 1952.

GRANT CHEMICAL COMPANY, INC., Brooklyn 26, N.Y.

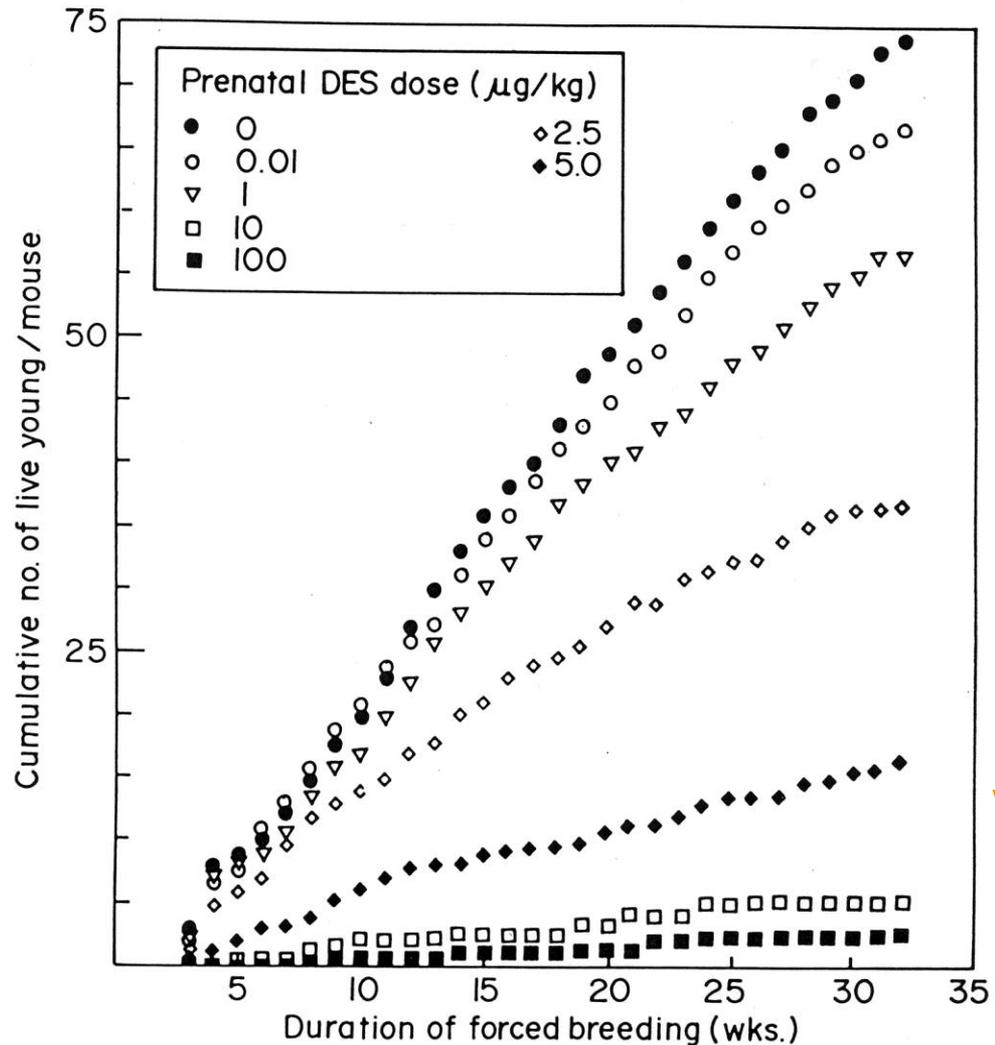
Reduzierte Fertilität in **weibl.** Mäusen mit transplazentarer Diethylstilbestrol Exposition



Dosis-abhängige
Reduktion der
Fertilität ..

.. steril bei hohen
Dosen

McLachlan et al. 1982
Fertility & Sterility
38: 364-371



Transplazentare Diethylstilbestrol Exposition: Effekte in **männl. Mäusen**

- ◆ **Entwicklung?** Effekte maternaler Dosen **s.c.** von 0.1, 1.0, 2.5, 5, 10 or 100 $\mu\text{g} / \text{kg}$ BW an GD 9-16 auf Struktur und Funktion des Genitaltrakt:

Nur bei der höchsten Dosis „*noticeable changes in the reproductive tract of **male** offspring*“

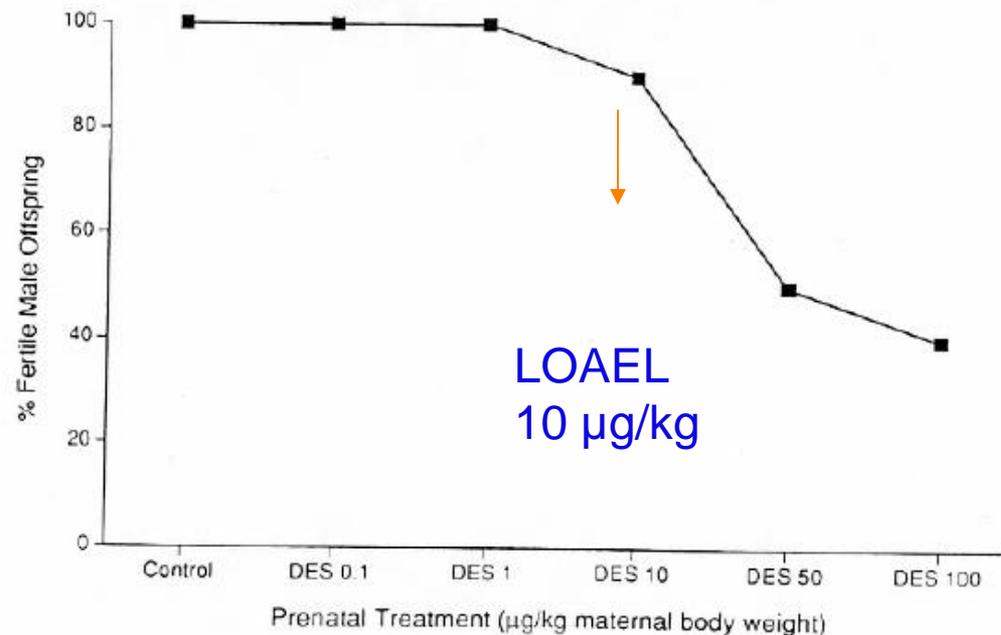
McLachlan, 1981



- ◆ **Fertilität?**

R.R. Newbold (1998)

In: Reproductive and Developmental Toxicology (Ed. K.S. Korach) Marcel Dekker, Inc. New York, pp. 531-551



Reproduktionstoxikologie

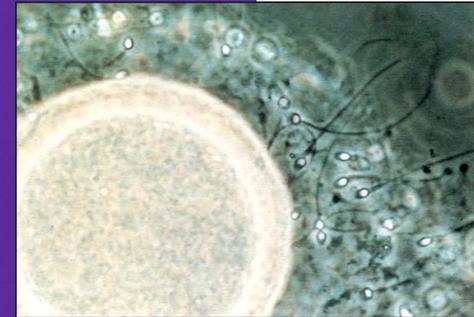
Reproductive Health Hazards

Agentien, die

1. Fertilität in adulten Individuen (m, f) beeinträchtigen
reproductive toxins

und / oder

2. zu Entwicklungsstörungen oder zum Tod des Embryo (bzw. Feten; Kindes) führen können
developmental toxins



**R_F -
Stoffe**

**R_E -
(R_D -
Stoffe**

Arbeitsplatzgrenzwerte

Ausschuss für Gefahrstoffe

- **Schwangerschaftskategorie** => Hinweis, ob ein Risiko der Fruchtschädigung bei Einhaltung des Grenzwertes (AGW) besteht
- **TRGS 900:**
 - **Y: ein Risiko der Fruchtschädigung muss bei Einhaltung des Arbeitsplatzgrenzwertes und des biologischen Grenzwertes *nicht* befürchtet werden**
 - **Z: ein Risiko der Fruchtschädigung kann auch bei Einhaltung des AGW und des BGW nicht ausgeschlossen werden**

Kriterien für „Y“ bzw. „Z“ ?

http://www.baua.de/cln_137/de/Themen-von-A-Z/Gefahrstoffe/TRGS/Bekanntmachung-901.html



Abschnitt VIII: MAK-Werte und Schwangerschaft $R_{E/D}$ -Stoffe ??

Nach einer eingehenden Diskussion der Grundlagen und Möglichkeiten zur Klassifizierung fruchtschädigender Arbeitsstoffe erfolgt eine Einteilung der Listenstoffe (Teil II a) in einer besonderen Spalte „Schwangerschaft“ in die folgenden Gruppen:

Gruppe **A**: Ein Risiko der Fruchtschädigung ist sicher nachgewiesen. Bei Exposition Schwangerer kann auch bei Einhaltung des MAK-Wertes und des BAT-Wertes eine Schädigung der Leibesfrucht auftreten.

Gruppe **B**: Nach dem vorliegenden Informationsmaterial muss ein Risiko der Fruchtschädigung als wahrscheinlich unterstellt werden. Bei Exposition Schwangerer kann eine solche Schädigung auch bei Einhaltung des MAK-Wertes und des BAT-Wertes nicht ausgeschlossen werden.

Gruppe **C**: Ein Risiko der Fruchtschädigung braucht bei Einhaltung des MAK-Wertes und des BAT-Wertes nicht befürchtet zu werden.

Gruppe **D**: Eine Einstufung in eine der Gruppen A–C ist noch nicht möglich, weil die vorliegenden Daten wohl einen Trend erkennen lassen, aber für eine abschließende Bewertung nicht ausreichen.

+++ allg. Regelungen des Mutterschutz

Toxicological testing requirements (selected) under REACH

1 – 10 t (Annex VII)

Skin irritation, eye irritation, skin sensitisation,
mutagenicity, acute toxicity

10 – 100 t (Annex VIII)

+ 28 d toxicity, **screening for reprotox**, toxicokinetics

100 – 1000 t (Annex IX)

+ 90 d toxicity, **reprotox (extended)**

> 1000 t (Annex X)

+ **Reprotox** (further extended), 2 year chronic toxicity



About 30 000 compounds to be tested until 2018

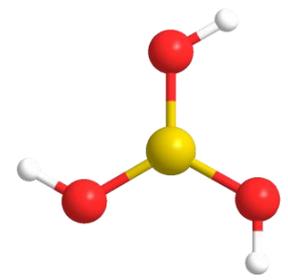


Capacities ?? Large number of animals

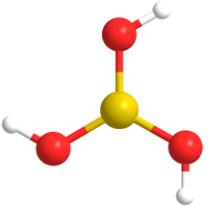
Alternatives ? (RRR approach)



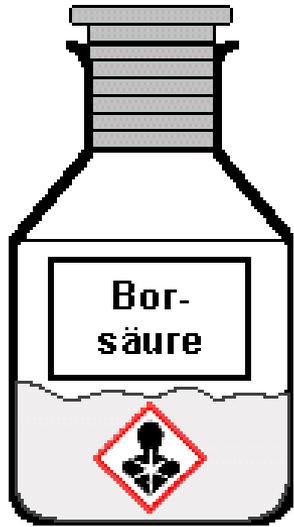
Teil 2 - Topics



- Allgemeines: Vorkommen, Produktion, Verwendung
- Exposition: Arbeitsplatz, Umwelt, Verbraucherprodukte
- Reproduktions-Toxizität: Fertilität, Entwicklung
- aktuelle Diskussion zu Einstufung/Kennzeichnung
 - Epidemiologische Studien (Humanexpos.)
 - Wirkungsmechanismen?
- Schlussbemerkungen



Borsäure H_3BO_3



Weißglänzendes Pulver
oder Plättchen

Natürliches Vorkommen
in heißen Quellen gelöst
als Mineral (Sassolin)

Molmasse 61,833 g/mol

AGW 0,5 mg/m³ (TRGS 900)

Dichte 1,5 g/cm³

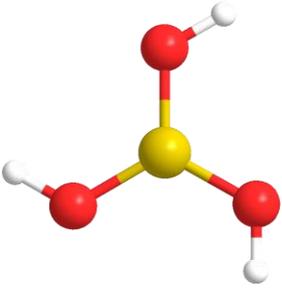
Schmelzpunkt 170,9 °C

Wasserlöslichkeit

100g H₂O lösen bei 25 °C 5,80 g

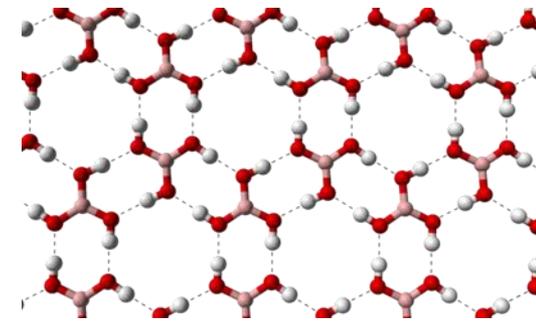
Die Herstellung erfolgt aus **Borax** und **Schwefelsäure**:





Borsäure

Verwendung



- dient zur Herstellung weiterer Borverbindungen (Borate, Borsäureester)
- als Flussmittel bei der **Glas- und Emailproduktion**,
 - zur Konservierung in der **Leder-, Holz-, und Klebstoffindustrie**,
 - als Flussmittel in der **Galvanotechnik** und in der **Metallverarbeitung**,
 - als Imprägnierung und Brandschutz in der **Textilindustrie**,
 - zur Herstellung von Borosilicatgläsern und
 - bei der Kerzenherstellung zum Steifen der Dochte.

Bemerkung für Schulen: Borsäure ist **ein reprotoxischer Stoff**.
Schülerversuche dürfen nicht mehr damit durchgeführt werden.

Borsäure - Borate

Transitional Annex XV Dossier Austria 2008

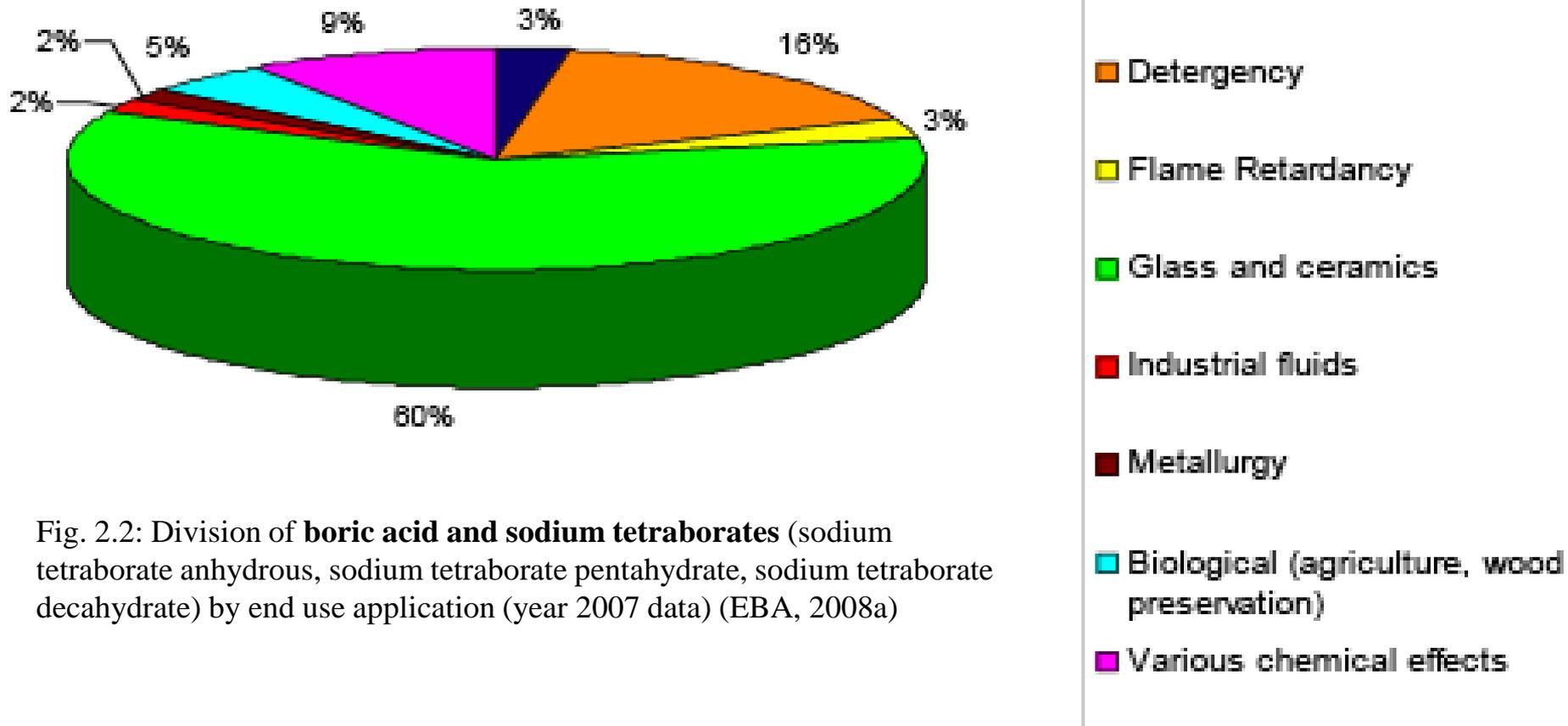


Fig. 2.2: Division of **boric acid and sodium tetraborates** (sodium tetraborate anhydrous, sodium tetraborate pentahydrate, sodium tetraborate decahydrate) by end use application (year 2007 data) (EBA, 2008a)

Mögliche Expositionen bei Abbau & Produktion

– Umwelt – *downstream user* ?

Umrechnungsfaktoren von Borverbindungen in B Äquivalente

		Conversion factor for Equivalent dose of B
→ Boric acid	H_3BO_3	0.175
Boric oxide	B_2O_3	0.311
→ Disodium tetraborate decahydrate (Borax)	$\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$	0.113
Disodium tetraborate pentahydrate	$\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0.148
Disodium tetraborate anhydrous	$\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$	0.215
Disodium octaborate tetrahydrate	$\text{Na}_2\text{B}_8\text{O}_{13} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	0.210

Rio Tinto Borax, 2004

vergleichbare Toxizität wenn adjustiert auf Bor-Gehalt

*EXPOSITIONEN: Stäube / Aerosole
Nahrung / Trinkwasser
div. Produkte (Kosmetika, ...)*

Borsäure, Boroxid, Na-Borate

Expositionen – Regelungen – Grenzwerte ?

Arbeitsplatz

AGW: 0,50 mg B/m³ (TRGS 900); Schw.Gruppe Y*

MAK: 0,75 mg B/m³ (BS&Tetraborate) Schw.Gruppe B

a) Lokale Reizerscheinungen in Atemtrakt und Augen;

b) Reproduktionstoxische W. in Tierversuchen

Alle (General population)

EFSA: tolerable upper intake level (UL)

0,16 mg/kg KG/Tag (10 mg boron/person/day)

SCCS: use of boric acid, borates & tetraborates in cosmetics is regulated in entries 1a and 1b of Annex III of the Cosmetic Directive → specific concentration limits

TOXIZITÄT: Reviews/Dossiers & Einstufung/Kennzeichnung

Toxizität von Boraten ?

Kritische Targets in Tierversuchen

(ECB 2006; EFSA 2004; SCCS 2010)

Fertilität

Ratte, Maus:

männliche Tiere empfindlicher als weibliche

Veränderungen in Spermienparametern und histopathologische Befunde an den Hoden bei Ratte, Maus und Hund

NOAEL: 100 mg Borsäure/kg BW/Tag --> **17,5 mg B**/kg BW/Tag

Entwicklung

Ratte, Maus, Kaninchen:

Vermindertem Foetengewicht; kardiovaskuläre und skelettale Fehlbildungen

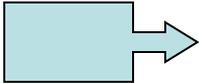
Veränderungen bei Dosen ohne maternale Toxizität

NOAEL: 55 mg Borsäure/kg BW/Tag --> **9,6 mg B**/kg BW/Tag

Einstufung & Kennzeichnung

from CLP-Proposal 2013

Table 2: The current Annex VI entry and the proposed harmonised classification

	CLP Regulation	Directive 67/548/EEC (Dangerous Substances Directive; DSD)
Current entry in Annex VI, CLP Regulation 	Repr. 1B - H360FD $C \geq 5,5\%$	Repr. Cat 2; R60-61 $C \geq 5,5\%$
Current proposal for consideration by RAC	Repr. 2 - H361d $C \geq 5,5\%$	Repr. Cat 3; R63 $C \geq 5,5\%$

May damage fertility.

May damage the unborn child.

May impair fertility.

May cause harm to the unborn child.

Toxikokinetik & Biomonitoring

Borsäureverbindungen ...

Aufnahme

Dermal: gering (<0.5%)

Inhalativ: ja (.. %)

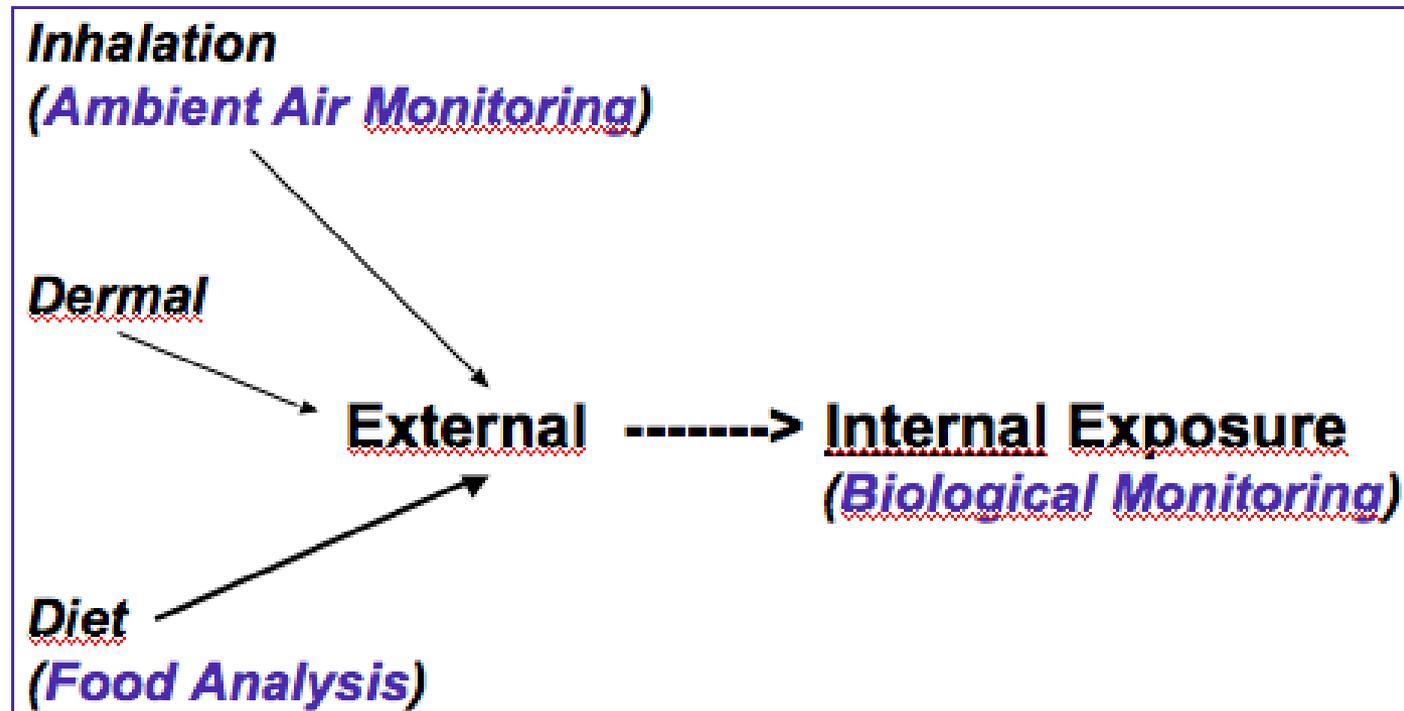
Oral: nahezu vollständig

Elimination

überwiegend

(>90%) renal

(ca. 50% in 12 h)



Toxikokinetik & Biomonitoring

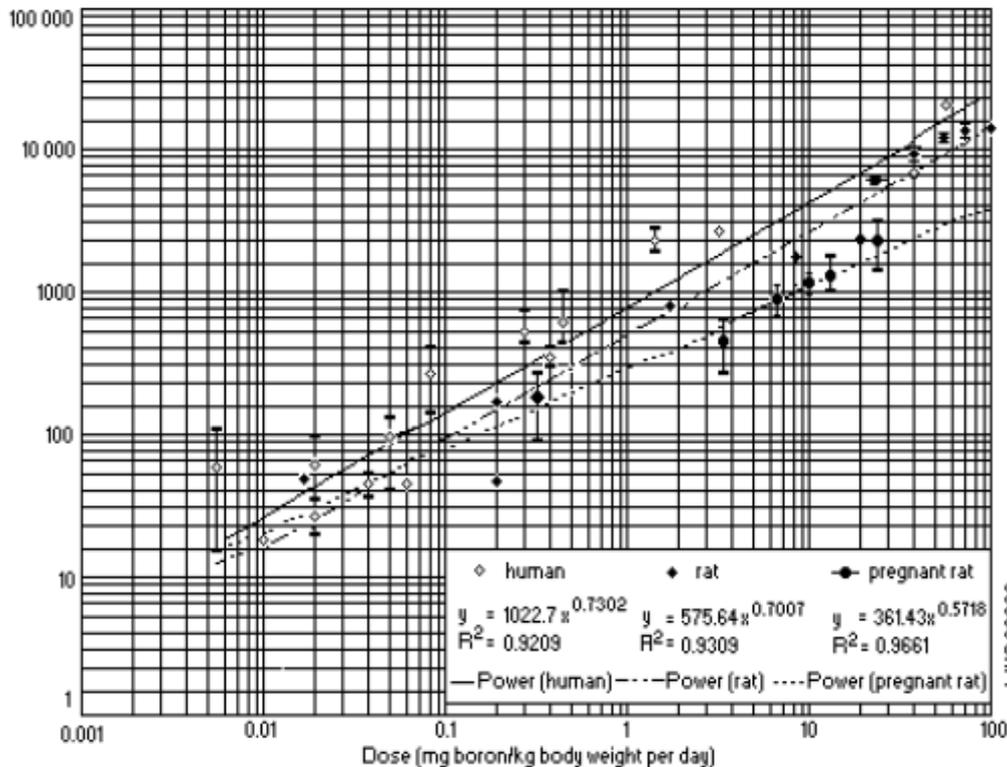
Borsäureverbindungen ...

Aufnahme

Dermal: gering (<0.5%)

Inhalativ: ja (.. %)

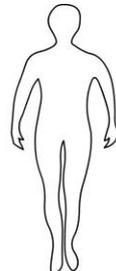
Oral: nahezu vollständig



→ ähnliche Kinetik bei Mensch – Ratte

reduz. UF Extrapolation

Borgehalt im Blut (ng/ml) von **Mensch und Ratte** in Abhängigkeit von der **oral zugeführten** Körperdosis (Grafik aus WHO, 1998).



Diskussion zu Borsäure



Some slides from Presentations at the

Workshop on the New Toxicological Evidence of Borate Substances

Oct 9-10, 2012 Warsaw, Poland

<https://download:x2s4fuWn@download.bfr.bund.de/downloads/dfgmXtfu/>

CHL Report for Boric Acid - Proposal for Harmonized Classification and Labelling - submitted by Bureau for Chemical Substances Lodz, Poland v2 of **23.04.2013**

...
 SCCS Opinion of September 2010 (Consumer safety) at:
http://ec.europa.eu/health/scientific_committees/consumer_safety/index_en.htm

weitere Daten zu Borsäure-Verbindungen in folgendem Dossier:
http://echa.europa.eu/documents/10162/13630/trd_austria_trisodiumtetraborate_en.pdf

Epidemiologische Studien (1)

Stand von 2004

❖ Studien zu Einflüssen von Boraten auf die Fertilität bei Arbeitern und Personen in Regionen mit rel. hohen B-Konzentrationen in der Umwelt ...

(Truhaut et al. 1964, Tarasenko 1972, Krasovkii et al. 1976, Whorton 1994, Tuccar 1998, Sayli 1998, 2001, 2003)

➤ Working Group of Specialized Experts (Ispra 2004): „*available studies of insufficient quality to demonstrate presence or absence of **fertility** effects*“

→ **neue Studien in China** (Chang et al. 2006, Xing et al. 2008, Scially et al. 2010, Robbins et al. 2010) **und in der Türkei** (Duydu et al. 2011 a,b,c & Basaran et al. 2012)
mit Biomonitoring der Expositionen

Synopse Bor-Expositionen Mensch und Ratte *

	Estimated daily B exposures	B blood levels (whole blood)
<i>Human studies</i>	<i>mg per day</i>	<i>ng B/g blood</i>
China, occup. (high exposure group)	37 [2.3 - 470]	500 [20 - 3600]
Turkey, env. + occup. (high exposure group)	14.5 [3.3 - 36]	220 [150 - 450]
Turkey, env. (high dose „Group I“)	6.8 [1.8 - 23]	- -
U.S.A., occup. („high dust exposure group“)	28 -	260 [up to 330]
<i>Experimental studies</i>	<i>mg/kg per day</i>	<i>ng B/g blood</i>
Rat NOAEL, fertility	18	2300
Rat NOAEL , devel. tox.	9.6	1270

* Bolt et al. (2012) J Toxicol Environ Health Part A, 75: 508-514

--> **Risiko ???**

Resume neue Studien *

- ◆ Bekannte hohe *Umweltexpositionen* gegen Bor sind i.d.R. niedriger als hohe *berufliche Expositionen*.
- ◆ Kein Widerspruch zwischen positiven Befunden im Tierversuch und negativen Humandaten zur Reproduktionstoxizität bei Skalierung auf Blutspiegel.
- ◆ Humane Bor-Exposition (innere E.) ist - auch in den am höchsten exponierten Kohorten - weitaus niedriger als die Bor-Spiegel in Blut (und Zielgewebe) bei denen toxische Effekte auf Reproduktion im Tier auftreten.

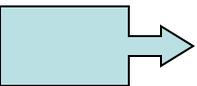
* nach Bolt et al. ENTOMX 2011

Epidemiologie (2)

Stand von 2012

Bewertung **ANSES** (France) - Anfrage European Borate Association

- These new studies identified no effect of boric acid on sperm quality or hormone concentrations.
- However, a potential accumulation of boron in human sperm was identified.
- Methodological shortcomings and especially the small number of subjects studied have limited the validity of these studies.



Diskussion zur Einstufung (CLP)

... **current classification** of boric acid is **Repr 1B H360FD**.

The Polish CA proposes a classification as Repr 2 H361d

--> **Presumed** ... *versus suspected human reproductive toxicant*

Arguments put forward

1) Epidemiological Data:

**2) Consideration of inherent toxicological hazard
versus real-life exposure situation in humans:**

3) Recent mechanistic studies: ...

4) Beneficial effects of Boron:

Boron meets the criteria for essentiality in humans

→ *German CA concludes that arguments do not justify
a reclassification*

Danke für Ihr Interesse !

Teil 3: Diskussion

gern mehr zu

- Mechanismen einzelner Stoff, z.B.
- Borsäure u. Dosis-Effekt Beziehungen



Theoria cum praxi !