

The MAK Collection for Occupational Health and Safety

Methanol

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: Methanol; Neurotoxizität; zentrales Nervensystem; Entwicklungstoxizität; Entwicklungsneurotoxizität; Hautresorption; Genotoxizität; Kanzerogenität; MAK-Wert; maximale Arbeitsplatzkonzentration

Citation Note: Hartwig A, MAK Commission. Methanol. MAK-Begründung, Nachtrag. MAK Collect Occup Health Saf [Original-Ausgabe. Weinheim: Wiley-VCH; 2019 Aug;4(3):1476–1507]. Korrigierte Neuveröffentlichung ohne inhaltliche Bearbeitung. Düsseldorf: German Medical Science; 2025. https://doi.org/10.34865/mb6756d0067_w

Neuveröffentlichung (Online): 30 Apr 2025

Vormals erschienen bei Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA; <https://doi.org/10.1002/3527600418.mb6756d0067>

Addendum abgeschlossen: 21 Mrz 2018

Erstveröffentlichung (Online): 01 Aug 2019

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



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

Methanol

[Methanol]

MAK value documentation in German language

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

DOI: 10.1002/3527600418.mb6756d0067

Abstract

The German Commission for the Investigation of Health Hazards of Chemical Compounds in the Work Area has re-evaluated the maximum concentration at the workplace (MAK value) of methanol [67-56-1] of 200 ml/m³, considering all toxicity endpoints. Available publications and unpublished study reports are described in detail. Uptake of larger amounts of methanol depresses the central nervous system and leads to developmental toxicity as direct effects of methanol followed by metabolic acidosis and ocular toxicity as formate effects.

No neurobehavioral effects were observed in subjects exposed 4 hours to 200 ml/m³ at rest leading to a concentration of 6.5 mg methanol/l blood. The steady state concentration of methanol after exposure to 100 ml/m³ with physical activity is calculated to be 6 mg methanol/l blood and is reached after 8 hours. Therefore, taking into account the increased respiratory volume at the workplace (see List of MAK- and BAT Values, Sections I b and I c), the MAK value has been lowered to 100 ml/m³. Due to the half-life for methanol of 1.4 hours in humans, no accumulation of methanol is expected during the work week.

Since a systemic effect is critical, Peak Limitation Category II is retained. As the half-life in humans is 1.4 hours, the excursion factor has been set to 2. No irritation was observed in volunteers at 200 ml/m³, the permissible peak concentration.

Taking into consideration the data for methanol and the metabolite formate, damage to the embryo and fetus is unlikely when the MAK value for methanol is not exceeded. Therefore, methanol remains classified in Pregnancy Risk Group C.

Methanol is not genotoxic in vitro at concentrations which are not cytotoxic. No clastogenic effects were observed in vivo. No increased tumour incidence occurred in long-term inhalation studies in mice and rats as well as in a long-term study in rats with administration in the drinking water.

Uptake via the skin can lead to systemic effects and methanol remains designated with "H".

Keywords

Methanol; Methylalkohol; Wirkungsmechanismus; Toxikokinetik; Metabolismus; (sub)akute Toxizität; (sub)-chronische Toxizität; Reproduktionstoxizität; Fertilität; Entwicklungstoxizität; Genotoxizität; Kanzerogenität; Spitzenbegrenzung; fruchtschädigende Wirkung; krebserzeugende Wirkung; keimzellmutagene Wirkung; Hautresorption; 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)

Methanol

[67-56-1]

Nachtrag 2019

MAK-Wert (2018)	100 ml/m³ (ppm) \triangleq 130 mg/m³
Spitzenbegrenzung (2018)	Kategorie II, Überschreitungsfaktor 2
Hautresorption (1969)	H
Sensibilisierende Wirkung	–
Krebserzeugende Wirkung	–
Fruchtschädigende Wirkung (1995)	Gruppe C
Keimzellmutagene Wirkung	–
BAT-Wert (2018)	15 mg/l Urin

1 ml/m³ (ppm) \triangleq 1,33 mg/m³

1 mg/m³ \triangleq 0,752 ml/m³ (ppm)

Zu Methanol liegen eine Bewertung der entwicklungstoxischen Wirkung von 1995, eine Begründung von 1999, in der alle Endpunkte bewertet wurden, sowie ein Nachtrag zur Spitzenbegrenzung von 2002 vor.

Seit dem Jahr 2016 berücksichtigt die Kommission bei Stoffen, deren MAK-Wert auf systemischen Effekten basiert und aus inhalativen Tierversuchen oder Probandenstudien in Ruhe abgeleitet wurde, dass das Atemvolumen am Arbeitsplatz höher ist als unter diesen experimentellen Bedingungen. Dies gilt jedoch nicht für Gase und Dämpfe, wenn deren Blut:Luft-Verteilungskoeffizient < 5 ist (siehe MAK- und BAT-Werte-Liste, Abschnitt I b und I c). Für Methanol wurden Blut:Luft-Verteilungskoeffizienten von 1349 und 1517 bestimmt (Begründung „Die Bedeutung der Arbeitsleistung für die Inhalationskinetik“ 1998). Mit diesem Nachtrag wird überprüft, ob aufgrund des höheren Atemvolumens am Arbeitsplatz der MAK-Wert und die Schwangerschaftsgruppe von Methanol geändert werden müssen. Ferner werden neue Daten zur Toxizität bei wiederholter Exposition, Kanzerogenität und Reproduktionstoxizität berücksichtigt, und es erfolgt eine Bewertung der Daten hinsichtlich der Keimzellmutagenität. Neue Daten zur sensibilisierenden Wirkung liegen nicht vor.

Zeitgleich mit der Reevaluierung des MAK-Wertes ist auch die Reevaluierung des BAT-Wertes erfolgt (siehe MAK- und BAT-Werte-Liste).

Toxikokinetik und Metabolismus

Daten zu Toxikokinetik und Metabolismus sind bereits in den Begründungen von 1995 und 1999 ausführlich dargestellt.

Aufnahme, Verteilung, Ausscheidung

Methanol wird oral (100 %; Pollack und Brouwer 1996), inhalativ (50 %; Ernstgard et al. 2005) und dermal gut resorbiert und verteilt sich gleichmäßig in allen Organen und Geweben des Körpers in direktem Verhältnis zu deren Wassergehalt.

Die Resorption nach inhalativer Exposition erfolgt bei Ratten überwiegend im oberen Respirationstrakt und hängt von der Konzentration, der Expositionsdauer und der Atemfrequenz der Tiere ab. Die Methanol-Blutkonzentration hat keinen Einfluss auf die Resorption, im Gegensatz zur Atemfrequenz, die mit zunehmender Methanol-Blutkonzentration abnimmt. Die Studiendetails finden sich bei DECOS (2010). Während der Inhalation kommt es aufgrund der guten Wasserlöslichkeit von Methanol zu einem „wash-in, wash-out“-Effekt, d. h. ein Teil der Dämpfe wird beim Einatmen im Atemtrakt gelöst und beim Ausatmen wieder abgegeben (DECOS 2010). Dies führt offenbar dazu, dass die systemische Verfügbarkeit nicht proportional zur Atemrate verläuft.

Bei Kontakt beider Hände und Unterarme (ca. 2000 cm²) ergibt sich eine stündliche perkutane Aufnahme von 16 200 mg Methanol (Begründung 1999) sowie nach einer In-vitro-Studie an Humanhaut eine Aufnahme von 12 690 mg in einer Stunde (Korinith et al. 2012).

Mensch

Die Hintergrund-Blutkonzentration von Methanol liegt beim gesunden Menschen zwischen 0,25 und 5,2 mg/l Blut (US EPA 2013).

Aufnahme, Verteilung und Ausscheidung wurde an je vier männlichen und weiblichen Probanden untersucht, die zwei Stunden lang gegen 0, 100 oder 200 ml Methanol/m³ unter körperlicher Belastung (zwei Stunden 50 W auf dem Fahrradergometer) exponiert worden waren. Zu verschiedenen Zeitpunkten während der Exposition und bis zu 23 Stunden nach Beginn wurden Proben von Blut, Speichel, Urin und Ausatemluft genommen. Die Hintergrundbelastungen mit Methanol betragen 9–76 µM im Blut (0,3–2,4 mg/l), 4–76 µM im Speichel, 13–86 µM im Urin und 0,0005–0,01 µM in der ausgeatmeten Luft. Die Hintergrundspiegel von Methanol im Urin und im Speichel waren bei Männern höher als bei Frauen. Der Anteil der über die Atemwege aufgenommenen Methanolmenge betrug für beide Expositionskonzentrationen ca. 50 %. Die Methanolkonzentration im Blut stieg nach zweistündiger Exposition gegen 100 und 200 ml Methanol/m³ unter körperlicher Belastung auf 116 bzw. 244 µM (3,7 bzw. 7,8 mg Methanol/l) an. Als Fließgleichgewichtskonzentrationen wurden 186 µM (6 mg/l) bzw. 393 µM (12,6 mg/l) berechnet. Weiteren Berechnungen zufolge ist unter körperlicher Beanspruchung die Methanolkonzentration im Fließgleichgewicht, d. h. nach etwa achtstündiger Exposition, ebenfalls knapp doppelt so

hoch wie nach zwei Stunden. Die Fläche unter der Konzentrations-Zeit-Kurve (AUC) von 0 bis 6 Stunden für Methanol im Blut stieg linear mit der Expositionskonzentration an. Dies galt auch für die AUC von Methanol in Urin, Speichel und exhalierter Luft nach Beendigung der Exposition, was für eine nicht gesättigte Kinetik erster Ordnung in diesem Konzentrationsbereich spricht. Die Halbwertszeit von Methanol betrug im Blut 1,4 Stunden. Die Ameisensäureausscheidung pro Minute war deutlich, aber nicht signifikant erhöht, eine pH-Wert-Verringerung (eher eine Erhöhung) des Urins erfolgte jedoch nicht (Ernstgard et al. 2005).

In zahlreichen Probandenstudien wurden die Konzentrationen von Methanol im Blut bzw. von Formiat im Serum nach bis zu achtstündiger Exposition gegen 100 bis 800 ml/m³ untersucht, die Ergebnisse sind in Tabelle 1 aufgeführt.

Tab. 1 Konzentrationen von Methanol und Formiat in Blut bzw. Serum nach inhalativer Exposition von Probanden

Konzentration [ml/m ³]	Belastung/ Atemvolumen	Dauer [h]	Methanol [mg/l Blut]	Formiat [mg/l Serum]	Literatur
100	50 W Arbeit	Ko 2	0,64 (venös) 3,72 (Kapillarblut)	n. b.	Ernstgard et al. 2005
191	Ruhe	Ko 1,25	0,55 ± 0,31 (k. A.) 1,88 ± 0,47 (k. A.)	3,8 3,6	Cook et al. 1991; Begründung 1999
200	50 W Arbeit	Ko 2	0,64 (venös) 7,91 (Kapillarblut)	n. b.	Ernstgard et al. 2005
200	Ruhe	Ko 4	0,9 ± 0,6 (Serum) 6,5 ± 2,7 (Serum)	12,7 ± 6,4 14,3 ± 8,9	d'Allesandro et al. 1994; Chuwers et al. 1995; Osterloh et al. 1996; Begründung 1999
200	Ruhe: 10 l/min	Ko 6	1,8 ± 1,2 (venös) 7,0 ± 1,2 (venös)	9,0 ± 1,3 8,7 ± 2,4	Lee et al. 1992; Begründung 1999
	Belastung: 18,6 l/min	Ko 6	1,9 ± 0,9 (venös) 8,1 ± 1,5 (venös)	8,8 ± 1,8 9,5 ± 1,0	
400	Ruhe	Ko 8	2,65 ± 1,8 (k. A.) 13,4 ± 4,8 (k. A.)	n. b.	Franzblau et al. 1995; Begründung 1999
800	Ruhe	Ko 0,5 1 2 8	1,8 ± 0,7 (venös) 5,3 ± 1,4 (venös) 6,6 ± 1,2 (venös) 14,0 ± 1,5 (venös) 30,7 ± 6,9 (venös)	n. b.	Batterman et al. 1998

Ko: Kontrolle, k. A.: keine Angabe, n. b.: nicht bestimmt

Abhängigkeit der Methanolkonzentration im Blut von Atemtätigkeit und Expositionsdauer

Aus dem Vergleich mit anderen Toxikokinetikstudien ist zu schließen, dass die körperliche Belastung mit 50 W, die etwa einer Verdoppelung des Atemminutenvolumens im Vergleich zu Ruhebedingungen entspricht, auch zu einer Verdoppelung der Methanolkonzentration im Blut führt (Ernstgard et al. 2005).

Nach zwei Stunden kontinuierlicher Exposition sind 68 % des Fließgleichgewichts der Methanolkonzentration im Blut erreicht, nach acht Stunden 98 % (Batterman et al. 1998).

Wie in Tabelle 1 dargestellt, steigt die Methanolkonzentration im Blut nach achtstündiger Exposition gegen 800 ml/m³ in Ruhe im Vergleich zur zweistündigen Exposition in Ruhe um den Faktor 2 an (14 bzw. 30,7 mg Methanol/l; Batterman et al. 1998). Nach Berechnungen von Ernstgard et al. (2005) ist unter körperlicher Beanspruchung die Methanolkonzentration im Fließgleichgewicht, d. h. nach etwa achtstündiger Exposition, ebenfalls knapp doppelt so hoch wie nach zwei Stunden (s. o.). Die Fließgleichgewichtskonzentration bei Exposition gegen 100 ml/m³ unter körperlicher Beanspruchung entspricht mit 6 mg Methanol/l Blut (Ernstgard et al. 2005) etwa derjenigen, bei der an Probanden keine verhaltenstoxischen Effekte beobachtet wurden (6,5 mg Methanol/l Blut, siehe Tabellen 1 und 2; Chuwers et al. 1995).

Affe

Die tägliche 2,5-stündige, an sieben Tagen pro Woche erfolgte Exposition weiblicher Cynomolgus-Affen vor und während der Trächtigkeit sowie der Muttertiere nach der Geburt gegen 200, 600 oder 1800 ml Methanol/m³ führte zu Konzentrationen von ca. 5, 10 bzw. 35 mg Methanol/l Blut. Bei der Kontrollgruppe bzw. vor der Exposition wurden etwa 3 mg/l gemessen. Methanol wurde zwei Stunden lang in die Inhalationskammern geleitet, danach verblieben die Tiere weitere 30 Minuten in den Kammern. Vier Minuten nach Beginn der Einleitung betrug die Konzentration in den Kammern zwischen 60 und 70 % der Zielkonzentration. Vier Minuten nach Ende der Methanoleinleitung kam es zu einer Abnahme der Konzentration von über 80 %. Die Methanolkonzentrationen im Blut wurden 10 Minuten nachdem die Tiere aus den Inhalationskammern geholt wurden, gemessen. Da die Halbwertszeit im Blut in dieser Studie bei den beiden hohen Konzentrationen etwa 80 bis 90 Minuten betrug (vor der Verpaarung), ist davon auszugehen, dass die Blut-Methanolkonzentrationen während der Exposition höher waren als die angegebenen Werte. Die Plasma-Formiatkonzentrationen in den Kontroll- und den Behandlungsgruppen waren gleich (Burbacher et al. 2004).

Speziesunterschiede

Die in zahlreichen toxikologischen Datenzusammenstellungen aufgeführten Blut-Methanolkonzentrationen (experimentell oder abgeschätzt) zeigen, dass diese bei Ratte, Affe und Mensch nach sechsstündiger Exposition gegen bis zu 1200 ml Methanol/m³ etwa gleich hoch sind (Ratte: 26,6; Affe: 37,6; Mensch ca. 25 mg/l). Bei

höheren Methanolkonzentrationen steigen die Blutspiegel bei Ratten nicht-linear an, bei Affen weniger steil, beim Menschen linear. Bei Mäusen steigen die Blutkonzentrationen steiler, bedingt durch ihre schnellere Atmung und höhere Resorptionsrate (Begründung Schwangerschaftsgruppe 1995; DECOS 2010; NTP 2003).

Die Verteilungsvolumina von Methanol betragen für Ratte, Affe und Mensch 0,92; 0,77 bzw. 0,70 l/kg KG und für Formiat 6,4; 4,6 bzw. 4,2 l/kg KG. Die höheren Werte für Formiat könnten auf eine Proteinbindung hinweisen (Bouchard et al. 2001; DECOS 2010).

Metabolismus

In der Leber wird Methanol durch eine Reihe von Oxidationsreaktionen zu Formaldehyd, Formiat und CO_2 metabolisiert, wobei sich Nager und Primaten im Hinblick auf die Metabolismuswege und die Abbaugeschwindigkeiten unterscheiden. Bei Primaten erfolgt die Bildung von Formaldehyd durch die Alkohol-Dehydrogenase, bei Nagern überwiegend durch das Katalase-Peroxidase-System. Die maximale Eliminationsgeschwindigkeit von Methanol ist unter nicht-gesättigten Bedingungen für Nager und Primaten ähnlich hoch (30 bzw. 48 mg/kg KG und Stunde). Bei Nagern stellt die Katalasereaktion den limitierenden Schritt dar, mit der Folge einer Methanolanreicherung bei Sättigung des Enzymsystems. Bei Primaten ist die Oxidation von Formiat zu CO_2 der geschwindigkeitsbestimmende Schritt. Daher kann es bei Mensch (> 210 mg/kg KG; DECOS 2010) und Affe nach Aufnahme größerer Methanolmengen zu einer Formiat-Akkumulation im Blut kommen (siehe Begründung Schwangerschaftsgruppe 1995; Begründung 1999; DECOS 2010; OECD 2007; US EPA 2013).

Methanol kann auch nicht-enzymatisch mit Hydroxylradikalen reagieren und Formaldehyd bilden (US EPA 2013).

Mit Hilfe eines biologisch-basierten dynamischen Modells lässt sich abschätzen, dass der Methanolmetabolismus bei Ratten im Vergleich zum Affen und Menschen bei niedrigeren Konzentrationen gesättigt ist. Bei Ratten, die sechs Stunden lang gegen 2000 ml Methanol/m³ exponiert wurden, beträgt die Michaelis-Menten-Konstante (K_M) für den Metabolismus 36,6 mg Methanol/l Blut und die maximale Metabolismusgeschwindigkeit (V_{\max}) 19,4 mg/l/h, während der Metabolismus von Methanol bei Affen unter gleichen Expositionsbedingungen noch nicht gesättigt ist. Beim Menschen ist bei zweistündiger Exposition gegen 800 ml/m³ oder achtstündiger Exposition gegen 229 ml/m³ ebenfalls keine Sättigung zu erwarten. Die Geschwindigkeitskonstanten für die Metabolisierung von Methanol zu Formaldehyd betragen 0,53; 0,96 bzw. 0,4 h⁻¹ für Ratte, Affe bzw. Mensch und die für die Metabolisierung von Formaldehyd zu Formiat 14,6 h⁻¹ bei der Ratte und 7,2 h⁻¹ bei Affe und Mensch. Die Koeffizienten für den Übergang vom Gesamtkörper zur ausgeatmeten Luft in Kombination mit den Geschwindigkeitskonstanten der Metabolisierung von Formiat zu CO_2 werden mit 0,32 h⁻¹ für die Ratte und mit 0,81 h⁻¹ für Mensch und Affe angegeben, wonach die Clearance von Formiat bei Mensch und Affe im Vergleich zur Ratte etwa halb so schnell erfolgt (Bouchard et al. 2001).

Zur Klärung der Frage, ob der Metabolismus des Menschen bzw. des Affen eher dem von Nagern oder dem von Kaninchen ähnelt, erhielten männliche CD-1-Mäuse, Neu-

seeländer-Kaninchen und Cynomolgus-Affen einmalig intraperitoneal 0, 500 (nur Mäuse und Kaninchen) oder 2000 mg Methanol/kg KG. Zu verschiedenen Zeitpunkten nach der Substanzgabe erfolgte die Bestimmung der Plasmakonzentrationen von Methanol und Formiat. Bei den Mäusen wurden je Zeitpunkt zwischen drei und sechs Tiere eingesetzt (bis 24 Stunden p. a.), bei Kaninchen (bis 48 Stunden p. a.) und Affen (nur Kontrolle und hohe Dosis; bis sechs Stunden p. a.) jeweils drei pro Zeitpunkt. Es zeigt sich, dass Kaninchen hinsichtlich des Methanol-Metabolismus' und der Formiat-Akkumulation eher den Primaten ähneln als Mäuse. Die Autoren diskutieren, dass Kaninchen das bessere Tiermodell für Teratogenitätsstudien darstellen als Nager (Sweeting et al. 2010).

In zahlreichen Probandenstudien konnte nach bis zu sechsstündigen Expositionen in Ruhe gegen 200 ml Methanol/m³ keine Akkumulation von Formiat im Blut festgestellt werden (siehe Begründung 1999).

Ein weiteres auf publizierten Kinetik-Daten verschiedener Tierspezies und Probanden basierendes pharmakokinetisches Modell kommt zu dem Ergebnis, dass eine achtstündige Exposition gegen 500 bis 2000 ml Methanol/m³ ohne körperliche Betätigung benötigt wird, um die Formiatkonzentration im Blut und die Ameisensäurekonzentration im Urin über die Hintergrundbelastung (4,9–10,3 mg/l im Blut und 6,3–13 mg/l im Urin) anzuheben (Bouchard et al. 2001). Diesen Abschätzungen liegt ein Atemminutenvolumen von etwa 10 l/min zugrunde, so dass bei 10 m³ in acht Stunden (21 l/min) nur 250 bis 1000 ml/m³ nötig sind. Diese Annahme wird durch eine Probandenstudie bestätigt, bei der es nach achtstündiger Exposition unter körperlicher Belastung gegen 400 ml/m³ zu einem mäßigen (zweifachen) Anstieg der Formiatkonzentration im Urin kam (Franzblau et al. 1997).

Erfahrungen beim Menschen

Einmalige Exposition

Die unter kontrollierten Bedingungen durchgeführten Probandenstudien sind in Tabelle 2 aufgeführt. Die Studien, die nach der Begründung 1999 publiziert wurden, sind im nachfolgenden Text ausführlich dargestellt.

Die Probanden der bereits im Abschnitt „Toxikokinetik und Metabolismus“ beschriebenen Studie wurden vor, während und nach den Expositionen hinsichtlich Reizeffekten oder Effekten auf das zentrale Nervensystem, Schwierigkeiten beim Atmen bzw. Geruchswahrnehmung von Lösungsmitteln befragt. Während der Exposition gegen 0, 100 oder 200 ml Methanol/m³ wurden die Symptome maximal als geringfügig eingeordnet und unterschieden sich nicht zwischen den Probanden der Methanol- und der Kontrollgruppe. Allerdings gaben nach Exposition gegen 200 ml/m³ die weiblichen Probanden drei Symptome signifikant häufiger an als die männlichen: Müdigkeit, Übelkeit sowie Kopfschmerz oder Reizung von Rachen-/Atemwegen (wobei aus der Publikation nicht ersichtlich ist, welches der Symptome – Kopfschmerz oder Reizung – signifikant unterschiedlich war, da sich die Angaben der Symptome in zwei Textstellen widersprechen) (Ernstgard et al. 2005).

Tab. 2 Probandenstudien nach einmaliger inhalativer Exposition

Anzahl an Probanden	Exposition	Untersuchungsumfang	Befunde	Literatur
12 ♂ (22–32 Jahre, durchschnittl. 26) gesunde Nichtraucher, kein Alkohol eigene Kontrolle	0, 187 ml/m ³ (250 mg/m ³) 4 × 75 min (0, 187, 0, 187 ml/m ³ oder 187, 0, 187, 0 ml/m ³) Ganzkörperexposition in Ruhe	vor, während und nach der Exposition: zahlreiche klinische, psychologische und physiologische Endpunkte	die meisten Endpunkte unverändert, bis auf: Sternberg-Reaktionszeit ↑, Latenzzeit P200-Komponente Ereignis-bezogener Potential ↑, stärkere Müdigkeit nach der Exposition, Abnahme-Tendenz von Konzentrationenfähigkeit und Vitalität	Cook et al. 1991; Begründung 1999
15 ♂, 11 ♀ (26–51 Jahre, durchschnittl. 35,7), Raucher, keine Alkoholabstinenz eigene Kontrolle	0, 200 ml/m ³ 4 h Ganzkörperexposition in Ruhe	Methanol- und Formiatkonzentration in Blut und Urin, zahlreiche verhaltens-toxikologische, neurophysiologische und visuelle Leistungsprüfungen	keine Auffälligkeiten in Tests für Gedächtnis, Aufmerksamkeit, Interferenz, Kontrastsensitivität und Farbwertscheidung für visuelle Funktionsveränderungen, aber: P300-Amplitude ↓, kein Lerngewinn im Zahlen-Symboltest vor/nach Exposition gegen Methanol	Chuwers et al. 1995; Begründung 1999
12 ♂ (26,8 ± 2,1 Jahre) gesunde Nichtraucher, eigene Kontrolle	20 (Kontrolle), 200 ml/m ³ 4 h Ganzkörperexposition in Ruhe	Fragebogen mit 17 Begriffen bzgl. Reizwirkung (Auge, Nase, Rachen, Haut), Schwierigkeiten beim Atmen, prämarkotische Effekte (u. a. Kopfschmerz, Übelkeit, Schwindel, Wahrnehmung eines schlechten Geruchs u. eines unangenehmen Geschmacks, Schwäche- oder Schwindelgefühl), Bewertungsgrade 0–5; EEG mit offenen oder geschlossenen Augen und während Farb-Wort-Stresstests	kein Unterschied in Bewertung der Symptome, spektrale Leistung (EEG) im Θ-Band ↓ und einiger Elektroden des δ-Bandes ↓ bei geschlossenen Augen (Hinweis auf schwachen exzitatorischen Effekt)	Muttray et al. 2001
		Konzentrationen von Interleukin(IL)-8, IL-1β, IL-6, Prostaglandin E2 im Nasensekret mukoziliärer Transport (Transpordauer von Saccharin), Schlagfrequenz der Zilien in Nasenepithelzellen	kein Unterschied in Bewertung der Symptome (siehe Muttray et al. 2001) IL-8, IL-1β ↑	Mann et al. 2002

Tab. 2 (Fortsetzung)

Anzahl an Probanden	Exposition	Untersuchungsumfang	Befunde	Literatur
4 ♂, 4 ♀ (20–50 Jahre)	0, 100, 200 ml/m ³ 2 h unter 50 W körperlicher Belastung Ganzkörperexposition	Methanolkonzentration in Blut, Urin, Speichel und Ausatemluft, Ameisensäurekonzentration im Urin; Bewertung der Reizwirkung (Augen, Nase, Rachen, Atemwege), Bewertung von ZNS-Symptomen (Kopfschmerz, Müdigkeit, Übelkeit, Schwindel, Intoxikationsgefühl), Schwierigkeiten beim Atmen, Löse- mittelgeruch unmittelbar vor, während (10, 50, 80, 104 min) und nach Ende (126, 210 min) der Exposition	kein Unterschied zwischen Kontroll- und Methanolexposition bei Symptomangaben, et al. 2005 ♀ bei 200 ml/m ³ signifikant häufiger Angaben von Reizung des Rachens oder der Atemwege, Müdigkeit und Übelkeit oder Kopfschmerz im Vergleich zu ♂ (Kontrolle: ♀ sign. häufiger Nasenreizung im Vergl. zu ♂)	Ernstgard 1992; Be- gründung 1999
6 ♂ (29–55 Jahre)	200 ml/m ³ 6 h ohne und unter 50 W körperlicher Belastung Ganzkörperexposition	Methanol- und Formiatkonzentration in Blut, Lungenventilation, Atem- und Herzfrequenz, Atemminutenvolumen	keine Reizeffekte an Augen, keine Kopfschmerzen, Übelkeit o. a. Symptome während Exposition	Lee et al. 1992; Be- gründung 1999

Bei zwölf gesunden männlichen Probanden wurden in einer Studie im Messwiederholungsdesign („cross-over“) nach vierstündiger Exposition gegen 20 ml/m³ (Kontrolle) bzw. 200 ml/m³ neurophysiologische Effekte untersucht. Das Elektroenzephalogramm (EEG) wurde vor (als Basislinien-Referenz) und am Ende der jeweiligen Exposition mit offenen bzw. geschlossenen Augen und während der Durchführung eines Farb-Wort-Stresstests („color word stress test“) aufgezeichnet. Die spektrale Leistung wurde mit Hilfe der schnellen Fourier-Transformation (FFT) berechnet. Die Auswertung akuter Symptome (Kopfschmerz, Übelkeit, Schwindel, Wahrnehmung eines schlechten Geruchs, eines unangenehmen Geschmacks, Schwäche- oder Schwindelgefühl, Schwierigkeiten beim Atmen, Reizeffekte an Haut und Schleimhäuten) ergab keinen Unterschied zwischen den beiden Konzentrationsgruppen. Die Auswertungen bei geöffneten Augen und während des Farb-Wort-Stresstests zeigten keine signifikanten Veränderungen. Bei geschlossenen Augen waren die spektralen Leistungen im Θ -Band und einiger Ableitungen des δ -Bandes signifikant reduziert (Muttray et al. 2001). Da in dieser Publikation lediglich das EEG-Spektrum dargestellt ist, ist die Aussagekraft daraus begrenzt und lässt keine Schlüsse auf Verhaltensauffälligkeiten der Probanden zu.

Zudem wurden bei den Probanden der Studie von Muttray et al. (2001) auch die Auswirkungen auf die Entzündungsparameter Interleukin-8 (IL-8), IL-1 β sowie Prostaglandin E₂ im Nasensekret, auf den mukoziliären Transport (Transportdauer von Saccharin) und die Schlagfrequenz der Zilien in Nasenepithelzellen untersucht. Die Exposition gegen 200 ml/m³ führte zu einem signifikanten Anstieg von IL-8 und IL-1 β , was zusammen mit den unveränderten übrigen Parametern von den Autoren als subklinischer irritativer Effekt bewertet wurde (Mann et al. 2002). Das Freisetzen von IL-1 β sollte NF- κ B-vermittelt zu einer verstärkten Bildung von PGE₂ führen, was aber nicht beobachtet wurde. Es fand zudem nur eine einmalige Messung nach der Exposition statt, so dass ein prä-post-Vergleich nicht möglich ist. Zudem weisen bei der Messung der IL-8-Konzentrationen zwei Probanden und bei IL-1 β ein Proband große Abweichungen im Vergleich zu den übrigen Probanden auf (sehr steiler Anstieg nach Exposition), sodass eine Einordnung dieses Effektes nicht eindeutig möglich ist.

Einer persönlichen Mitteilung zufolge berichteten die Probanden der Toxikokinetikstudien von Franzblau et al. (1995) und Batterman et al. (1998) nicht über neurotoxische Symptome (Franzblau 2018).

Fazit: In den Studien, bei denen Effekte von Methanol mithilfe etablierter Verhaltenstoxizitätstests untersucht worden sind (Chuwers et al. 1995; Cook et al. 1991), zeigen sich keine Effekte bei 200 ml/m³. Eine klare Reizwirkung ist bei dieser Konzentration ebenfalls nicht feststellbar. Die elektrophysiologischen Effekte (verlängerte Latenzzeit der P200-Komponente Ereignis-bezogener Potentiale, reduzierte P300-Amplitude) sind aufgrund des methodischen Ansatzes nicht schlüssig interpretierbar. Die anhand der Fragebögen beschriebenen subjektiven Symptome (Cook et al. 1991) sind schwierig einzuordnen, da deren Stärke nicht quantifiziert wird und in anderen Studien keine berichtet bzw. diese nicht signifikant verändert sind (Ernstgard et al. 2005; Lee et al. 1992; Muttray et al. 2001). Aus der Zusammenschau der vorliegenden Probandenstudien, die in kleinen Stichproben junger, gesunder Probanden durchgeführt worden sind, kann geschlussfolgert werden, dass es sich bei 200 ml Methanol/m³ um eine NOAEC für akute neurotoxische Wirkungen und subjektive Angaben zu Reizungen der Schleimhäute handelt.

Reproduktionstoxizität

Zur fertilitätsbeeinträchtigenden Wirkung von Methanol beim Menschen liegen keine Daten vor.

In einer epidemiologischen Studie, die zusammenfassend bei NTP (2003) dargestellt ist, wurde untersucht, ob ein Zusammenhang zwischen dem Auftreten von Lippen-, Kiefer- oder Gaumenspalten bei den Nachkommen mit der Tätigkeit der Mütter während des ersten Trimesters der Schwangerschaft und damit verbundener Exposition gegen zahlreiche Stoffe, darunter Methanol, besteht. Nach Ansicht der Autoren besteht keine Assoziation zwischen der Exposition der Mutter gegen Methanol während der Schwangerschaft und dem Auftreten von Lippen-Kiefer-Gaumenspalten bei den Nachkommen. Als Schwachpunkte dieser Studie werden u. a. die geringe Anzahl an Müttern, die gegen Methanol exponiert waren, fehlende individuelle Expositionsmessungen sowie andere Chemikalien als Confounder genannt (NTP 2003).

Zahlreiche Studien über den Zusammenhang zwischen der Einnahme von folsäurehaltigen Multivitaminen vor der Zeugung und Missbildungen der Nachkommen (z. B. Neuralrohrdefekte) kommen zu dem Schluss, dass ein Folsäuremangel beim Menschen derartige Schädigungen begünstigen kann. Frauen mit einem geringen Folsäurestatus sind daher möglicherweise empfindlicher für die adversen entwicklungstoxischen Effekte von Methanol als Frauen mit einem höheren Folsäurestatus (NTP 2003).

Tierexperimentelle Befunde und In-vitro-Untersuchungen

Akute Toxizität

Es werden RD_{50} -Werte von 33 649 bzw. 55 214 mg/m³ (25 300 bzw. 41 520 ml/m³) berichtet, wobei die Werte mit unterschiedlichen Maus-Stämmen und Methoden erhoben wurden (DECOS 2010).

Subakute, subchronische und chronische Toxizität

Inhalative Aufnahme

In der Begründung von 1999 konnten die Ergebnisse einer 24- bzw. 18-monatigen Inhalationsstudie an F344-Ratten bzw. B6C3F1-Mäusen (NEDO 1987) nicht abschließend bewertet werden, da die vorliegende Zusammenfassung der Studien als nicht ausreichend angesehen wurde. Eine Übersetzung der Originalstudienberichte ins Englische wurde der Kommission zwischenzeitlich zur Verfügung gestellt. Die Ergebnisse der Studien sind in Tabelle 3 dargestellt. Die Exposition der Tiere erfolgte gegen 0, 10, 100 oder 1000 ml Methanol/m³ an 19 Stunden pro Tag, 7 Tage pro Woche (Cruzan 2009; NEDO 1985 a, b). In Tabelle 3 sind darüber hinaus auch die bereits in der Begründung 1999 beschriebenen Inhalationsstudien aufgeführt.

Tab. 3 Wirkung von Methanol nach wiederholter inhalativer Verabreichung

Spezies, Stamm, Anzahl pro Gruppe	Exposition	Befunde	Literatur
Ratte, Sprague Dawley, 5 ♂, 5 ♀	28 Tage, 6 h/Tag, 5 Tage/Woche, 0, 500, 2000, 5000 ml/m ³	ab 500 ml/m³ : Nasenausfluss konzentrationsabhängig ↑, makroskopische, histologische u. ophthalmologische Daten o. B.	Andrews et al. 1987; Begründung 1999
Ratte, Sprague Dawley, 4 ♂, 4 ♀	6 Wochen, 6 h/Tag, 5 Tage/Woche, 0, 200, 2000, 10 000 ml/m ³	bis 10 000 ml/m³ : histologische u. biochemische Parameter (Surfactant, Proteine, DNA, Enzyme) in Lunge unverändert (andere Organe nicht untersucht)	White et al. 1983; Begründung 1999
Ratte, Sprague Dawley, 52 ♂, 52 ♀	104 Wochen, 19,5 h/Tag, 7 Tage/Woche, 0, 10, 100, 1000 ml/m ³	ab 100 ml/m³ : ♀: Bilirubin im Urin ↑ 1000 ml/m³ : ♀: Urin-pH-Wert ↓; ♂: Futterverbrauch ↓ in Woche 30–52, Glukose im Urin ↑	NEDO 1985 a
Maus, B6C3FL, 52 ♂, 53 ♀	78 Wochen, 19,1 h/Tag, 7 Tage/Woche, 0, 10, 100, 1000 ml/m ³	1000 ml/m³ : ♂: abs. u. rel. Testesgewicht ↓, ♀: Futterverbrauch (7.–12. Monat) ↓, abs. Nierengewicht ↑	NEDO 1985 b
Affe, Cynomolgus, 3 ♂, 3 ♀	4 Wochen, 6 h/Tag, 5 Tage/Woche, 0, 500, 2000, 5000 ml/m ³	bis 5000 ml/m³ : keine Effekte bzgl. KG, Organgewicht, histopathologischer u. ophthalmologischer Daten	Andrews et al. 1987; Begründung 1999
Affe, Cynomolgus, 3, k. A. zum Geschlecht	29 Monate, 22 h/Tag, 7 Tage/Woche, 0, 10, 100, 1000 ml/m ³	ab 10 ml/m³ : leichte Effekte im zentralen Nervensystem mangelhafte Beschreibung der Effekte	NEDO 1987; Begründung 1999

1488 MAK Value Documentations

Bei verschiedenen Spezies ergeben sich bis zu den jeweils höchsten getesteten Konzentrationen von 5000 bis 10 000 ml/m³ keine Hinweise auf systemisch-toxische Effekte. Auch in einer Studie an Hunden aus dem Jahre 1944, in der die Tiere 379 Tage lang acht Stunden täglich gegen ca. 500 ml/m³ exponiert wurden, zeigten sich keine adversen Effekte bei der klinisch-chemischen, histologischen und ophthalmologischen Untersuchung. In einer Studie an Cynomolgus-Affen, die 29 Monate lang täglich 22 Stunden lang gegen 10, 100 oder 1000 ml/m³ exponiert waren, wurde über leichte Effekte im zentralen Nervensystem bereits bei 10 ml/m³ berichtet. Diese Studie konnte allerdings wegen Mängeln bei der Beschreibung der Effekte nicht für die Bewertung der Toxizität nach wiederholter Exposition herangezogen werden (Begründung 1999; NEDO 1987). Unklar ist auch, ob eine mitlaufende Kontrolle eingesetzt wurde, denn in der Tabelle, in der neurologische Effekte bei den Tieren aufgelistet sind, fehlt die Darstellung der Kontrollgruppe. Insgesamt wurden nur sehr wenige Tiere pro Konzentration eingesetzt, und es erfolgten Untersuchungen nach sieben (je zwei Tiere), nach 19 (je drei Tiere) und nach 26 bis 29 Monaten (je drei Tiere). Das Geschlecht der Affen wurde ebenfalls nicht angegeben.

Orale Aufnahme

Methanol ist ein Metabolit des Süßstoffs Aspartam. Die akute oder 14-tägige orale Gabe von bis zu 1000 mg Aspartam/kg KG führte bei männlichen F344-Ratten zu keinen signifikanten verhaltenstoxischen Effekten (Magnuson et al. 2007). Aus Aspartam wird pro Mol ein Mol Methanol abgespalten (Humphries et al. 2008). Eine Dosis von 1000 mg Aspartam/kg KG wird zu 3,4 mmol Methanol metabolisiert. Die maximale Methanol-Konzentration im Blut beträgt 3,4 mM bzw. 109 mg/l (ten Berge 2018). Da nicht bekannt ist, ob der Mensch und die Ratte für die verhaltenstoxischen Wirkungen von Methanol gleich empfindlich sind, kann aus dem NOAEL der Ratte nicht auf einen NOAEL des Menschen geschlossen werden.

Die tierexperimentellen Studien an Nagern werden aufgrund der Metabolismusunterschiede nicht zur Ableitung des MAK-Wertes herangezogen.

Reproduktionstoxizität

Fertilität

In einer Zwei-Generationen-Studie an Sprague-Dawley-Ratten wurde bei der F₀- und F₁-Generation bis zu einer Konzentration von 1000 ml/m³ kein Effekt auf die untersuchten Reproduktionsparameter festgestellt. Bei männlichen Ratten hatte eine sechsstündige Exposition gegen 5000 ml/m³ oder eine siebentägige Exposition (6 Stunden/Tag) gegen 200 ml/m³ keinen Einfluss auf die Konzentrationen der Geschlechtshormone. Nach 13-wöchiger Exposition gegen 200 ml/m³ blieb das Hodengewicht bei dieser Spezies unverändert, ebenso waren die histopathologischen Befunde der Hoden von Ratten nach Exposition gegen 800 ml/m³ ohne auffälligen Befund. Bei Mäusen waren nach fünftägiger oraler Gabe von 1000 mg Methanol/kg

KG und Tag keine morphologisch veränderten Spermien nachweisbar (Begründung Schwangerschaft 1995; Begründung 1999).

Je elf bis zwölf weibliche Cynomolgus-Affen aus zwei Kohorten wurden täglich 2,5 Stunden lang gegen 0, 200, 600 oder 1800 ml Methanol/m³ exponiert. Die Expositionen erstreckten sich über einen Zeitraum von ca. 350 Tagen, vor und während der Verpaarung (ca. 120 bzw. 65 Tage) sowie der Trächtigkeit (ca. 163 Tage). Die Nachkommen wurden während der ersten neun Lebensmonate regelmäßig bezüglich des Wachstums und verhaltenstoxikologischer Endpunkte untersucht. Die Ergebnisse dieser Studie finden sich in Tabelle 4. Weder der Menstruationszyklus noch die Empfängnisbereitschaft wurden durch die Exposition mit Methanol beeinflusst. Die Inzidenz an Komplikationen während Trächtigkeit (z. B. Uterusblutung) und Geburt (z. B. verlängerte, unproduktive Wehen) war in den Methanol-exponierten Gruppen hoch, jedoch statistisch nicht signifikant verschieden von den Kontrollen. Die Länge der Trächtigkeit war bei den Methanol-exponierten Muttertieren um sechs bis acht Tage kürzer, allerdings ohne Abhängigkeit von der Konzentration (siehe Tabelle 4). Die Autoren diskutieren als Ursache dafür eine Beteiligung der fetalen Hypothalamus-Hypophyse-Nebennierenrinde-Achse, da diese in den meisten Spezies die Länge der Trächtigkeit bestimmt (Burbacher et al. 1999, 2004). Da dieser Effekt jedoch keine Konzentrationsabhängigkeit aufweist, wird er als nicht bewertungsrelevant angesehen. Somit würde sich für diese Studie eine NOAEC für Fertilität und Maternaltoxizität von 1800 ml/m³ ergeben. Zudem ist zu berücksichtigen, dass mit einer Behandlungsdauer von 2,5 Stunden pro Tag bei einer Halbwertszeit von 80 bis 90 Minuten für Methanol zu keiner Zeit das Fließgleichgewicht erreicht worden ist.

Entwicklungstoxizität

Pränatale Entwicklungstoxizität

Inhalation

Die fruchtschädigende Wirkung von Methanol bei inhalativer und oraler Exposition bei Nagern ist nachgewiesen. Die im Folgenden dargestellten Studien sind bereits ausführlich in den Begründungen von 1995 und 1999 beschrieben und werden nur kurz zusammenfassend dargestellt (siehe Tabelle 5). Es handelt sich dabei um die bewertungsrelevanten Studien nach inhalativer und damit arbeitsplatzrelevanter Exposition.

Für Sprague-Dawley-Ratten beträgt die NOAEC für Entwicklungstoxizität nach täglich siebenständiger inhalativer Exposition vom 1. bis zum 19. Gestationstag 5000 ml/m³. Bei 10 000 ml/m³ waren die Körpergewichte der Feten reduziert, ohne dass bei den Muttertieren Maternaltoxizität auftrat. Wurden die Muttertiere vom 7. bis zum 15. Gestationstag gegen 20 000 ml/m³ exponiert, traten Missbildungen auf (zusätzliche Zervikalrippen, kardiovaskuläre und den Harntrakt betreffende Defekte, Enzephalozele, Exenzephalie) und die Muttertiere zeigten einen unsicheren Gang. Die maternalen Methanolkonzentrationen im Blut betrugen bei 5000 ml/m³ (NOAEC für Entwicklungstoxizität) 1580 mg/l und bei der LOAEC von 10 000 ml/m³ 2040 mg/l (Nelson et al. 1985, 1990).

Tab. 4 Inhalationsstudie an Cynomolgus-Affen zur Reproduktionstoxizität

Spezies, Stamm, Anzahl pro Gruppe	Exposition	Befunde	Literatur
Affe, Cynomolgus 11–12 ♀ (2 Kohorten mit 24/Kohorte)	0, 200, 600, 1800 ml Methanol/m ³ ca. 350 Tage (vor und während der Verpaarung (ca. 120 bzw. 65 Tage) und Trächtigkeit (ca. 163 Tage)) 2,5 h/Tag, 7 Tage/Woche, Testung bis 9 Monate nach Geburt prä- und postnatales Wachstum, Gesundheitsstatus der Neugeborenen, Reaktionen im Verhalten der Neugeborenen, visuelle, sensorische, kognitive Entwicklung, Entwicklung des Sozialverhaltens	Ein-Generationsstudie, ab 200 ml/m³: Muttermilch: Trächtigkeitsdauer um 6–8 Tage verkürzt, nicht konzentrationsabhängig; 5 × Kaiserschmitt aufgrund von Komplikationen (vaginale Blutungen, unproduktive Wehen), nicht konzentrationsabhängig (0 in Kontrolle); Blut-Methanolkonz. ↑ (0, 200, 600, 1800 ml/m ³ : 3, 5, 10 und 35 mg Methanol/l); Nachkommen: ♂, ♀: visuelles Erkennungsvermögen ↓ (62, 53, 49, 57 %, n = 7, 9, 8, 9 – Kontrolle, aufsteigende Konzentrationen); ♂: sensorische Entwicklung ↓ (Ziel erreicht im Alter von 24, 32, 43, 41 Tagen, n = 3, 5, 3, 2 – Kontrolle, aufsteigende Konzentrationen); bis 1800 ml/m³: Feten: 1 × Totgeburt (1 × Kontrolle, 1 × 600 ml/m ³); Formiat-Plasmakonz. unbeeinflusst, keine Effekte auf Körpergew. u. klinische Parameter, onsrate, Anzahl an Lebendgeburten; Nachkommen: Wachstum, Geburtsgew., Scheitel-Steiß-Länge, Kopfumfang, -länge u. Farbe, Temperatur) unbeeinflusst; 1800 ml/m³: Feten: 1 Hydrocephalus (in utero †); Nachkommen: Wasting-Syndrom (2 ♀, im Alter von 12 Monaten – Wachstumsverzögerung, Unterernährung, Gastroenteritis); Kommentar der Kommission: kein Erreichen des Fließgleichgewichts, da Behandlungsdauer nur 2,5 h/Tag u. die Halbwertszeit für Methanol bei 80–90 min liegt; nur geringe Anzahl an Nachkommen, fehlende historische Kontrolle, Studie nicht geeignet als Grundlage für die Bewertung der entwicklungs(neuro)toxischen Wirkung	Burbacher et al. 1999, 2004

Tab. 5 Bewertungsrelevante Entwicklungstoxizitätsstudien an Ratte und Maus

Konz. [ml/m ³]	NOAEC/LOAEC und Befunde	Muttertiere Methanol- konz. im Blut [mg/l]	Literatur
5000	SD-Ratte, GD 1–19, 7 h/d, Ganzkörper 0, 5000, 10 000 ml/m³ u. Tag NOAEC Entwicklungstoxizität	1580	Nelson et al. 1985, 1990
10 000	NOAEC Maternaltoxizität <u>Feten</u> : KG ↓	2040	
20 000	SD-Ratte, GD 7–15, 7 h/d, Ganzkörper 0, 20 000 ml/m³ u. Tag <u>Muttertiere</u> : unsicherer Gang <u>Feten</u> : Missbildungen (zusätzliche Zervikalrippen, kardiovaskuläre u. Harntrakt betreffende Defekte, Enzephalozele, Exenzephalie)	6950	NEDO 1987
1000	SD-Ratte, GD 7–17, kontinuierlich, Ganzkörper 0, 200, 1000, 5000 ml/m³ NOAEC Maternaltoxizität u. prä- u. postnatale Entwicklungstoxizität		
5000	NOAEC <u>Entwicklungsneurotoxizität</u> <u>Muttertiere</u> : KG um 5 % von GD 7–GD 20 ↓; Mortalität; Futterkonsum ↓ <u>Feten</u> : Zahl der lebenden Feten ↓; Zahl der späten Resorptionen ↑; KG ↓, skeletale u. viszerale Missbildungen, verzögerte pränatale u. postnatale Entwicklung (Durchbruch der Schneidezähne, Augenlidöffnung, verfrühter Hodenabstieg), ♂: abs. u. rel. Gehirn-, Thymus- u. Hodengewicht ↓, Gew. der Hirnanhangsdrüse ↑; ♀: abs. Gehirngewicht ↓		

Tab. 5 (Fortsetzung)

Konz. [ml/m ³]	NOAEC/LOAEC und Befunde	Muttertiere Methanol-konz. im Blut [mg/l]	Literatur
0	SD-Ratte, 2-Gen.-Studie, 20 h/d, kontinuierlich, Ganzkörper 0, 10, 100, 1000 ml/m ³	2,4	NEDO 1987
10		3,2	
100	NOAEC postnatale Entwicklungstoxizität	2,5	
1000	NOAEC Fetotoxizität; NOAEC Entwicklungsneurotoxizität Nachkommen: abs. Gehirn-, Hirnanhangsdrüsen-, Thymusgewicht ↓, verfrühter Hodenabstieg LE-Ratte, GD 6–PND 21, 6 h/d, Ganzkörper 0, 4500 ml/m ³	76	Stern et al. 1996
4500	keine Entwicklungsneurotoxizität		
0	CD-Maus, GD 6–15, 7 h/d, Ganzkörper, 0, 1000, 2000, 5000, 15 000 ml/m ³ u. Tag Akkumulation von Methanol im Blut im Vergleich zur Ratte durch die schnellere Atmung u. höhere Resorptionsrate	1,6	Rogers et al. 1991, 1993
1000	NOAEC Entwicklungstoxizität	97 ^{a)}	
2000	Feten: Zahl der Zervikalrippen ↑	[63 (GD 6)/131 (GD 10)] [487/641]	
5000	Feten: Missbildungen (Gaumenspalten, Defekte des Sternums u. innerer Organe) ↑	1650 ^{a)} [2126/1593]	
15 000	NOAEC Maternaltoxizität	7330 ^{a)}	

GD: Gestationstag; PND: Postnataltag; ^{a)} Mittelwerte aus US EPA (2013)

Bei kontinuierlicher inhalativer Exposition vom 7. bis zum 17. Gestationstag traten bei Sprague-Dawley-Ratten maternaltoxische Effekte bereits bei 5000 ml/m³ auf, und es zeigten sich eine verminderte Zahl an lebenden Feten und verminderte Körpergewichte der Feten am vierten Postnataltag, skelettale und viszerale Missbildungen sowie eine verzögerte postnatale Entwicklung der Neugeborenen beim Durchbruch der Schneidezähne und bei der Augenlidöffnung. Außerdem war bei den männlichen Nachkommen der Hodenabstieg verfrüht und im Alter von acht Wochen das absolute und relative Gehirn-, Schilddrüsen-, Thymus- und Hodengewicht vermindert sowie das absolute und relative Hypophysengewicht erhöht. Bei den weiblichen Tieren war nur das absolute Hirngewicht reduziert. Es wurden keine histologischen Veränderungen festgestellt. Bei weiterer Verpaarung der Nachkommen traten keine Effekte auf die Fertilität oder Entwicklungstoxizität auf. Die NOAEC für entwicklungstoxische Effekte lag bei dieser Studie bei 1000 ml/m³ (NEDO 1987; Begründung Schwangerschaftsgruppe 1995). Methanolkonzentrationen im Blut wurden in dieser Studie nicht ermittelt. Bei kontinuierlicher, nicht arbeitsplatzrelevanter Exposition von 20 Stunden pro Tag wurden erste entwicklungstoxische Effekte bereits bei 5000 ml/m³ festgestellt, im Gegensatz zur Studie von Nelson et al. (1985) mit siebenstündiger, arbeitsplatzrelevanter Exposition, in der die Konzentration von 5000 ml/m³ die NOAEC für Entwicklungstoxizität war.

Nach täglich siebenstündiger Inhalation von 0, 1000, 2000, 5000, 7500, 10 000 oder 15 000 ml/m³ vom 6. bis zum 15. Gestationstag beträgt bei CD-1-Mäusen die NOAEC für Entwicklungstoxizität 1000 ml/m³. Bei dieser Konzentration betrug die Methanolkonzentration im Blut im Mittel ca. 97 mg/l (Mittelwerte von Gestationstag 6 und 10 nach US EPA 2013). Bei der nächsthöheren Konzentration von 2000 ml/m³ wurde eine erhöhte Inzidenz an zusätzlichen Zervikalrippen beobachtet. Teratogene Effekte (Gaumenspalten, Defekte des Sternums und der inneren Organe) traten ab 5000 ml/m³ auf. Die entsprechenden Methanolkonzentrationen im Blut der Muttertiere lagen bei ca. 537 bzw. 1650 mg/l. Die Muttertiere zeigten bis zur höchsten Konzentration von 15 000 ml/m³ keine Effekte (Rogers et al. 1991, 1993; US EPA 2013). Es konnte gezeigt werden, dass Methanol selbst und nicht der Metabolit Formiat für die teratogene Wirkung verantwortlich ist (Begründung Schwangerschaftsgruppe 1995; Begründung 1999).

Die höhere Empfindlichkeit der Mäuse im Vergleich zu Ratten lässt sich möglicherweise durch die Akkumulation von Methanol im Blut erklären, bedingt durch die schnellere Atmung und die höhere Resorptionsrate (OECD 2007).

Zusätzliche Studien an Nagern nach Inhalation und auch Untersuchungen an Affen hinsichtlich der entwicklungstoxischen Wirkung von Methanol sind durchgeführt worden.

In der unter „Fertilität“ beschriebenen und in Tabelle 4 dargestellten Studie mit *Cynomolgus*-Affen, die etwa ein Jahr lang täglich 2,5 Stunden exponiert waren, führten Konzentrationen von bis zu 1800 ml Methanol/m³ zu keinen deutlichen Anzeichen von systemischer Toxizität bei den Muttertieren. Die verkürzte Trächtigkeitsdauer hatte keinen Einfluss auf die Größe der Nachkommen. Es zeigten sich keine Auswirkungen auf die Mortalität der Feten oder Missbildungen. Von den Nachkommen von 37 trächtigen Tieren überlebten 34, zwei kamen als Totgeburten (1 × Kontrolle, 1 × 600 ml/m³) zur Welt. In der höchsten Konzentrationsgruppe wurde bei einem

1494 MAK Value Documentations

in utero gestorbenen Fetus ein Hydrocephalus festgestellt. Im Alter von 12 Monaten wurde bei zwei weiblichen Nachkommen der gleichen Behandlungsgruppe ein sog. „Wasting-Syndrom“, das durch Wachstumsverzögerung gekennzeichnet war, diagnostiziert. Die Autopsie dieser Tiere ergab eine starke Unterernährung und Gastroenteritis. Die Autoren können den Effekt des „Wasting-Syndroms“ in Burbacher et al. (1999) schwer einordnen, da die Tierzahl limitiert war und keine historischen Kontrolldaten zu diesem Effekt existieren; hingegen wird der Effekt in Burbacher et al. (2004) als substanzbedingt angesehen. Auch zu den übrigen Parametern werden keine historischen Kontrolldaten angegeben. Die Kommission beurteilt den aufgetretenen Hydrocephalus als substanzbedingt, da diese Missbildung spontan nicht häufig vorkommt. Das Auftreten des „Wasting-Syndroms“ nach einem Jahr bei zwei Nachkommen ist kaum als Folge der In-utero-Behandlung anzusehen. Da die Behandlungsdauer nur 2,5 Stunden pro Tag beträgt, ist davon auszugehen, dass bei einer Halbwertszeit von 80 bis 90 Minuten für Methanol zu keiner Zeit das Fließgleichgewicht erreicht worden ist. Insgesamt ist die Studie nicht geeignet, als Grundlage für die Bewertung der entwicklungs(neuro)toxischen Wirkung herangezogen zu werden.

Orale Gabe

Die orale Gabe per Schlundsonde führte bei CD-1 Mäusen bei 4000 mg/kg KG zu ähnlichen Effekten wie die Inhalation von 10 000 ml/m³ und annähernd gleichen Methanolkonzentrationen im Blut (Rogers et al. 1993; Begründung Schwangerschaftsgruppe 1995).

Intraperitoneale Gabe

Bei den neu hinzugekommenen Studien mit intraperitonealer Gabe handelt es sich um Untersuchungen zu unterschiedlicher Speziesempfindlichkeit bzw. zum Wirkungsmechanismus. Nach intraperitonealer Methanolgabe wurden entwicklungsstoxische Effekte bei zwei Mäusestämmen (C57BL/6J und C3H) und beim Neuseeländer-Kaninchen sowie die Beteiligung der Katalase an diesen Effekten bei transgenen Mäusen untersucht (Sweeting et al. 2011; Sweeting und Wells 2015). In einem Kommentar zu dieser Publikation wird darauf hingewiesen, dass es sich bei dem bei Kaninchen berichteten Effekt auf die Lendenwirbel um eine Variation und nicht, wie es der Titel der Publikation vermuten lässt, um einen skelettalen Defekt handelt. Weitere Kritikpunkte beziehen sich auf die Auswertung auf Feten- und nicht auf Wurfebene sowie die geringe Anzahl an Würfen und auf die fehlende Angabe der Fetengewichte. Insgesamt stellen die berichteten Ossifikationsstörungen wohl eher eine Entwicklungsverzögerung dar, die durch das geringere Gewicht hervorgerufen worden sein könnte. Die Darstellung, dass es sich dabei um einen direkten Effekt durch Methanol handelt, wird daher kritisch beurteilt (White et al. 2016).

Postnatale Entwicklungstoxizität

Wie bereits in den Begründungen 1995 und 1999 dargestellt, führte die täglich sechsstündige Exposition gegen 4500 ml/m³ vom 6. Gestationstag bis zum 21. Tag nach der Geburt bei den Nachkommen von Long-Evans-Ratten zu leichten Veränderungen der motorischen Aktivität und bei den adulten Nachkommen zu einer leicht veränderten operanten Konditionierung (Stern et al. 1996; Weiss et al. 1996).

Sprague-Dawley-Ratten wurden ab der achten Lebenswoche in einer Zwei-Generationsstudie kontinuierlich inhalativ gegen Methanol in Konzentrationen von 0, 10, 100 und 1000 ml/m³ exponiert. In keinem Fall konnte ein Effekt auf die F0-Generation beobachtet werden. In der F1- und F2-Generation wurden in der 1000-ml/m³-Gruppe nach acht Wochen verminderte Gehirngewichte bei beiden Geschlechtern ohne histopathologisches Korrelat festgestellt. Bei den männlichen Tieren wurde ein verfrühter Hodenabstieg beschrieben. In der F2-Generation kam es darüber hinaus zu erniedrigten Thymus- und Hypophysengewichten. Keine Effekte sowohl auf die Elterntiere als auch auf die Nachkommen wurden bei 100 ml/m³ beobachtet. Die an den F1-Nachkommen durchgeführten Tests zur Verhaltenstoxizität (lokomotorische Aktivität, Lernfähigkeit, sensorische und motorische Funktionen) blieben durch die Methanolexposition unbeeinflusst. Bei der NOAEC für Entwicklungsneurotoxizität von 1000 ml/m³ betrug die Methanolkonzentration 76 mg/l Blut (NEDO 1987) (siehe auch Begründung Schwangerschaftsgruppe 1995; Begründung 1999; NEDO 1987). In der pränatalen Entwicklungstoxizitätsstudie mit kontinuierlicher Inhalation vom 7. bis zum 17. Gestationstag (NEDO 1987) traten Effekte auf das absolute und das relative Gehirngewicht ohne histologisches Korrelat und der verfrühte Hodenabstieg erst ab 5000 ml/m³ auf. Bis zu dieser Konzentration wurden keine Effekte auf die Entwicklungsneurotoxizität festgestellt. Allerdings wurden keine Methanolkonzentrationen im Blut bestimmt. Es ist aufgrund der steilen Dosis-Wirkungsbeziehung bei Maus und Ratte davon auszugehen, dass die Methanolkonzentrationen im Blut bei 5000 ml/m³ weitaus höhere Werte erreichen, als die in der Zwei-Generationsstudie bei 1000 ml/m³, ähnlich denen der Studie von Nelson et al. (1985) (1580 mg/l Blut).

Die Nachkommen weiblicher Wistar-Ratten, die 14 bis 16 Wochen vor der Verpaarung Futter mit ausreichendem bzw. reduziertem Folsäuregehalt (FAS bzw. FAD) erhielten, wurden vom 1. bis zum 21. Postnataltag über das Trinkwasser mit Methanol behandelt. Folsäure ist als Kosubstrat bei der Oxidation von Formiat zu CO₂ notwendig. Die Konzentrationen im Trinkwasser (0, 1, 2 oder 4 % Methanol) betrug ca. 0, 1200, 2400 oder 4800 mg/kg KG und Tag (Umrechnungsfaktor 0,12 (subakut) nach EFSA (2012)). Bei den postnatal exponierten Nachkommen wurden 21 Tage nach der Geburt die Tetrahydrofolatkonzentrationen in der Leber untersucht und am 45. Postnataltag verhaltenstoxische und neurochemische Parameter erfasst. Im Vergleich zu den Tieren der FAS-Gruppen waren die Tetrahydrofolatkonzentrationen in der Leber in den FAD-Muttertieren vor der Verpaarung um 63 % und bei den FAD-Nachkommen am 21. Postnataltag um 67 % reduziert. Die NOAEC für Entwicklungsneurotoxizität beträgt bei den postnatal behandelten Nachkommen 1 % (1200 mg/kg KG und Tag), wobei bei 2 % (2400 mg/kg KG und Tag) bei den FAS-Tieren lediglich die spontane lokomotorische Aktivität beeinflusst war; die FAD-Nachkommen zeigten bei dieser Dosierung bereits Effekte auf die Körpergewichtsentwicklung sowie Veränderungen zahlreicher verhaltenstoxischer und neurochemischer Parameter (erhöhte lokomotorische Aktivität, Abnahme der konditionierten Vermeidungsreaktion; Abnahme der striatalen Dopaminkonzentration, gesteigerte Expression des „Growth-Associated Protein (GAP-43)“ im Hippocampus). Die beiden letztgenannten Effekte traten bei den FAS-Tieren der Hochdosisgruppe ebenfalls auf. Diese Studie zeigt, dass eine Methanolexposition während der Wachstumsphase zu adversen Effekten auf das sich entwickelnde Gehirn führt, wobei vermutlich ein Mangel an Folsäure

bei der Methanol-induzierten Neurotoxizität eine Rolle spielt (Aziz et al. 2002). Da die Behandlung der Nachkommen erst mit der Geburt und nicht pränatal beginnt, ist diese Studie nicht geeignet, um Effekte auf die Entwicklungs(neuro)toxizität am Arbeitsplatz zu bewerten.

Entwicklungsneurotoxizität

Bei Ratten lag die NOAEC für Entwicklungsneurotoxizität bei kontinuierlicher Exposition (20 Stunden/Tag) in der pränatalen Entwicklungstoxizitätsstudie bei der höchsten Konzentration von 5000 ml/m³ (NEDO 1987; Begründung Schwangerschaftsgruppe 1995). Methanolkonzentrationen im Blut wurden in dieser Studie nicht ermittelt. In der Zwei-Generationenstudie desselben Labors, ebenfalls mit kontinuierlicher Exposition von 20 Stunden pro Tag, wurden bis zur höchsten Konzentration von 1000 ml/m³ keine Effekte auf die Entwicklungsneurotoxizität festgestellt, und die Methanolkonzentrationen betragen 76 mg/l Blut (NEDO 1987). Wie bereits dargestellt, ist davon auszugehen, dass die Methanolkonzentrationen im Blut bei 5000 ml/m³ weitaus höhere Werte erreicht hatten als die in der Zwei-Generationenstudie bei 1000 ml/m³.

In der unter dem Abschnitt „Fertilität“ beschriebenen Studie mit Cynomolgus-Affen, die etwa ein Jahr lang täglich 2,5 Stunden exponiert waren, wurden die Nachkommen zahlreichen entwicklungsneurotoxischen Tests hinsichtlich neonatalem Verhalten, frühen Reflexen, frühkindlicher Entwicklung der motorischen Aktivität, des räumlichen Gedächtnis- und Sozialverhaltens bis zu einem Alter von neun Monaten unterzogen (siehe Tabelle 4). Nur in zwei Tests wurde dabei bei den männlichen Nachkommen aller Gruppen, die gegen Methanol exponiert wurden, eine verzögerte sensomotorische Entwicklung und bei den Nachkommen beiderlei Geschlechts eine Abnahme des visuellen Erkennungsvermögens beobachtet. Für die Bewertung, insbesondere bei den Effekten auf die männlichen Nachkommen, ist die geringe Gruppengröße von zwei bis fünf Tieren zu beachten. Die übrigen neuropsychologischen Tests (frühe Reflexantworten, grobmotorische Entwicklung, räumliches Lernen, Konzeptlernen, Gedächtnis, Sozialverhalten) zeigten keine Auswirkung durch die Methanolexposition. Die Autoren selbst raten an, die positiven Ergebnisse vorsichtig zu interpretieren, da nur eine kleine Zahl an Nachkommen untersucht wurde, große interindividuelle Schwankungen vorliegen, die statistische Signifikanz sich nur in einem Test, aber nicht im anderen Test zeigte, und alle anderen entwicklungsneurotoxischen Tests keine Effekte aufwiesen (Burbacher et al. 1999, 2004). Die Kommission schließt sich diesen Ausführungen an und weist zudem auf die fehlende Dosisabhängigkeit sowie auf die Vielzahl an ähnlichen, zum Teil das gleiche Gebiet abdeckenden negativen Tests hin und sieht daher diese positiven Befunde nicht als Zeichen einer Entwicklungsneurotoxizität an. Da die Behandlungsdauer nur 2,5 Stunden pro Tag beträgt, ist, wie bereits erwähnt, davon auszugehen, dass zu keiner Zeit das Fließgleichgewicht erreicht worden ist. Insgesamt ist die Studie nicht geeignet als Grundlage für die Bewertung der entwicklungs(neuro)toxischen Wirkung herangezogen zu werden.

Fazit: Die Studie an Cynomolgus-Affen ist aufgrund der beschriebenen methodischen Mängel nicht geeignet, die entwicklungs(neuro)toxischen Wirkungen zu bewerten. Mäuse reagieren auf entwicklungstoxische Effekte durch Methanol

empfindlicher als Ratten. Eine fruchtschädigende Wirkung wurde bei Ratten nach kontinuierlicher inhalativer Exposition bei maternaltoxischen Konzentrationen ab 5000 ml Methanol/m³ und nach täglich siebenstündiger Exposition ab 10 000 ml/m³ ohne Maternaltoxizität beobachtet. Bei Mäusen wurde eine fruchtschädigende Wirkung bei maternal nicht toxischen Konzentrationen ab 2000 ml/m³ festgestellt. Nach täglich siebenstündiger Exposition betragen bei der Ratte die maternalen Methanol-Blutkonzentrationen bei 5000 ml/m³ (NOAEC für Entwicklungstoxizität) 1580 mg/l und bei der LOAEC von 10 000 ml/m³ 2040 mg/l (Nelson et al. 1985, 1990), bei CD-1-Mäusen bei 1000 ml/m³ (NOAEC für Entwicklungstoxizität) ca. 97 mg/l, bei 2000 ml/m³ ca. 537 mg/l (Rogers et al. 1993). Nach kontinuierlicher Exposition (20 Stunden pro Tag) vom 7. bis zum 17. Gestationstag betrug die NOAEC für Entwicklungstoxizität 1000 ml/m³ und für Entwicklungsneurotoxizität 5000 ml/m³. Methanolkonzentrationen im Blut wurden in dieser Studie nicht ermittelt. In einer Zwei-Generationenstudie desselben Labors mit kontinuierlicher Exposition ergaben sich bei 1000 ml/m³, das ist die NOAEC für Entwicklungsneurotoxizität, Methanolkonzentrationen im Blut von 76 mg/l (NEDO 1987).

In-vitro-Untersuchungen

Die vorliegenden In-vitro-Studien sind in einigen toxikologischen Zusammenstellungen ausführlich dargestellt (DECOS 2010; ECHA 2014). Zusammenfassend werden mit kultivierten Ratten- und Mäuseembryonen nach Behandlung mit Methanol die pränatalen entwicklungstoxischen Effekte in Nagern bestätigt. In einer Studie mit Mausembryonen verschiedener Mäusestämme, darunter solche, die die humane Katalase exprimieren, bzw. solche, in denen die Katalase nicht exprimiert wird, konnte gezeigt werden, dass reaktive Sauerstoffspezies an der Methanol-induzierten Fehlentwicklung beteiligt sind, die Aktivität der embryonalen Katalase der Mäuse invers mit der entwicklungstoxischen Wirkung von Methanol korreliert und dass Mausembryonen, die die humane Katalase exprimieren, vor teratogenen Effekten geschützt sind, obwohl einige signifikante Effekte auf das Wachstum beobachtet wurden (ECHA 2014).

Genotoxizität

Wie in der Begründung von 1999 dargestellt, zeigt Methanol in bewertungsrelevanten In-vitro- und In-vivo-Studien kein genotoxisches Potential. Eine neue Studie mit Untersuchungen zur oxidativen DNA-Schädigung (McCallum et al. 2011) bestätigt diese Befunde.

In vitro erweist sich Methanol nur in zytotoxischen Konzentrationen als mutagen in Bakterien oder aneugen in Pilzen. Auch ein Test auf Schwesterchromatidaustausch in CHL-Zellen verlief nur bei zytotoxischen Konzentrationen positiv, während Konzentrationen im nicht-zytotoxischen Bereich weder Schwesterchromatidaustausche noch Chromosomenaberrationen in Säugerzellen induzieren (Begründung 1999). In 8-Oxoguanin-Glycosylase-1-defizienten Mausembryofibroblasten kam es nicht zu einer Akkumulation von 8-Oxodesoxyguanosin (McCallum et al. 2011). Mehrere Mutationstests mit V79-Zellen verliefen negativ, ebenso ein TK^{+/-}-Test unter Zugabe

der normalen S9-Mix-Konzentration. Wurde jedoch die Konzentration an S9-Mix erhöht, fiel der Test positiv aus (Begründung 1999). Insgesamt zeigt sich Methanol in nicht-zytotoxischen Konzentrationen in vitro weder als mutagen noch als klastogen.

In vivo wurden keine X-chromosomalen rezessiven Letalmutationen in *Drosophila melanogaster* induziert (Begründung 1999). Nach intraperitonealer Gabe kam es weder im Knochenmark noch in der Milz von Mäusen, Kaninchen oder Affen zu oxidativen DNA-Schäden. Dazu wurden männliche CD-1-Mäuse (n = 4), Neuseeländer-Kaninchen (n = 3) oder *Cynomolgus*-Affen (n = 3) intraperitoneal mit 2000 mg Methanol/kg KG behandelt. Die einmalige Gabe führte bei keiner Spezies im Knochenmark und Milz zu einer erhöhten Konzentration an 8-Oxodesoxyguanosin, einem Marker für oxidative DNA-Schäden. Die Untersuchung erfolgte 6 Stunden, bei den CD-1-Mäusen zusätzlich 24 Stunden nach der Behandlung. Die 15-tägige Behandlung männlicher CD-1-Mäuse führte ebenfalls zu keinen erhöhten 8-Oxodesoxyguanosin-Konzentrationen in Knochenmark und Milz. Bei Knockout-Mäusen, die das für die DNA-Reparatur wichtige Enzym Oxoguanin-Glycolase-1 nicht exprimieren, akkumulierte 8-Oxodesoxyguanosin zwar mit zunehmendem Alter in Knochenmark und Milz, jedoch nicht nach einer Behandlung mit Methanol. Bei den Affen konnten nach Methanolgabe keine durch freie Radikale verursachten Hydroxynonenal-Histidin-Proteinaddukte in Milz und Knochenmark nachgewiesen werden, ebenso wenig wie im Knochenmark von Neuseeländer-Kaninchen und in der Milz von CD-1-Mäusen. In der Milz bzw. im Knochenmark behandelter Kaninchen bzw. Mäuse hingegen wurde eine leichte Erhöhung festgestellt (McCallum et al. 2011).

Bei Mäusen wurden nach inhalativer Exposition keine Schwesterchromatidtausche, Chromosomenaberrationen oder Mikronuklei induziert. Negativ verliefen auch Tests auf Induktion von Mikronuklei nach oraler oder intraperitonealer Gabe. Den zahlreichen negativen Klastogenitätstests stehen nur zwei positive Tests gegenüber. Hier kam es nach oraler Gabe im Knochenmark zur Induktion von Chromosomenaberrationen bzw. Mikronuklei. In einer zweiten Studie mit oraler Gabe und höheren Dosierungen wurden im gleichen Zielgewebe hingegen keine Mikronuklei induziert (Begründung 1999). Demzufolge ist Methanol auch als nicht klastogen in vivo anzusehen.

Kanzerogenität

Zu den in der Begründung von 1999 beschriebenen Ergebnissen einer 24- bzw. 18-monatigen Inhalationsstudie an F344-Ratten bzw. B6C3F1-Mäusen (NEDO 1987) liegen jetzt die Übersetzungen der Originalstudien vor. Die Studien werden im Folgenden ausführlich dargestellt. Die Exposition der Ratten erfolgte an 19,5 Stunden pro Tag, 7 Tage pro Woche, 104 Wochen lang. Die Konzentrationen betragen 0, 10, 100 oder 1000 ml Methanol/m³ und die Expositionsgruppen bestanden aus 52 Tieren pro Geschlecht. Die histopathologische Untersuchung wurde in der Regel bei allen Tieren der Kontroll- und der 1000-ml/m³-Gruppe durchgeführt, wobei die Untersuchung der Nieren (männliche und weibliche Tiere), der Lunge (männliche Tiere) und der Nebenniere (weibliche Tiere) auch in den beiden unteren Konzentrationsgruppen erfolgte.

Es wurde kein statistisch signifikanter Anstieg von Tumorinzidenzen beobachtet (siehe Tabelle 6). Es finden sich keine Angaben zu historischen Kontrollen des Labors zu Adenokarzinomen, Adenomen und „Adenomatosen“ in der Lunge (NEDO 1985 a). Das Fazit eines externen Reviews der pathologischen Daten (inklusive Auswertung der Fotografien der histopathologischen Schnitte, die dem Originalstudienbericht beigelegt waren) zu den Effekten an der Lunge lautet, dass diese auf eine proliferative Veränderung im Alveolarepithel der Lunge hinweisen (Methanol Foundation 2007 a). Die Studie zeigt keine kanzerogene Wirkung bei der Ratte, und dies, obwohl mit einer Expositionszeit von 19,5 Stunden pro Tag an allen Tagen der Woche eine Extremsituation geschaffen wurde.

Tab. 6 Studie zur Kanzerogenität von Methanol nach inhalativer Exposition von F344-Ratten

Autor:	NEDO 1985 a				
Stoff:	Methanol (99,6 %)				
Spezies:	Ratte , F344/N, je 52 ♂, ♀				
Applikation:	Inhalation				
Konzentration:	0, 10, 100, 1000 ml/m ³				
Dauer:	104 Wochen, 7 Tage/Woche, 19,5 Stunden/Tag				
Toxizität:	ab 100 ml/m ³ : ♀: Bilirubin im Urin ↑; 1000 ml/m ³ : ♀: Urin-pH-Wert ↓; ♂: Futterverbrauch ↓ in Woche 30–52, Glukose im Urin ↑				
	Expositionskonzentration (ml/m ³)				
	0	10	100	1000	
Überlebende	♂	36/52 (69 %)	34/52 (65 %)	40/52 (77 %)	34/52 (65 %)
	♀	31/52 (60 %)	33/52 (63 %)	31/52 (60 %)	35/52 (67 %)
Tumoren und Präneoplasien					
Lunge:					
Schwellung des Alveolarepithels	♂	3/52 (6 %)	2/50 (4 %)	1/52 (2 %)	1/52 (8 %)
	♀	0/52 (0 %)	0/19 (0 %)	0/20 (0 %)	0/52 (0 %)
„Adenomatose“	♂	4/52 (8 %)	1/50 (2 %)	5/52 (10 %)	4/52 (8 %)
	♀	3/52 (6 %)	2/19 (11 %)	1/20 (5 %)	1/52 (2 %)
papilläre Adenome	♂	1/52 (2 %)	5/50 (10 %)	2/52 (4 %)	6/52 (12 %)
	♀	2/52 (4 %)	0/19 (0 %)	0/20 (0 %)	2/52 (4 %)
Adenokarzinom	♂	0/52 (0 %)	0/50 (0 %)	0/52 (0 %)	1/52 (2 %)
	♀	0/52 (0 %)	0/19 (0 %)	0/20 (0 %)	0/52 (0 %)
Nebenniere:					
Hyperplasien	♂	0/52 (0 %)	0/16 (13 %)	0/10 (20 %)	2/51 (4 %)
Nebennierenrinde	♀	2/50 (4 %)	3/51 (6 %)	7/49 (14 %)	2/51 (4 %)
Phaeochromozytome	♂	7/52 (14 %)	2/16 (13 %)	2/10 (20 %)	4/52 (8 %)
	♀	2/50 (4 %)	3/51 (6 %)	2/49 (4 %)	7/51 (14 %)

1500 MAK Value Documentations

Die Mäuse wurden an 19,1 Stunden pro Tag, 7 Tage pro Woche, 78 Wochen lang exponiert. Die Konzentrationen betragen ebenfalls 0, 10, 100 oder 1000 ml Methanol/m³. Die Expositionsgruppen bestanden aus 52 männlichen und 53 weiblichen Tieren. Die histopathologische Untersuchung erfolgte in der Kontroll- und in der höchsten Expositionsgruppe. Lediglich die Leber wurde in allen Behandlungsgruppen untersucht. Auch bei den Mäusen zeigte sich kein statistisch signifikanter Anstieg an Neoplasien. In der Gruppe männlicher Mäuse, die gegen 1000 ml/m³ exponiert wurden, wurden bei 7 / 52, in der Kontrollgruppe bei 4 / 52 Tieren, Lungenadenome diagnostiziert (nicht statistisch signifikant). In den dazwischen liegenden Gruppen wurden nur jeweils drei Tiere untersucht; keines davon zeigte eine entsprechende Neoplasie (NEDO 1985 b). In einem externen Review der pathologischen Daten (inklusive Auswertung der Fotografien der histopathologischen Schnitte, die dem Originalstudienbericht beigelegt waren), werden die Tumorinzidenzen in der Lunge bewertet. Da keine „Adenomatoze“ beobachtet worden ist, hält der Autor den leichten Anstieg an Adenomen in der Lunge für nicht substanzbedingt (Methanol Foundation 2007 b).

Bei der höchsten Konzentration von 1000 ml/m³ ist der Metabolismus von Methanol zu Formaldehyd gesättigt, sodass die maximal tolerierbare Dosis (MTD) aufgrund der Kinetik erreicht ist. Die Methanolkonzentration im Blut dieser Ratten war zehnmal höher als die der Kontrolltiere (Cruzan 2009; NEDO 1985 a, b).

Eine weitere Kanzerogenitätsstudie wurde an Sprague-Dawley-Ratten mit Methanol im Trinkwasser durchgeführt. Die Konzentrationen von Methanol lagen bei 0, 500, 5000 oder 20 000 mg/l (berechnet (s. u.) ca. 0, 55, 542 oder 1840 mg/kg KG und Tag für die männlichen Ratten; ca. 0, 67, 630 oder 2250 mg/kg KG und Tag für die weiblichen Ratten), die Expositionsdauer betrug zwei Jahre, die Nachbeobachtung dauerte bis zum natürlichen Tod. Die Tiere stammten aus der hauseigenen Zuchtkolonie. In der Publikation werden lediglich Inzidenzen der beobachteten Tumoren dargestellt, es finden sich keine Angaben zu Überlebensraten, Körpergewicht sowie Futter- und Wasserverbrauch. Ebenfalls fehlen Organengewichte, Methanolkonzentrationen im Blut, klinische Parameter oder Ergebnisse der histopathologischen Untersuchung bzgl. nicht-neoplastischer Effekte. In der Hochdosisgruppe wird über einen statistisch signifikanten Anstieg der Inzidenzen an „lympho-immunoblastischen Lymphomen“ überwiegend in den Lungen der weiblichen Tiere, von Karzinomen des Gehörgangs bei den männlichen Tieren und der Anzahl tumortragender Tiere berichtet. Nach Aussage der Autoren wurde in der Hochdosisgruppe ein statistisch signifikanter Anstieg an interstitiellen Hyperplasien und Adenomen in den Testes und von Sarkomen im Uterus beobachtet (Soffritti et al. 2002). In der Publikation werden jedoch keine nicht-neoplastischen Effekte dargestellt. Da die Inzidenzen der Adenome in den Testes statistisch nicht signifikant sind, kann diese Aussage nicht nachvollzogen werden. Auch die Aussage über einen statistisch signifikanten Anstieg an Sarkomen im Uterus ist nicht nachvollziehbar. In der Zwischenzeit wurden einige zusätzliche Daten der „European Ramazzini Foundation“ der US EPA zur Überprüfung zur Verfügung gestellt. Auf diese zusätzlichen Daten stützt sich eine Veröffentlichung, in der sowohl die Studien aus Japan (NEDO 1985 a, b) als auch die Studie der Ramazzini Foundation evaluiert und detaillierter dargestellt werden. Basierend auf dem Körpergewicht und dem Wasserverbrauch zu 18 Untersuchungszeiten während der Studie wurden Dosen von 55, 542 oder 1840 mg/kg KG und Tag für die männlichen Ratten, 67, 630 oder

2250 mg/kg KG und Tag für die weiblichen Ratten berechnet (durchschnittliche Wasseraufnahme \times Methanolkonzentration / mittleres Körpergewicht). Nach Angaben des Autors entspricht das Studiendesign nicht den Vorgaben der OECD, US EPA oder NTP. Als Beispiele werden fehlende Charakterisierung der verwendeten Methanolprobe, fehlende Überwachung von Krankheiten, keine zufällige Zuordnung der Tiere zu den Behandlungsgruppen, keine Tötung der Tiere in extremis sowie fehlende externe Untersuchung der pathologischen Präparate angegeben. Es werden Zweifel darüber geäußert, dass eine mitlaufende Kontrollgruppe verwendet worden ist. Möglicherweise wurde eine gemeinsame Kontrollgruppe für mehrere, im gleichen Jahr durchgeführte Kanzerogenitätsstudien der Ramazzini Foundation verwendet (Cruzan 2009).

Eine von NTP und US EPA gemeinsam initiierte „Pathology Working Group (PWG)“ beschäftigte sich mit den Ergebnissen von insgesamt fünf Kanzerogenitätsstudien des Ramazzini-Institutes, eine davon war die Studie mit Methanol. Für die meisten Tumorarten wurden Übereinstimmungen zwischen der Diagnose des Ramazzini-Institutes und der PWG festgestellt, mit Ausnahme der Lymphome und Leukämien im Respirationstrakt oder der Neoplasien in Innenohr und Schädel. Die Schwierigkeiten bestanden in der Abgrenzung der Lymphome bzw. Leukämien von den Lungeninfektionen sowie der Ohr- bzw. Schädel-Neoplasien von den entzündlichen Infiltraten. So treten offenbar stammspezifisch Lungeninfektionen am Lebensende dieser für die Studien des Ramazzini-Institutes verwendeten Ratten auf. Die erneute Auswertung der Daten durch die PWG ergab keinen behandlungsbedingten Anstieg an Lymphomen oder Leukämien bei den Ratten. Es wurden insgesamt auch geringere Inzidenzen dieser Neoplasien diagnostiziert. Als Gründe für die unterschiedliche Diagnose von Lymphomen oder Leukämien werden unter anderem unterschiedliche Kategorisierungsschemata diskutiert (Gift et al. 2013).

Die Reanalyse der Innenohr-Neoplasien ergab ebenfalls keine dosisabhängige Zunahme (EPL 2011).

Bewertung

Kritische Effekte von Methanol sind die zentralnervöse und die entwicklungstoxische Wirkung durch Methanol selbst sowie die Azidose durch den Metaboliten Formiat mit den damit verbundenen Wirkungen beim Menschen, u. a. der Schädigung von Nerven, insbesondere des Sehnervs.

MAK-Wert. Die tierexperimentellen Studien an Nagern werden aufgrund der Metabolismusunterschiede nicht zur Ableitung des MAK-Wertes herangezogen. Probandenstudien zeigen, dass eine vierstündige Exposition in Ruhe gegen 200 ml Methanol/m³ zu keinen relevanten verhaltenstoxischen Effekten führt. Es werden auch keine Reizeffekte beobachtet. Probandenstudien, in denen höhere Konzentrationen auf Verhaltenstoxizität getestet worden sind, liegen nicht vor. Bei höheren Konzentrationen bzw. bei erhöhter Atemtätigkeit sind verhaltenstoxische Wirkungen nicht auszuschließen.

Bei einer Konzentration von 6,5 mg Methanol/l Blut (Chuwers et al. 1995) bei vierstündiger Exposition gegen 200 ml/m³ in Ruhe werden keine Effekte in den Ver-

1502 MAK Value Documentations

haltenstests bei Probanden beschrieben. Nach Berechnungen von Ernstgard et al. (2005) beträgt die Methanol-Blutkonzentration bei 100 ml/m³ und 50 Watt Arbeit im Fließgleichgewicht, d. h. nach etwa acht Stunden, 6 mg Methanol/l Blut und entspricht damit der Konzentration im Blut, bei der keine verhaltenstoxischen Effekte beobachtet wurden (s. o.). Die Halbwertszeit von Methanol im Blut wird mit $1,4 \pm 0,3$ Stunden berechnet (Ernstgard et al. 2005), so dass bei dieser Expositions-Konzentration nicht mit einer Akkumulation von Methanol über die Arbeitswoche zu rechnen ist. Daher wird der MAK-Wert auf 100 ml/m³ abgesenkt.

Dieser Wert sollte auch vor der durch den Metaboliten Formiat hervorgerufenen Azidose schützen. Im Folgenden wird deshalb abgeschätzt, ob es bei Exposition in Höhe des MAK-Wertes von 100 ml/m³ (133 mg/m³) zu einer Absenkung des pH-Wertes im Blut kommt. Bei einem Atemvolumen von ca. 1,25 m³ pro Stunde werden bei 50%iger Resorption 83 mg Methanol (2,6 mmol) pro Stunde aufgenommen. Wird die pro Stunde aufgenommene Methanoldmenge von 2,6 mmol zu Grunde gelegt, ergibt sich bei einem Blutvolumen des Menschen von etwa 4,5 l eine Methanolkonzentration von 0,57 mmol/l. Unter Annahme einer vollständigen Metabolisierung zu Ameisensäure und einer 100%igen Dissoziation zu Formiat senken 0,57 mmol H⁺-Ionen/l Blut die Bicarbonatkonzentration von 24 auf 23,4 mmol/l Blut. Nach der Henderson-Hasselbalchschen Gleichung (Konzentration von CO₂ im Blut = 1,2 mmol/l, Konzentration von HCO₃⁻ = 24 mmol/l, pKs = 6,1) wird dadurch der physiologische pH-Wert von 7,4 auf 7,39 geändert und liegt damit in der physiologischen Schwankungsbreite des pH-Wertes im Blut von 7,35 bis 7,45 (Jungermann und Möhler 1984). Somit ist bei dem MAK-Wert von 100 ml/m³ nicht mit einer Azidose zu rechnen.

Spitzenbegrenzung. Der kritische Effekt ist systemisch, daher bleibt Methanol der Kurzzeitwert-Kategorie II zugeordnet. Die Halbwertszeit von Methanol im Blut beträgt beim Menschen 1,4 Stunden (Ernstgard et al. 2005), daher wird entsprechend der Vorgehensweise der Kommission (siehe Begründung „Spitzenbegrenzung“ 2011) ein Überschreitungsfaktor von 2 festgelegt. Bei der dadurch zulässigen Spitzenkonzentration von 200 ml/m³ wurde bei Probanden keine Reizwirkung beobachtet.

Hautresorption. Bei Kontakt beider Hände und Unterarme (ca. 2000 cm²) ergibt sich eine perkutane Aufnahme von 12 690 bis 16 200 mg Methanol (Abschnitt „Aufnahme, Verteilung, Ausscheidung“) in einer Stunde. Im Vergleich dazu werden bei einer achtstündigen inhalativen Exposition gegen ca. 100 ml/m³ (130 mg Methanol/m³, 10 m³ Atemvolumen, 50 % pulmonale Retention) 650 mg Methanol aufgenommen. Methanol bleibt daher mit „H“ markiert.

Fruchtschädigende Wirkung. Methanol ist seit 1995 der Schwangerschaftsgruppe C bei einem MAK-Wert von 200 ml/m³ zugeordnet (Begründung Schwangerschaftsgruppe 1995; Begründung 1999). Wie zum damaligen Zeitpunkt bereits dargestellt, ist die entwicklungsstoxische Wirkung bei Nagern offenbar auf Methanol selbst zurückzuführen. Für Primaten kann die Rolle des Formiats aufgrund des im Vergleich zum Nager unterschiedlichen Methanolmetabolismus nicht vernachlässigt werden. Daher müssen bei der Entscheidung über die Schwangerschaftsgruppe beide Aspekte berücksichtigt werden.

Entwicklungstoxizität

Bei den teratogen wirkenden Methanolkonzentrationen in Höhe von 10 000 ml/m³ bei der Ratte und 2000 ml/m³ bei der Maus werden im Blut Methanolkonzentrationen von 2040 bzw. 537 mg/l (mittlere Konzentration von drei Messungen) erreicht. Diese Blutkonzentrationen führen beim Menschen zum Tod bzw. zu Wirkungen auf das zentrale Nervensystem. Die NOAEC für pränatale Entwicklungstoxizität beträgt bei täglich siebenstündiger Expositionszeit vom 1. bis zum 19. Gestationstag bei Ratten 5000 ml/m³ und vom 6. bis zum 15. Gestationstag bei der Maus 1000 ml/m³ mit Methanol-Blutkonzentrationen von 1580 mg/l (Ratte) bzw. 97 mg/l (Maus). Da die Maus die empfindlichere Spezies darstellt, sind die innere Belastung beim Menschen in Ruhe und die unter Belastung mit der Methanolkonzentration im Blut bei der Maus in Ruhe von 97 mg/l bei 1000 ml/m³ (Rogers et al. 1993) zu vergleichen. Die Methanolkonzentrationen im Blut beim Menschen betragen nach achtstündiger Exposition gegen 800 ml/m³ 30 mg/l Blut (Batterman et al. 1998), bei 1000 ml/m³ ergeben sich rechnerisch 37,9 mg/l Blut in Ruhe und unter Belastung ca. 75 mg/l Blut (Verdopplung des Ruhewertes). Unter Belastung, also bei erhöhtem Atemvolumen, ist der Mensch daher höchstens so hoch belastet wie die Maus in Ruhe. Deswegen wird in diesem Fall zur Berechnung des Abstandes der äußeren Konzentration das erhöhte Atemvolumen nicht berücksichtigt.

Der Abstand zwischen den Methanol-Blutkonzentrationen bei der NOAEC für Entwicklungstoxizität bei der Maus und beim Menschen in Höhe des MAK-Wertes von 100 ml/m³ (Methanolkonzentration im Blut 6 mg/l; Ernstgard et al. 2005) beträgt das 16-Fache (97 / 6).

Bei 5000 ml/m³ und siebenstündiger Inhalation pro Tag zeigen sich ähnliche Methanolkonzentrationen im Blut von Ratte und Maus. Für die Ratte beträgt der Abstand zwischen den Methanol-Blutkonzentrationen bei der NOAEC für Entwicklungstoxizität bei siebenstündiger Inhalation (1580 mg/l) zu der beim MAK-Wert (6 mg/l) das 263-Fache (1580 / 6). Die Abstände sind also ausreichend groß.

Entwicklungsneurotoxizität

In zwei Untersuchungen zur Entwicklungsneurotoxizität an Ratten mit kontinuierlicher Gabe (20,5 Stunden/Tag) zeigte sich weder in der Zwei-Generationenstudie noch in der pränatalen Entwicklungstoxizitätsstudie bis zu 1000 bzw. 5000 ml/m³ Entwicklungsneurotoxizität (NEDO 1987). Bei der pränatalen Behandlung wurden keine Blutkonzentrationen bei den Muttertieren gemessen. Die Werte aus der Zwei-Generationenstudie (berechnete Methanolkonzentration im Blut bei 1000 ml/m³ = 76 mg/l) stellen eine Worst-Case-Abschätzung dar, da die mögliche Exposition am Arbeitsplatz in der Regel acht Stunden beträgt. Der Abstand zwischen den Methanol-Blutkonzentrationen bei der NOAEC für Entwicklungsneurotoxizität bei der Ratte mit kontinuierlicher Gabe (76 mg/l) zu der beim MAK-Wert (6 mg/l) beträgt das 13-Fache (76 / 6) und ist ebenfalls ausreichend groß.

Formiat

Nachdem beim Nager nach Exposition gegen Methanol keine Formiatakkumulation im Blut auftritt (Kavet und Nauss 1990; Medinsky und Dorman 1994), scheint hier Methanol das eigentliche Teratogen zu sein. Für Primaten kann aufgrund des im Vergleich zum Nager unterschiedlichen Methanolmetabolismus die Rolle des Formiats nicht ver-

1504 MAK Value Documentations

nachlässigt werden. Nach Exposition gegen 900 ml Methanol/m³ wurden bei Affen auch unter Folatdefizienz (Folat = Kosubstrat für Formiatoxidation) weder stark erhöhte Methanol- noch erhöhte Formiatkonzentrationen im Blut gefunden. Bei Probanden wurde nach sechsständiger Exposition gegen 200 ml Methanol/m³ kein Anstieg der Formiatkonzentration festgestellt (Begründung Schwangerschaftsgruppe 1995; Begründung 1999). Die Formiatkonzentration beim Menschen steigt erst ab 400 ml/m³ leicht an. Daher ist bei Einhaltung des MAK-Wertes von 100 ml/m³ auch unter schwangerschaftsbedingter Folat-Defizienz durch erhöhten Folsäurebedarf während der Schwangerschaft eine fruchtschädigende Wirkung durch Methanol unwahrscheinlich.

Unter Berücksichtigung von Entwicklungstoxizität, Entwicklungsneurotoxizität und der Abschätzung der Formiatkonzentrationen wird für Methanol die Schwangerschaftsgruppe C beibehalten.

Keimzellmutagene Wirkung. Keimzellmutagenitätstests liegen nicht vor. Methanol wirkt *in vitro* in nicht zytotoxischen Konzentrationen weder mutagen noch klastogen. *In vivo* zeigt der Stoff keine klastogene Wirkung. Methanol wird daher nicht in eine Kategorie für Keimzellmutagene eingestuft.

Krebserzeugende Wirkung. In einer Inhalationsstudie an F344-Ratten mit nahezu kontinuierlicher Exposition über die Dauer von 104 Wochen wurde kein statistisch signifikanter Anstieg an Tumorinzidenzen beobachtet. Die Daten weisen auf einen Anstieg proliferativer Veränderungen im Alveolarepithel der Lunge männlicher Tiere hin. Bei den weiblichen Ratten war die Inzidenz an Phäochromozytomen der Nebennieren in der Hochdosisgruppe im Vergleich zur Kontrollgruppe leicht erhöht, jedoch statistisch nicht signifikant. Eine Inhalationsstudie an Mäusen mit fast kontinuierlicher Exposition über einen Zeitraum von 78 Wochen verlief negativ. Die MTD auf Basis toxischer Effekte war in beiden Studien nicht erreicht, allerdings war der Metabolismus von Methanol bei der höchsten Konzentration von 1000 ml/m³ bereits gesättigt.

In einer Trinkwasserstudie mit Sprague-Dawley-Ratten wurden erhöhte Inzidenzen „lympho-immunoblastischer Lymphome“ überwiegend in der Lunge der weiblichen Tiere, von Karzinomen des Gehörgangs bei den männlichen Tieren und der Anzahl an tumortragenden Tieren berichtet. Allerdings konnten diese Inzidenzen durch eine Pathology-Working-Group der US EPA und des NTP nicht bestätigt werden.

Insgesamt zeigen die vorliegenden Studien kein kanzerogenes Potential von Methanol; es erfolgt daher keine Einstufung in eine Kategorie für Kanzerogene.

Literatur

- d'Allesandro A, Osterloh JD, Chuwers P, Quinlan PJ, Kelly TJ, Becker CE (1994) Formate in serum and urine after controlled methanol exposure at the threshold limit value. *Environ Health Perspect* 102: 178–181
- Andrews LS, Clary JJ, Terrill JB, Bolte HF (1987) Subchronic inhalation toxicity of methanol. *J Toxicol Environ Health* 20: 117–124
- Aziz MH, Agrawal AK, Adhami VM, Ali MM, Baig MA, Seth PK (2002) Methanol-induced neurotoxicity in pups exposed during lactation through mother. Role of folic acid. *Neurotoxicol Teratol* 24: 519–527

- Batterman SA, Franzblau A, D'Arcy AB, Sargent NE, Gross KB, Schreck RM (1998) Breath, urine, and blood measurements as biological exposure indices of short-term inhalation exposure to methanol. *Int Arch Occup Environ Health* 71: 325–335
- Bouchard M, Brunet RC, Droz P-O, Carrier G (2001) A biologically based dynamic model for predicting the disposition of methanol and its metabolites in animals and humans. *Toxicol Sci* 64: 169–184
- Burbacher T, Grant K, Shen D, Damian D, Ellis S, Liberato N (1999) Reproductive and offspring developmental effects following maternal inhalation exposure to methanol in nonhuman primates. Research Report Nr. 89, Health Effects Institutes, Cambridge, MA, USA
<https://www.healtheffects.org/publication/reproductive-and-offspring-developmental-effects-following-maternal-inhalation-exposure>
- Burbacher TM, Grant KS, Shen DD, Sheppard L, Damian D, Ellis S, Liberato N (2004) Chronic maternal methanol inhalation in nonhuman primates (*Macaca fascicularis*): reproductive performance and birth outcome. *Neurotoxicol Teratol* 26: 639–650
- Chuwers P, Osterloh J, Kelly T, D'Allesandro A, Quinlan P, Becker C (1995) Neurobehavioral effects of low-level methanol vapor exposure in healthy human volunteers. *Environ Res* 71: 141–150
- Cook MR, Bergman FJ, Cohen HD, Gerkovich MM, Graham C, Harris RK, Seimann LG (1991) Effects of methanol vapor on human neurobehavioral measures. Research Report Nr. 42, Health Effects Institute, Cambridge, MA, USA
<https://www.healtheffects.org/publication/effects-methanol-vapor-human-neurobehavioral-measures>
- Cruzan G (2009) Assessment of the cancer potential of methanol. *Crit Rev Toxicol* 39: 347–363
- DECOS (Dutch Expert Committee on Occupational Standards) (2010) Methanol. Health based recommended occupational exposure limit, publication no 2010/01OSH, Health Council of the Netherlands, Den Haag, Niederlande
- ECHA (European Chemicals Agency) (2014) Annex 1, Background document to the opinion proposing harmonized classification and labelling at community level of methanol, Committee for Risk Assessment, RAC, CLH-O-000004421-84-03/E,
<https://echa.europa.eu/documents/10162/f07b3709-8ce3-962b-f617-5b251cc4d71d>
- EFSA (European Food Safety Authority) (2012) Scientific opinion: Guidance on selected default values to be used by the EFSA scientific Committee, scientific panels and units in the absence of actual measured data. *EFSA J* 10: 2579,
<https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.2903/j.efsa.2012.2579>
- EPL (Experimental Pathology Laboratories) (2011) Amended pathology quality assessment review and PWG coordinator's report for lifetime carcinogenicity study of methyl alcohol in Sprague-Dawley rats conducted at the cancer research center, European Ramazzini Foundation for oncology and environmental sciences, Bologna, Italy. C00117E/00117-68,
http://ntp.niehs.nih.gov/ntp/foia/pwgmethylalcohol_508.pdf
- Ernstgard L, Shibata E, Johanson G (2005) Uptake and disposition of inhaled methanol vapor in humans. *Toxicol Sci* 88: 30–38
- Franzblau A (2018) Persönliche Mitteilung an Methanol EU REACH Consortium, 16.11.2018
- Franzblau A, Batterman S, D'Arcy JB, Sargent NE, Gross KB, Schreck RM (1995) Breath monitoring of inhalation and dermal methanol exposure. *Appl Occup Environ Hyg* 10: 833–839
- Franzblau A, Batterman SA, Zhou N, Stephien CJ, D'Arcy JB, Sargent NE, Gross KB, Schreck RM (1997) Evaluation of methanol and formate in urine as biological exposure indices of methanol exposure. *Appl Occup Environ Hyg* 12: 367–374

1506 MAK Value Documentations

- Gift JS, Caldwell JC, Jinot J, Evans MV, Cote I, Vandenberg JJ (2013) Scientific considerations for evaluating cancer bioassays conducted by the Ramazzini Institute. *Environ Health Perspect* 121: 1253–1263
- Humphries P, Pretorius E, Naudé H (2008) Direct and indirect cellular effects of aspartame on the brain. *Eur J Clin Nutr* 62: 451–462
- Jungermann K, Möhler H (1984) *Biochemie*, Springer Verlag, Berlin
- Kavet R, Nauss KM (1990) The toxicity of inhaled methanol vapors. *Crit Rev Toxicol* 21: 21–50
- Korinth G, Schaller KH, Bader M, Bartsch R, Göen T, Rossbach B, Drexler H (2012) Comparison of experimentally determined and mathematically predicted percutaneous penetration rates of chemicals. *Arch Toxicol* 86: 423–430
- Lee EW, Terzo TS, D'Arcy JB, Gross KB, Schreck RM (1992) Lack of blood formate accumulation in humans following exposure to methanol vapor at the current permissible exposure limit of 200 ppm. *Am Ind Hyg Assoc J* 53: 99–104
- Magnuson BA, Burdock GA, Doull J, Kroes RM, Marsh GM, Pariza MW, Spencer PS, Waddell WJ, Walker R, Williams GM (2007) Aspartame: A safety evaluation based on current use levels, regulations, and toxicological and epidemiological studies. *Crit Rev Toxicol* 37: 629–727
- Mann WJ, Muttray A, Schaefer D, Klimek L, Faas M, Konietzko J (2002) Exposure to 200 ppm of methanol increases the concentrations of interleukin-1 β and interleukin-8 in nasal secretions of healthy volunteers. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 111: 633–638
- McCallum GP, Siu M, Ondovcik SL, Sweeting JN, Wells PG (2011) Methanol exposure does not lead to accumulation of oxidative DNA damage in bone marrow and spleen of mice, rabbits or primates. *Mol Carcinog* 50: 163–172
- Medinsky MA, Dorman DC (1994) Assessing risks of low-level methanol exposure. *CIIT Act* 14: 1–7
- Methanol Foundation (2007 a) 24-month chronic and carcinogenic inhalation toxicology study of methanol in Fischer rats. Review of pathology data. Study No 5A-268. Experimental Pathology Laboratories, EPL Project No. 815-002, unveröffentlicht
- Methanol Foundation (2007 b) 18-month chronic and carcinogenic inhalation toxicology study of methanol in B6C3F1 mice. Review of pathology data. Study No 4A-223. Experimental Pathology Laboratories, EPL Project No. 815-003, unveröffentlicht
- Muttray A, Kürten R, Jung D, Schicketanz K-H, Konietzko J (2001) Acute effects on the human EEG after an external exposure to 200 ppm methanol. *Int Arch Occup Environ Health* 74: 43–48
- NEDO (New Energy Development Organization) (1985 a) Test report: 24-month inhalation carcinogenicity study on methanol in Fischer rats (Test No 5A-268), unveröffentlicht
- NEDO (1985 b) Test report: 18-month inhalation carcinogenicity study on methanol in B6C3F1 mice (Test No 5A-223), unveröffentlicht
- NEDO (1987) Toxicological research of methanol as a fuel for power station. Summary report on tests with monkeys, rats and mice, unveröffentlicht
- Nelson BK, Brightwell WS, MacKenzie DR, Khan A, Burg JR, Weigel WW, Goad PT (1985) Teratological assessment of methanol and ethanol at high inhalation levels in rat. *Fundam Appl Toxicol* 5: 727–736
- Nelson BK, Brightwell WS, Krieg Jr EF (1990) Developmental toxicology of industrial alcohols: a summary of 13 alcohols administered by inhalation to rats. *Toxicol Ind Health* 6: 373–387
- NTP (2003) NTP-CERHR Monograph on the potential human reproductive and developmental effects of methanol. Center for the evaluation of risks to human reproduction NIH Publication No. 03-4478, https://ntp.niehs.nih.gov/ntp/ohat/methanol/methanol_monograph.pdf

- OECD (Organisation of Economic Co-operation and Development) (2007) Methanol, CAS Nr. 67-56-1, OECD SIDS Initial Assessment Report, UNEP (United Nations Environment Programme), Genf, Schweiz, https://hpvchemicals.oecd.org/UI/SIDS_Details.aspx?key=8dc6b822-d12d-4d58-b021-189dba27d8ce&idx=0
- Osterloh JD, d'Allesandro A, Chuwers P, Mogadeddi H, Kelly TJ (1996) Serum concentrations of methanol after inhalation at 200 ppm. *J Occup Environ Med* 38: 571–576
- Pollack GM, Brouwer KLR (1996) Maternal-fetal pharmacokinetics of methanol. Research Report Nr. 74, Health Effects Institutes, Cambridge, MA, USA <https://www.healtheffects.org/publication/maternal-fetal-pharmacokinetics-methanol>
- Rogers JM, Chernoff N, Mole ML (1991) Developmental toxicity of inhaled methanol in mice. *Toxicologist* 11: 344
- Rogers JM, Mole ML, Chernoff N, Barbee BD, Turner CI, Logsdon TR, Kavlock RJ (1993) The developmental toxicity of inhaled methanol in the CD-1 mouse. With quantitative dose-response modeling for estimation of benchmark doses. *Teratology* 47: 175–188
- Soffritti M, Belpoggi F, Lambertini L, Lauriola M, Padovani M, Maltoni C (2002) Results of long-term experimental studies on the carcinogenicity of formaldehyde and acetaldehyde in rats. *Ann N Y Acad Sci* 982: 87–105
- Stern S, Reuhl K, Soderholm S, Cox C, Sharma A, Balys M, Gelein R, Yin C, Weiss B (1996) Perinatal methanol exposure in the rat. I. Blood methanol concentration and neural cell adhesion molecules. *Fundam Appl Toxicol* 34: 36–46
- Sweeting JN, Wells PG (2015) New Zealand white rabbit progeny exposed in utero to methanol are resistant to skeletal anomalies reported for rodents, but exhibit a novel vertebral defect. *Reprod Toxicol* 58: 104–110
- Sweeting JN, Siu M, McCallum GP, Miller L, Wells PG (2010) Species differences in methanol and formic acid pharmacokinetics in mice, rabbits and primates. *Toxicol Appl Pharmacol* 247: 28–35
- Sweeting JN, Siu M, Wiley MJ, Wells PG (2011) Species- and strain-dependent teratogenicity of methanol in rabbits and mice. *Reprod Toxicol* 31: 50–58
- ten Berge W (2018) Considerations on the occupational exposure limit of methanol. Stellungnahme im Auftrag des Methanol EU REACH Consortiums, unveröffentlicht
- US EPA (US Environmental Protection Agency) (2013) Toxicological review of methanol (non-cancer) (Cas 67-56-1) in support of summary information on the Integrated Risk Information System (IRIS). EPA/635/R-11-001Fa, US EPA, Washington, DC, USA
- Weiss B, Stern S, Soderholm SC, Cox C, Sharma A, Inglis GB, Preston R, Balys M, Reuhl KR, Gelein R (1996) Developmental neurotoxicity of methanol exposure by inhalation in rats. Research Report Nr. 73, Health Effects Institute, Cambridge, MA, USA, <https://www.healtheffects.org/publication/developmental-neurotoxicity-methanol-exposure-rats>
- White LR, Marthinsen ABL, Richards RJ, Eik-Nes KB, Nilsen OG (1983) Biochemical and cytological studies of rat lung after inhalation of methanol vapour. *Toxicol Lett* 17: 1–5
- White T, Williams A, DeSesso JM (2016) Letter to the editor: Comment on Sweeting and Wells (2015). *Reprod Toxicol* 66: 124–125