

Die BG RCI ist seit 2010 Rechtsnachfolger der BG Chemie

TOXIKOLOGISCHE BEWERTUNGEN

ISBN 0937-4248

Diethanolamin **Nr. 158**

CAS-Nr. 111-42-2



BG Chemie
Berufsgenossenschaft der
chemischen Industrie

ISSN 0937-4248

Die Erstellung der TOXIKOLOGISCHEN BEWERTUNGEN ist nach bestmöglicher Sorgfalt erfolgt, jedoch ist eine Haftung bei fehlerhaften Angaben oder Bewertungen ausgeschlossen.

© Berufsgenossenschaft der chemischen Industrie, Heidelberg

Alle Rechte, insbesondere die der Übersetzung, vorbehalten. Nachdrucke - auch auszugsweise - nur mit ausdrücklicher Genehmigung der Berufsgenossenschaft der chemischen Industrie.

Berufsgenossenschaft der chemischen Industrie
Postfach 10 14 80, 69004 Heidelberg
Telefon: 06221 523 (0) 400
E-Mail: ToxikologischeBewertungen@bgchemie.de
Internet: www.bgchemie.de/toxikologischebewertungen

Diethanolamin

Diethanolamine

1 Zusammenfassung und Bewertung

Diethanolamin wird nach oraler Verabreichung vom Magen-Darm-Trakt schnell aufgenommen. Durch die Haut wird Diethanolamin nur langsam und unvollständig resorbiert; dabei nehmen Ratten innerhalb von 48 Stunden nur 16 % der aufgetragenen Stoffmenge auf, Mäuse im gleichen Zeitraum bei einer vergleichbaren Dosis 34 % und bei einer dreifach höheren Dosis 58 %. Nach mehrmaliger täglicher Verabreichung wird die Resorptionsfähigkeit der Haut von Ratten an der Applikationsstelle gesteigert. In vitro-Untersuchungen an Hautpräparaten haben gezeigt, dass erhebliche Speziesunterschiede in der Penetrationsgeschwindigkeit von Diethanolamin durch die Haut bestehen und dass diese für eine 37-prozentige wässrige Lösung des Stoffes von der Maus (294 µg/cm²/Stunde) über Kaninchen und Ratten zum Menschen (12,7 µg/cm²/Stunde) sehr deutlich abnimmt. Auch über die Atemwege wird Diethanolamin vom Körper aufgenommen, wie eine Reihe von subakuten und subchronischen Studien zeigt, die wegen des sehr geringen Dampfdruckes des Stoffes mit Aerosolen durchgeführt worden sind. Vom Körper aufgenommenes Diethanolamin wird unabhängig vom Verabreichungsweg nur langsam wieder ausgeschieden. Die mehrfache Applikation führt zu einer deutlichen Akkumulation. Hauptausscheidungsweg ist über den Urin; nur wenig wird über die Fäzes und nur Spuren werden über die Atemluft ausgeschieden. Nach einmaliger oraler und dermaler Applikation des Diethanolamins werden innerhalb von 48 Stunden 20 bis 30 % des aufgenommenen Stoffes mit dem Urin, 2 bis 3 % mit den Fäzes und ca. 0,2 % mit der Atemluft ausgeschieden. 40 bis 60 % des resorbierten Diethanolamins werden im Gewebe gespeichert, wobei die Hauptmengen in der Leber und in den Nieren gefunden werden, aber auch in zahlreichen anderen Organen und in den Muskeln. Nach täglicher oraler Applikation von Diethanolamin an 5 aufeinander folgenden Tagen sind nur etwa 40 % der gesamten verabreichten Menge wieder ausgeschieden worden und die Konzentration an Diethanolamin im Gewebe ist 3- bis 5-mal höher als nach einmaliger Applikation. Wird die tägliche Diethanolamin-Gabe über 8 Wochen fortgesetzt, so kommt es nach etwa 4

Wochen zu einer Sättigung des Gewebes und die prozentuale Ausscheidung steigt bis auf 92 % der verabreichten Menge in der 8. Woche an. Wird die Diethanolamin-Behandlung nach 4 Wochen abgesetzt, so wird der gespeicherte Stoff mit einer Halbwertszeit von etwa einer Woche wieder ausgeschieden und ist nach 4 Wochen zu über 90 % aus dem Gewebe verschwunden. Nach einmaliger intravenöser Applikation von Diethanolamin an Ratten werden innerhalb der folgenden 96 Stunden bei einer Dosis von 10 mg/kg Körpergewicht 25 % biphasisch mit Halbwertszeiten von 9,2 Minuten und 258 Stunden mit dem Urin ausgeschieden. Bei einer Dosis von 100 mg/kg Körpergewicht sind es 36 % mit Halbwertszeiten von 16,3 Minuten und 206 Stunden. 64,1 bzw. 52,5 % der verabreichten Diethanolamin-Menge verbleiben im Gewebe. Fäzes und Atemluft sind kaum an der Ausscheidung beteiligt. Zu gleichlautenden Ergebnissen kommt man auch in Versuchen an Ratten und Mäusen, die intravenös mit Diethanolamin behandelt werden und deren Ausscheidungskinetik über 48 Stunden gemessen worden ist. Im Organismus wird Diethanolamin nur zu einem geringen Anteil metabolisch verändert. Die Analyse der nach Diethanolamin-Gabe mit dem Urin ausgeschiedenen Stoffe zeigt, dass nach einmaliger Gabe fast ausschließlich unverändertes Diethanolamin vorliegt und kaum Metaboliten. Nach 8 Wochen langer Behandlung werden auch N-Methylierungsprodukte des Diethanolamins in deutlicher Menge im Urin gefunden. Das im Gewebe gespeicherte Diethanolamin wird ebenfalls in seiner Struktur zum größten Teil nicht verändert. Im wässrigen Extrakt aus Leber- und Gehirnhomogenaten, der nach einmaliger Diethanolamin-Gabe 80 bis 90 % des im Gewebe gespeicherten Stoffes repräsentiert, findet sich zum überwiegenden Teil das unveränderte Diethanolamin als Phosphat. Im Leberhomogenat sind auch kleine Mengen von N-Methyl- und N,N-Dimethyldiethanolamin als Phosphate vorhanden (je 2 % der erfassten Diethanolamin-Menge). Diese Verbindungen sind im Gehirnhomogenat nicht nachweisbar. Ein geringerer Teil des insgesamt in der Leber oder dem Gehirn gespeicherten Diethanolamins ist an Lipide gebunden und kann mit Chloroform/Methanol aus dem Homogenat extrahiert werden. Nach einmaliger Diethanolamin-Gabe sind das in der Leber 9 % und im Gehirn 6 % bezogen auf das insgesamt vorliegende Diethanolamin und nach 8 Wochen langer Behandlung 2 % in der Leber und 21 % im Gehirn. Die Analyse des Chloroform-/Methanol-Extraktes zeigt, dass im Gehirn das Diethanolamin fast ausschließlich als unveränderte Verbindung in einer Phosphatidylethanolamin-Fraktion auftritt. 15 % davon sind an Ceramid-Derivate gebunden und

85 % an Phosphoglyceride. Diese Verteilung ist bereits nach einmaliger Diethanolamin-Gabe vorhanden und ändert sich nach 8 Wochen Behandlung nicht wesentlich. In der Leber verteilt sich das mit Chloroform/Methanol extrahierbare, gebundene Diethanolamin nach einmaliger Applikation zu gleichen Teilen auf eine Phosphatidylethanolamin-Fraktion und auf eine Phosphatidylcholin-Fraktion. In der Phosphatidylethanolamin-Fraktion liegt das Diethanolamin strukturell unverändert vor und ist zu etwa 30 % an Ceramid-Derivate gebunden und zu 70 % an Phosphoglyceride. Die Phosphatidylcholin-Fraktion enthält kein unverändertes Diethanolamin, sondern N-Methyl- (15 %) und N,N-Dimethyldiethanolamin (85 %), die zu etwa 30 % an Ceramide und zu etwa 70 % an Phosphoglyceride gebunden sind. Nach 8-wöchiger Behandlung ist der mit Chloroform/Methanol extrahierbare Anteil deutlich gesunken und der Stoff ist in der Phosphatidylethanolamin-Fraktion nicht mehr nachweisbar. In der Phosphatidylcholin-Fraktion findet sich nur noch N,N-Dimethylethanolamin, das fast vollständig an Ceramid-Derivate gebunden ist. Auch im Blut von einmalig oder langfristig mit Diethanolamin behandelten Ratten liegen 16 bis 20 % des Stoffes als N-Methyl-Derivate an Phospholipide gebunden vor. In vitro-Untersuchungen an Schnitten von menschlicher Leber haben gezeigt, dass Diethanolamin von dem Gewebe aufgenommen wird (29 % der eingesetzten Menge in 12 Stunden), zum größten Teil nicht metabolisch verändert wird und zu einem kleineren Teil in Phospholipiden (Ceramid-Derivaten) ebenfalls weitgehend als unverändertes Molekül enthalten ist. Es kann daher angenommen werden, dass ein geringer Teil des vom Körper aufgenommenen Diethanolamins am Stickstoffatom methyliert und/oder am Sauerstoffatom phosphoryliert wird und dass diese Metaboliten anstelle der nahe strukturverwandten Stoffe Ethanolamin und Cholin in Phospholipide eingebaut werden.

Bei der einmaligen Verabreichung hoher Dosen von Diethanolamin zeigt sich der Stoff als nur gering toxisch. Die berichteten Daten zur oralen LD₅₀ bei Ratten schwanken stark und liegen zwischen 1410 und 3540 mg/kg Körpergewicht mit einem ganz außerhalb liegenden Wert von 710 mg/kg Körpergewicht. Während sich die Werte zur akuten oralen Toxizität bei Kaninchen und Meerschweinchen im ähnlichen Dosisbereich befinden, scheinen Mäuse mit LD₅₀-Werten von 3300 und 4570 mg/kg Körpergewicht etwas unempfindlicher als Ratten zu sein. Die dermale Toxizität bei Kaninchen ist mit LD₅₀-Werten von 12200 und 13000 mg/kg Körpergewicht sehr schwach ausgeprägt. Wegen des sehr geringen Dampfdruckes von Dietha-

nolamin kann der Stoff nur dann über die Atemwege toxisch wirken, wenn er als Aerosol verabreicht wird. Die Inhalation von mit Diethanolamin-Gas gesättigter Atemluft im Inhalations-Risiko-Test überleben Ratten symptomlos. Bei hohen Aerosolkonzentrationen kommt es nach wenigen Stunden zu Todesfällen. Die Daten zur Toxizität von Diethanolamin nach einmaliger intraperitonealer Applikation bei Ratten und Mäusen schwanken sehr stark, zeigen aber eine deutliche Giftwirkung bereits im Bereich von 200 mg/kg Körpergewicht. Die subkutane und die intramuskuläre LD₅₀ liegen im Bereich von mehreren 1000 mg/kg Körpergewicht. Angaben zur Vergiftungssymptomatik liegen nur ganz vereinzelt vor. Sie sind eher unspezifisch. Als Zielorgane werden Leber und Niere angegeben, in einem Fall wird über Elektrolytverschiebungen im Serum bei einer sehr hohen intraperitoneal verabreichten Diethanolamin-Dosis berichtet.

Diethanolamin wirkt auf die Haut bei einmaligem Kontakt über mehrere Stunden reizend. Kurzfristiger Kontakt und wässrige Verdünnungen des Stoffes führen zu keiner Hautreizung. Längerfristige Behandlung mit in 95-prozentigem Ethanol gelöstem Diethanolamin (14 Tage bis 13 Wochen) führt bei Ratten und Mäusen zu Hautschäden mit chronisch-aktiver Entzündung, Hyperkeratose und Akanthose. Gelangt Diethanolamin in die Augen, so wirkt es dort stark reizend bis ätzend und kann ernste Augenschäden hervorrufen.

Diethanolamin hat in mehreren Untersuchungen beim Meerschweinchen keine hautsensibilisierende Wirkung gezeigt. In einem modifizierten lokalen Lymphknotentest an Mäusen kann eine Wirkung von Diethanolamin auf die Proliferation der Lymphknotenzellen und eine Produktion von Interleukin-4 und Interferon- γ in diesen nur nach Vorbehandlung der Applikationsstelle mit einer 10-prozentigen Lösung von Natriumdodecylsulfat nachgewiesen werden. Da aber auch Natriumdodecylsulfat schon eine deutliche Wirkung auf die gemessenen Parameter hat, beruht die beobachtete Diethanolamin-Wirkung nur auf einem Synergismus zwischen Natriumdodecylsulfat und Diethanolamin.

Es sind zahlreiche Untersuchungen zur subakuten, subchronischen und chronischen Toxizität von Diethanolamin sowie zu toxischen Wirkungen des Stoffes auf einzelne Organe durchgeführt worden. Die Ergebnisse sind zur besseren Übersicht in Tabelle 1 zusammengefasst:

Tabelle 1. Zusammenfassende Darstellung der toxischen Wirkungen von Diethanolamin auf die inneren Organe von Ratten und Mäusen mit Ausnahme von Kanzerogenität und Reproduktionstoxizität						
Untersuchte Spezies, Geschlecht	Applikationsform	Dosis (mg/kg Körpergewicht)	Applikationsdauer	Todesfälle	Toxikologisch relevante Behandlungseffekte	Literatur
Akut						
Ratte, männlich	oral	100 - 3200	einmalig (Tötung nach 18 Stunden)	keine	Leber- und Nierengewicht erhöht; Harnstoff im Blut erhöht, Arginin erniedrigt; alle untersuchten Enzymaktivitäten im Serum erhöht; degenerative Veränderungen im Leberparenchym und im Nierengewebe, tubuläre Nekrosen, geschwollenes endoplasmatisches Retikulum, Ribosomenverlust; kein no observed effect level (NOEL)	Korsrud et al., 1973
Ratte, männlich	oral	1000	einmalig (Tötung nach 2, 5 oder 24 Stunden)	keine	Leber- und Pankreasveränderungen, Schwellung der Mitochondrien, des endoplasmatischen Retikulums und des Golgi-Apparates; fokale Degeneration der Acinarzellen des Pankreas	Hruban et al., 1965
Ratte, männlich	intraperitoneal	100 oder 500	einmalig (Tötung nach 24 Stunden)	keine	im Leber- und Nierengewebe Vakuolisierung des Zytoplasmas, geschwollene Mitochondrien; LDH- und AST-Aktivität im Blut gesteigert	Grice et al., 1971
Subakut						
Ratte, männlich	oral	1000	4 Tage	keine	Effekte gegenüber der einmaligen Applikation (siehe oben) leicht verstärkt	Hruban et al., 1965
Ratte, männlich	oral	3,3, 33 oder 330 (Δ 0,01, 0,1 oder 1 % im Futter, Versuch mit unabhängiger Wiederholung)	32 Tage	9/10 bzw. 8/10 bei 330 mg/kg Körpergewicht	Lebergewicht erhöht; Hämoglobingehalt und Hämatokritwert erniedrigt, Proteingehalt im Blut erniedrigt; keine Effekte bei 3,3 mg/kg Körpergewicht	Eastman Kodak, 1967 a, 1968
Ratte, männlich (keine nach Applikationsart differenzierte Darstellung der Befunde)	oral oder intraperitoneal	26, 557 oder 1000 26 - 557	3 bis 5 Tage 2 bis 49 Tage	keine Angaben	Hypokalzämie mit Tetaniesymptomen, 3fach erhöhte Kalziumausscheidung bei kurzer Behandlung mit hohen Dosen, Hyperfunktion der Nebennierenrinde mit Hyperglykämie und Corticosteronanstieg, erhöhter Blut-Harnstoff-Stickstoff, Rückbildung des Thymus, Anämie bei längerer Behandlung	Foster, 1972

Tabelle 1. Zusammenfassende Darstellung der toxischen Wirkungen von Diethanolamin auf die inneren Organe von Ratten und Mäusen mit Ausnahme von Kanzerogenität und Reproduktionstoxizität

Untersuchte Spezies, Geschlecht	Applikationsform	Dosis (mg/kg Körpergewicht)	Applikationsdauer	Todesfälle	Toxikologisch relevante Behandlungseffekte	Literatur
Ratte, männlich und weiblich	oral	Männchen: ca. 77, 162, 319, 622 oder 1016; Weibchen: ca. 79, 158, 371, 670 oder 1041	14 Tage	5/5 Weibchen und 2/5 Männchen bei der höchsten Dosis; 5/5 Weibchen bei 670 mg/kg Körpergewicht	normochrome, mikrozytäre Anämie mit Abnahme der Erythrozyten- und Retikulozytenzahl, des Hämoglobins und des Hämatokrits; erhöhte Serumkonzentrationen an Kreatinin, Gesamtprotein, Albumin und Gallensäuren; Nierengewicht erhöht; Nekrosen des Nierentubulusepithels; im Urin Anstieg von Harnstoff, Glukose, Eiweiß und LDH-Aktivität; kein no observed adverse effect level (NOEL)	NTP, 1992
Ratte, keine Angabe zum Geschlecht	oral	105, 210 oder 315	11 Tage (5. bis 15. Tag nach der Geburt)	keine	Leber- und Nierengewicht erhöht; Aktivität der Succinatdehydrogenase in der Kern- und Mitochondrienfraktion von Leberzellen und der Mitochondrienfraktion von Nierenzellen erhöht, Cholinesterase-Aktivität in der Mitochondrienfraktion erhöht	Burdock und Masten, 1979
Ratte, keine Angabe zum Geschlecht	oral	105, 210 oder 315	11 Tage (5. bis 15. Tag nach der Geburt)	keine	histopathologische Veränderungen in der Leber (periportale Schwellungen und Vakuolisierung, geschwollene Mitochondrien); Aufnahme von Diethanolamin in die Mitochondrienfraktion der Leber- und Nierenzellen; Anilinhydroxylase-Aktivität in Lebermikrosomen erniedrigt, Succinatdehydrogenase in Leber und Niere erhöht	Burdock, 1981
Ratte, männlich	oral	0,25, 1,3 oder 5 mg/ml Trinkwasser	7, 14 oder 21 Tage	keine	Abnahme der Atmungskontrolle und Anstieg des Sauerstoffverbrauches in den Mitochondrien der Leberzellen	Barbee und Hartung, 1976
Ratte, männlich	oral	42, 160 oder 490	7 bis 35 Tage	keine	Sauerstoffaufnahme der Mitochondrien aus Leberzellen im Status 4 und ATPase-Aktivität nach 3 Wochen Behandlung gesteigert; Veränderungen der Größe und Gestalt der Mitochondrien in Leberzellen nach 2 Wochen Behandlung	Barbee und Hartung, 1979 a

Tabelle 1. Zusammenfassende Darstellung der toxischen Wirkungen von Diethanolamin auf die inneren Organe von Ratten und Mäusen mit Ausnahme von Kanzerogenität und Reproduktionstoxizität

Untersuchte Spezies, Geschlecht	Applikationsform	Dosis (mg/kg Körpergewicht)	Applikationsdauer	Todesfälle	Toxikologisch relevante Behandlungseffekte	Literatur
Maus, männlich und weiblich	oral	110 - 2169	14 Tage	keine	Lebergewicht dosisabhängig erhöht; geringgradige Veränderungen im Lebergewebe	NTP, 1992
Ratte, männlich und weiblich	dermal	125, 250, 500, 1000 oder 2000	16 Tage	5/5 Weibchen und 3/5 Männchen bei der höchsten Dosis, 1/5 Weibchen bei 1000 mg/kg Körpergewicht	dosisabhängige Hautveränderungen im Applikationsbereich; normochrome, mikrozytäre Anämie mit Abnahme der Erythrozyten- und Retikulozytenzahl, des Hämoglobins und des Hämatokrits; Nierengewicht erhöht; Nekrosen des Nierentubulusepithels; im Urin Anstieg von Harnstoff, Glukose, Eiweiß und LDH-Aktivität; kein no observed adverse effect level (NOEL)	NTP, 1992
Maus, männlich und weiblich	dermal	160, 320, 630, 1250 oder 2500	16 Tage	5/5 Männchen und 3/5 Weibchen bei der höchsten Dosis	dosisabhängige Hautveränderungen im Applikationsbereich; Lebergewicht erhöht; minimale histopathologische Veränderungen des Lebergewebes	NTP, 1992
Ratte, keine Angabe zum Geschlecht	inhalativ	109 mg/m ³	9 Tage	keine	Lebergewicht erhöht; Anstieg der AST-Aktivität, Erhöhung des Nierengewichtes und des Blut-Harnstoff-Stickstoffs	Hartung et al., 1970
Ratte, männlich und weiblich	inhalativ	100, 200 oder 400 mg/m ³ , 6 Stunden/Tag	14 Tage	keine	Lebergewicht bei den Weibchen der höchsten Dosisgruppe erhöht	BASF, 1993 a
Ratte, keine Angabe zum Geschlecht	intraperitoneal	250	wiederholt (keine weiteren Angaben)	keine	Lebergewicht erhöht, Absinken des Gesamtlipidgehaltes der Leber	Hartung et al., 1970
Maus, keine Angabe zum Geschlecht	intraperitoneal	6, 8 oder 12 mg/Tier	2 bis 48 Tage	keine	Lebergewicht erhöht; Glykogen- und Wassergehalt der Leber erhöht, Gesamtlipide in der Leber erniedrigt	Annau et al., 1950
Subchronisch und chronisch						
Ratte, keine Angabe zum Geschlecht	oral	4 mg/ml Trinkwasser	7 Wochen	zahlreiche, keine weiteren Angaben	Leber- und Nierenschäden, ausgeprägte normozytäre Anämie ohne Verminderung des Knochenmarks und ohne Anstieg der Retikulozytenzahl	Hartung et al., 1970

Tabelle 1. Zusammenfassende Darstellung der toxischen Wirkungen von Diethanolamin auf die inneren Organe von Ratten und Mäusen mit Ausnahme von Kanzerogenität und Reproduktionstoxizität

Untersuchte Spezies, Geschlecht	Applikationsform	Dosis (mg/kg Körpergewicht)	Applikationsdauer	Todesfälle	Toxikologisch relevante Behandlungseffekte	Literatur
Ratte, männlich und weiblich	oral	171, 350, 680, 560 oder 580 (aufgenommene Menge)	90 Tage	jeweils 10/10 ab 350 mg/kg Körpergewicht; 1/10 bei 171 mg/kg Körpergewicht	Leber- und Nierengewicht erhöht; histopathologische Veränderungen im Leber- und Nierengewebe, Lungeninfektionen	Mellon Institute, 1950; Smyth et al., 1951
	oral	5,1, 20, 90 oder 390	90 Tage	7/10 in der höchsten Dosisgruppe; je 2 bis 3/10 in den anderen Gruppen	Leber- und Nierengewicht erhöht, Lungeninfektionen in verstärktem Ausmaß; no effect level (NOEL) aus beiden Studien (siehe oben) zwischen 90 und 171 mg/kg Körpergewicht	
begrenzte Aussagekraft beider Studien wegen nicht testsubstanzbedingter Todesfälle und unzureichender Dokumentation						
Ratte, männlich und weiblich	oral	25, 50, 100, 200 oder 400	13 Wochen	4/20 bei 400 mg/kg Körpergewicht, 4/20 bei 200 mg/kg Körpergewicht, 1/20 bei 100 mg/kg Körpergewicht	Körpergewichtsentwicklung ab 50 (Männchen) bzw. 100 (Weibchen) mg/kg Körpergewicht dosisabhängig stark gehemmt; keine weiteren Befunde; no observed effect level (NOEL) 25 (Männchen) bzw. 50 (Weibchen) mg/kg Körpergewicht	GSRI, 1980
Ratte, männlich	oral	25, 48, 97, 202 oder 436	13 Wochen	2/10 bei der höchsten Dosis	Körpergewichtsretardierung; normochrome, mikrozytäre Anämie mit Abnahme der Erythrozyten- und Retikulozytenzahl, des Hämoglobins und des Hämatokrits, erhöhter Gehalt an Harnstoff, Gesamteiweiß, Albumin und Gallensäuren im Blut; erhöhte Leber- und Nierengewichte; reduzierte Hoden- und Nebenhodengewichte; erhöhter Eiweißgehalt im Urin; histopathologische Veränderungen in Nieren und Hoden sowie im Rückenmark und der Medulla oblongata, kein no observed adverse effect level (NOAEL)	NTP, 1992; Melnick et al., 1994 a
Ratte, weiblich	oral	14, 32, 57, 124 oder 242	13 Wochen	1/10 bei der niedrigsten Dosis		

Tabelle 1. Zusammenfassende Darstellung der toxischen Wirkungen von Diethanolamin auf die inneren Organe von Ratten und Mäusen mit Ausnahme von Kanzerogenität und Reproduktionstoxizität

Untersuchte Spezies, Geschlecht	Applikationsform	Dosis (mg/kg Körpergewicht)	Applikationsdauer	Todesfälle	Toxikologisch relevante Behandlungseffekte	Literatur
Maus, männlich und weiblich	oral	50, 100, 200, 400 oder 800	13 Wochen	1/20 bei 800 mg/kg Körpergewicht, 1/20 bei 100 mg/kg Körpergewicht (Todesfälle nicht behandlungsbedingt)	keine eindeutigen Behandlungseffekte	GSRI, 1980
Maus, männlich	oral	104, 178, 422, 807 oder 1674	13 Wochen	10/10 bei den beiden höchsten Dosierungen	Körpergewichtsretardierung; Lebergewicht erhöht, ALT- und SDH-Aktivität im Blut gesteigert, Lebergewebeschäden; Nephropathien; Herzgewicht erhöht, Degeneration des Herzmuskels bei hohen Dosierungen; zytologische Veränderungen der submandibulären Speicheldrüsen; kein no observed adverse effect level (NOAEL)	NTP, 1992; Melnick et al., 1994 b
Maus, weiblich	oral	142, 347, 884, 1154 oder 1128	13 Wochen	10/10 bei den beiden höchsten Dosierungen; 3/10 bei 884 mg/kg Körpergewicht	Herzgewicht erhöht, Degeneration des Herzmuskels bei hohen Dosierungen; zytologische Veränderungen der submandibulären Speicheldrüsen; kein no observed adverse effect level (NOAEL)	
Ratte, männlich und weiblich	dermal	32, 63, 125, 250 oder 500	13 Wochen	3/20 bei der höchsten Dosis	Hautveränderungen im Applikationsbereich; Körpergewichtsretardierung; normochrome, mikrozytäre Anämie mit Abnahme der Erythrozyten- und Retikulozytenzahl, des Hämoglobingehaltes und des Hämatokritwertes, Albumin- und Harnstoffgehalt sowie Protein- und Gallensäurekonzentration sowie ALT im Blut erhöht; Leber- und Nierengewicht erhöht, Hodengewicht reduziert; Nierengewebeschäden, histopathologische Veränderungen in der Medulla oblongata; kein no observed adverse effect level (NOAEL)	NTP, 1992; Melnick et al., 1994 a
Ratte, männlich und weiblich	dermal	8, 16 oder 32 (Weibchen), 16, 32 oder 64 (Männchen)	2 Jahre	kein Unterschied zur Kontrolle	Hautveränderungen im Applikationsbereich; gesteigerte Häufigkeit und Schweregrad der Nephropathien, bei Weibchen dosisabhängig ab der niedrigsten Dosis, bei Männchen nur bei der höchsten Dosis	NTP, 1999 a

Tabelle 1. Zusammenfassende Darstellung der toxischen Wirkungen von Diethanolamin auf die inneren Organe von Ratten und Mäusen mit Ausnahme von Kanzerogenität und Reproduktionstoxizität

Untersuchte Spezies, Geschlecht	Applikationsform	Dosis (mg/kg Körpergewicht)	Applikationsdauer	Todesfälle	Toxikologisch relevante Behandlungseffekte	Literatur
Maus, männlich und weiblich	dermal	80, 160, 320, 630 oder 1250	13 Wochen	6/20 bei der höchsten Dosis	Hautveränderungen im Applikationsbereich; Lebergewicht erhöht; Lebergewebeschäden; ALT- und SDH-Aktivität im Blut gesteigert; Nieren- und Herzgewicht erhöht, Herzmuskelschäden, zytologische Veränderungen der submandibulären Speicheldrüsen; kein no observed adverse effect level (NOAEL)	NTP, 1992; Melnick et al., 1994 b
Maus, männlich und weiblich	dermal	40, 80 oder 160	2 Jahre	verkürzte Lebenszeit bei der höchsten Dosis	Hautveränderungen im Applikationsbereich; Körpergewichtsretardierung; zytoplasmatische Veränderungen im Lebergewebe und in der Schilddrüse, hauptsächlich bei Männchen	NTP, 1999 a
Ratte, männlich und weiblich	inhalativ	15, 150 oder 400 mg/m ³ , 6 Stunden/Tag, 5 Tage/Woche	13 Wochen	keine	schwache normochrome, mikrozytäre Anämie, Erythrozytenzahl und -volumen, Hämoglobingehalt des Blutes und Hämatokrit erniedrigt bei der höchsten Konzentration; Lebergewicht erhöht; ALT- und ALP-Aktivität erhöht; Nierengewicht erhöht, Nierengewebeschäden; histopathologische Veränderungen in Larynx und Trachea; systemischer no observed adverse effect level (NOAEL) zwischen 15 und 150 mg/m ³ ; kein lokaler NOAEL wegen Plattenepithelmetaplasien im Larynx auch noch bei 15 mg/m ³	BASF, 1996
Ratte, männlich	inhalativ	26 mg/m ³	13 Wochen	einige Todesfälle	Körpergewichtsretardierung; Erhöhung des Lungen- und Nierengewichtes	Hartung et al., 1970
Ratte, Hund, Meerschweinchen, männlich und weiblich	inhalativ	1,14 mg/m ³ ganztägig	13 Wochen	keine	erhöhte Lebergewichte bei den weiblichen Ratten	Hazleton, 1967
ALP	alkalische Phosphatase			ATPase	Adenosintriphosphatase	
ALT	Alaninaminotransferase			LDH	Laktatdehydrogenase	
AST	Aspartataminotransferase			SDH	Sorbitdehydrogenase	

Ende Tabelle 1

Unabhängig vom Verabreichungsweg und von der Behandlungsdauer sind Leber und Niere Zielorgane der toxischen Wirkungen von Diethanolamin. Daneben wird bereits nach einer 14-tägigen Behandlung mit Diethanolamin bei Ratten eine normochrome, mikrozytäre Anämie beobachtet. Nach hohen Dosierungen von Diethanolamin werden akut Pankreasschäden, Hypokalzämie und Hyperfunktion der Nebennierenrinde sowie Verminderungen des Hoden- und Nebenhodengewichtes mit degenerativen Veränderungen der generativen Zellen gesehen. Nach längerfristiger Behandlung mit hohen Dosen von Diethanolamin kommt es zu Degenerationen des Herzmuskels mit erhöhtem Herzgewicht, zu histopathologischen Veränderungen im Rückenmark und in der Medulla oblongata und zu zytologischen Veränderungen der submandibulären Speicheldrüsen. Im Vordergrund der toxischen Wirkung von Diethanolamin stehen aber immer die Leber- und Nierenschäden. Sie treten schon nach einmaliger Gabe von 10 mg Diethanolamin/kg Körpergewicht auf und verstärken sich dosisabhängig. Dazu korrelieren Funktionsstörungen und histopathologische Befunde dieser Organe, verbunden mit entsprechenden Befunden der klinisch-chemischen Untersuchungen des Blutes und Urins der behandelten Tiere. In verschiedenen Untersuchungen ist eine Wirkung der Diethanolamin-Behandlung auf die Membranen und Organellen der Zellen nachgewiesen worden. Es wird angenommen, dass mindestens teilweise die toxische Wirkung des Diethanolamins darauf zurückzuführen ist, dass es statt der nahe strukturverwandten Stoffe Ethanolamin und Cholin in Phospholipide eingebaut wird, die als Bausteine für Zellmembranen dienen. Die so entstehenden unnatürlichen Phospholipide stören die natürlichen Funktionen der Membranen; insbesondere sind die Mitochondrien und Mikrosomen betroffen. Dafür sprechen nicht nur mikroskopische und elektronenmikroskopische Studien, die schon nach der Behandlung mit sehr niedrigen Dosierungen von Diethanolamin morphologische Veränderungen an den Zellorganellen aufgezeigt haben, sondern auch der Nachweis von Funktionsstörungen dieser Zellorganellen nach Diethanolamin-Behandlung der Tiere, aus denen sie gewonnen worden sind. So zeigen Mitochondrien aus Leberzellen von mit Diethanolamin 2 Wochen oral behandelten Ratten einen Anstieg des Sauerstoffverbrauches bei Abnahme der Atmungskontrolle. Nach intraperitonealer 5-tägiger Behandlung von Ratten mit Diethanolamin werden die Arzneimittel abbauenden Enzyme der Hydroxylierung von Acetanilid und der N-Demethylierung von Aminopyren dosisabhängig gehemmt. Die Hexobarbital-Schlafzeit der Tiere ist deutlich und dosisabhängig verlängert.

Dazu korreliert ein Abfall des Gehaltes an Zytochrom P-450 und b_5 in den Mikrosomen der Leberzellen der behandelten Tiere. Auch wird die durch Phenobarbital bewirkte Leberenzyminduktion durch Diethanolamin blockiert, wenn dieses gleichzeitig mit dem Phenobarbital verabreicht wird. Der Einbau von Diethanolamin in Phospholipide der Leber und der Niere ist in vivo und in vitro nachgewiesen worden. Diethanolamin hemmt dabei die Synthese der natürlichen Phospholipide aus Ethanolamin und Cholin und die entstehenden Diethanolamin-haltigen Phospholipide werden deutlich langsamer abgebaut, sodass sich das Verhältnis von natürlichen zu unnatürlichen Phospholipiden zugunsten der unnatürlichen mit Fortschreiten der Behandlung ändert. Zu gleichen Ergebnissen kommen auch die toxikokinetischen Untersuchungen zur Verteilung und Ausscheidung des Diethanolamins im Körper.

Nach den vorliegenden Befunden besitzt Diethanolamin kein gentoxisches Potenzial. Alle bisher durchgeführten Prüfungen in vitro und in vivo sind negativ verlaufen. Weder in den Standardtesten mit Mikroorganismen (*Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli*, *Saccharomyces cerevisiae*) und in den Testen mit Säugerzellen zur Chromosomenaberration und zum Schwester-Chromatid-Austausch in vitro noch in in vivo-Testen zu DNA-Einzelstrangbrüchen und zur Entstehung von Mikrokernen kann eine gentoxische Wirkung von Diethanolamin nachgewiesen werden.

Zur kanzerogenen Wirkung von Diethanolamin liegt eine umfassende Studie vor, in der Ratten und Mäuse 2 Jahre lang mit Diethanolamin dermal behandelt worden sind. Während bei den Ratten eine kanzerogene Wirkung des Stoffes nicht nachzuweisen ist, kommen die Autoren und begutachtenden Wissenschaftler des US National Toxicology Program (NTP) zu dem Schluss, dass unter den Bedingungen der Studie ein klarer Beweis für eine kanzerogene Wirkung von Diethanolamin bei männlichen und weiblichen Mäusen erbracht worden ist. Diese Aussage stützt sich auf die gegenüber der Kontrollgruppe stark und dosisabhängig erhöhte Häufigkeit hepatozellulärer Adenome und Karzinome bei beiden Geschlechtern am Ende der Behandlungszeit. Daneben wird bei den männlichen Mäusen ein signifikanter und dosisabhängiger Anstieg der Zahl an Adenomen und Hyperplasien der Nierentubuli beobachtet. Zur Bewertung der kanzerogenen Wirkung von Diethanolamin bei Mäusen sind vom NTP auch drei Studien mit herangezogen worden, die parallel und methodengleich zu der Untersuchung des Diethanolamins mit den Kondensationsprodukten von Dietha-

nolamin mit Kokosölsäure, Laurylsäure oder Ölsäure durchgeführt worden sind. Diese Produkte enthalten freies Diethanolamin als Verunreinigung in unterschiedlichen Konzentrationen von 0,19 % im Ölsäurekondensat bis zu 18 % im Kokosölsäurekondensat. Entsprechend dem Gehalt an Diethanolamin sind auch in diesen Untersuchungen vermehrt hepatozelluläre Adenome und Karzinome aufgetreten, abgestuft von gar keinem Effekt beim Ölsäurekondensat bis zu einem sehr deutlichen Effekt beim Kokosölsäurekondensat. An den genannten Kanzerogenitätsstudien ist Kritik geäußert worden, da die dermale Applikation offen ohne Abdeckung erfolgt ist, so dass eine teilweise orale Aufnahme des Stoffes nicht ausgeschlossen werden kann. Außerdem sind die untersuchten Stoffe in 95-prozentigem Ethanol gelöst worden, dem selbst Eigenschaften als leberkarzinogener Risikofaktor zugeschrieben werden. Eine Studie an transgenen Mäusen ist negativ verlaufen. Von zwei Testen zur Zelltransformation an Embryonalzellen des syrischen Hamsters hat einer ein positives und einer ein negatives Ergebnis erzielt, wobei das negative Ergebnis fragwürdig ist, da die mitgeführten Positivkontrollen kein eindeutig positives Ergebnis gezeigt haben. Da Diethanolamin nach den vorliegenden Befunden keine gentoxische Wirkung besitzt, ist eine Studie durchgeführt worden, um einen möglichen nicht gentoxischen Mechanismus für die an Mäusen beobachtete Entstehung von Tumoren zu untersuchen. Dazu sind B6C3F1-Mäuse mit der gleichen Diethanolamin-Dosis unter gleichen Bedingungen bis zu 13 Wochen lang behandelt worden. Es hat sich gezeigt, dass der Stoff in der Leber und den Nieren der Tiere zu einer Erhöhung der Zellproliferation und in den Nieren zusätzlich zu einer erhöhten Mitoserate führt, ein Befund, der die Annahme eines nicht gentoxischen Mechanismus der Tumorbildung unterstützt. Berücksichtigt werden muss aber auch die Tatsache, dass vom Körper aufgenommenes Diethanolamin im Magen in Gegenwart von Nitrat oder Nitrit zu N-Nitrosodiethanolamin umgesetzt wird, einem nachweislich Krebs erzeugenden Stoff. Dermal mit Diethanolamin behandelte Ratten, die gleichzeitig Natriumnitrit im Trinkwasser erhalten haben, scheiden N-Nitrosodiethanolamin mit dem Urin aus. Bei männlichen Mäusen, die 2 Wochen lang mit Diethanolamin täglich dermal oder oral behandelt worden sind und zusätzlich im Trinkwasser Natriumnitrit verabreicht bekommen haben, kann dagegen weder im Blut noch im Urin oder nach dermalen Behandlung im Mageninhalt N-Nitrosodiethanolamin nachgewiesen werden. Eine mögliche kanzerogene Wirkung des Diethanolamins kann eher mit der ebenfalls in dieser Studie beobachteten drastischen Senkung des Ge-

haltes an Cholin-haltigen Lipiden in der Leber in Zusammenhang stehen. Es ist seit langem bekannt, dass Diethanolamin nach der Verabreichung an Ratten und Mäuse unabhängig vom Applikationsweg in die Phospholipide der Leber als „falsches“ Ethanolamin eingebaut wird und damit die Phospholipidbiosynthese stört. Diethanolamin-haltige, unnatürliche Phospholipide reichern sich im Lebergewebe an. Zudem ist nachgewiesen worden, dass Diethanolamin die Phospholipidbiosynthese, insbesondere die Synthese der Cholin-haltigen Phospholipide, deutlich hemmt. In neuester Zeit ist in vitro gezeigt worden, dass Diethanolamin auch einen stark hemmenden Einfluss auf die Aufnahme von Cholin durch die Leberzellen hat und damit deren Gehalt an Cholin-haltigen Phospholipiden stark herabsetzt. Durch Zugabe von Cholin im Überschuss sind diese Effekte aufgehoben worden. Da auch die durch Diethanolamin an Embryonalzellen des syrischen Hamsters hervorgerufene Zelltransformation durch die Zugabe von Cholin im Überschuss aufgehoben wird, kann als ein möglicher Mechanismus der kanzerogenen Wirkung von Diethanolamin die Erniedrigung des Cholin-Gehaltes in der Zelle und die damit verbundene Einwirkung auf den Phospholipidstoffwechsel erwogen werden. Eine weitere Studie mit dem selben Mäusestamm und den gleichen Dosierungen, wie sie bei der dermalen Kanzerogenitätsstudie des NTP eingesetzt worden sind, erhärtet diese Vermutung. Werden die Mäuse ohne Diethanolamin-Behandlung mit einer Cholin-freien Diät gefüttert, die nachweislich zu hepatokarzinogenen oder tumorpromovierenden Wirkungen führt, so kommt es in den Lebern der Tiere zu den gleichen Störungen des Cholin-Stoffwechsels mit deutlicher Senkung des Phosphocholin-Gehaltes wie bei den mit Diethanolamin behandelten Mäusen, bei denen der Effekt dosisabhängig mit einem no observed effect level (NOEL) von 10 mg/kg Körpergewicht ist. Der Gehalt an S-Adenosylmethionin und S-Adenosylhomocystein in den Lebern der mit Cholin-freier Diät gefütterten oder der mit Diethanolamin behandelten Mäuse ist ebenfalls gleichsinnig und in vergleichbarer Höhe verändert, sodass im Zusammenhang mit dem gesenkten Phosphocholin-Gehalt eine gleichlaufende Störung des Methylgruppenstoffwechsels in den unterschiedlich behandelten Mäusen gefolgert werden kann. Es liegt daher nahe, für die an den mit Diethanolamin behandelten Mäusen beobachteten Lebertumoren einen nicht gentoxischen Wirkungsmechanismus über die Störung des Cholin- und Methylgruppenstoffwechsels anzunehmen. Nach der derzeitigen Befundlage mit einem klar positiven Ergebnis in der Langzeitstudie, allerdings nur an einer Spezies, dem Fehlen jeden Hinweises auf eine gento-

xische Wirkung des Diethanolamins, dem Fehleinbau des Stoffes in körpereigene Phospholipide und den vorliegenden Beweisen für einen nicht genotoxischen Mechanismus kann eine abschließende bewertende Aussage zur kanzerogenen Wirkung des Diethanolamins noch nicht getroffen werden.

Eine teratogene Wirkung des Diethanolamins hat sich in keiner der durchgeführten Untersuchungen gezeigt. An trächtigen Ratten, die vom 6. bis 15. Tag p.c. mit Dosen von 50 oder 200 mg Diethanolamin/kg Körpergewicht oral behandelt worden sind, sind keine teratogenen oder embryotoxischen Wirkungen des Stoffes nachgewiesen worden. In einer weiteren ausführlichen Studie an Ratten, in der die trächtigen Tiere vom 6. bis zum 19. Tag der Trächtigkeit mit Diethanolamin behandelt und einschließlich ihrer Nachkommen bis zum 21. Tag nach der Geburt beobachtet worden sind, hat sich eine erhöhte postnatale Toxizität ab einer Dosis von 125 mg/kg Körpergewicht gezeigt. Die gleiche Dosis hat auch zu maternaltoxischen Effekten (Erhöhung der Nierengewichte) geführt, sodass der no observed adverse effect level (NOAEL) für die reproduktionstoxische und die maternaltoxische Wirkung jeweils mit 50 mg/kg Körpergewicht angegeben wird. In einem Screening-Test nach Chernoff und Kavlock, in dem Mäuse mit 450 mg Diethanolamin/kg Körpergewicht oral behandelt worden sind, haben die zur Welt gebrachten Jungtiere 3 Tage nach der Geburt eine deutlich höhere Mortalität und eine erniedrigte Gewichtszunahme im Vergleich zur Kontrolle gezeigt, was als entwicklungsschädigende Wirkung von Diethanolamin gewertet werden kann. Die dermale Behandlung trächtiger weiblicher Ratten hat keine embryotoxische oder teratogene Wirkung verursacht; nur die höchste Dosis von 1500 mg/kg Körpergewicht nach täglicher Verabreichung vom 6. bis 15. Tag der Trächtigkeit hat zu einer leichten Verzögerung der fetalen Entwicklung geführt, die sich als Retardierung der Ossifikation der Schädeldecke, des axialen Skeletts und der distalen Glieder manifestiert hat bei deutlicher maternaler Toxizität. Als no observed effect level (NOEL) für die Embryotoxizität/Teratogenität haben die Autoren einen Wert von 500 mg/kg Körpergewicht abgeleitet, für die maternale Toxizität konnte kein NOEL abgeleitet werden. Gleichlaufende, am Kaninchen durchgeführte Untersuchungen zeigen keine embryotoxischen oder teratogenen Wirkungen von Diethanolamin bis zu der obersten geprüften Dosis von 350 mg/kg Körpergewicht. Der maternale NOEL in dieser Studie hat 100 mg/kg Körpergewicht betragen. Die inhalative Behandlung von trächtigen Ratten mit Diethanolamin vom 6. bis 15. Tag der Trächtigkeit gemäß

OECD-Richtlinie Nr. 414 hat bei der höchsten eingesetzten Konzentration von 200 mg/m³ zu einer signifikanten Zunahme der Anzahl an zervikalen Rippen geführt, was als embryotoxischer Effekt angesehen werden kann. Der NOAEL für die maternale und fetale Toxizität hat bei 50 mg/m³ und für die teratogene Wirkung bei 200 mg/m³ gelegen. Während Effekte auf die weiblichen Geschlechtsorgane in mehreren subchronischen Untersuchungen nicht beobachtet worden sind, ist es nach der Applikation von hohen Dosen bei männlichen Ratten zu deutlichen Hodenschäden gekommen. So hat die 14-tägige orale Behandlung mit 1016 mg Diethanolamin/kg Körpergewicht zur Degeneration der Hodenkanälchen mit Verkleinerung der Tubuli und Abnahme der Anzahl männlicher Keimzellen geführt. Werden männliche Ratten 13 Wochen lang mit Dosierungen von ≥ 97 mg Diethanolamin/kg Körpergewicht oral behandelt, so kommt es zu einer signifikanten und dosisabhängigen Verminderung des Hoden- und des Nebenhodengewichtes, zu einer Abnahme der Zahl an Keimzellen und an Nebenhodentubuli sowie zur Abnahme der Zahl und der Beweglichkeit der Spermien im Nebenhoden. Bei allen Tieren der höchsten Dosis von 436 mg/kg Körpergewicht und bei 3 Tieren der zweithöchsten Dosis von 202 mg/kg Körpergewicht ist eine Hodendegeneration beobachtet worden. Auch nach der 16-tägigen dermalen Verabreichung einer sehr hohen und für einige der behandelten männlichen Ratten schon tödlichen Dosis von 2000 mg/kg Körpergewicht sind die gleichen Effekte an den Hoden und Nebenhoden beobachtet worden. Die dermale Behandlung männlicher Ratten über 13 Wochen mit bis zu 500 mg/kg Körpergewicht hat nur zu einer Abnahme des Hodengewichtes ohne messbare Effekte an den Spermien oder histopathologische Befunde geführt. Parallel zu den Ratten ebenfalls 2 oder 13 Wochen lang oral und dermal mit Diethanolamin behandelte männliche Mäuse haben keinerlei Schäden an Hoden und Nebenhoden aufgewiesen. Bei Ratten hat auch die inhalative Behandlung mit 400 mg Diethanolamin/m³ über 13 Wochen bei einem Teil der Tiere zu Hodenatrophien oder leichten Atrophien der Prostata geführt. Da eine reproduktionstoxikologische Studie über mehrere Generationen nicht vorliegt, kann zurzeit zur Bedeutung der bei hohen Dosierungen von Diethanolamin bei Ratten auftretenden Hodenschäden keine Aussage gemacht werden.

Die Wirkung von Diethanolamin auf das Immunsystem ist an jungen weiblichen Mäusen untersucht worden. Die tägliche orale Verabreichung von 100, 300 oder 600 mg Diethanolamin/kg Körpergewicht für 14 Tage bewirkt

bei den Tieren eine dosisabhängige Erhöhung der Zahl der Ig⁺-Lymphozyten und eine Erniedrigung der Zahl der CD⁴⁺CD⁸⁻-Lymphozyten. Die Antikörper bildende Zellreaktion der Milz gegenüber Schafererythrozyten ist dosisabhängig in allen Dosisgruppen signifikant erniedrigt. Keinen Effekt erbringt die Diethanolamin-Behandlung auf die proliferative Wirkung der Mitogene Concanavalin A und Lipopolysaccharid auf B-Zellen der Milz oder auf die der allogenen Milzzellen von DBA/2-Mäusen auf T-Zellen normaler, mit Diethanolamin behandelte Mäuse. Die Aktivität der natürlichen Killerzellen in der Milz ist nur bei den Tieren der höchsten Dosisgruppe erniedrigt. Die Fähigkeit zur Bildung von Killerzellen nach Inkubation mit allogenen P815-Mastozytomzellen wird in allen Dosisgruppen gleichmäßig um 10 bis 14 % erniedrigt. In der höchsten Dosisgruppe kommt es zu einer Verringerung der Zytotoxizität der Makrophagen aus der Peritonealflüssigkeit gegenüber Melanomzellen. Die Resistenz von mit Diethanolamin behandelten Mäusen gegenüber *Listeria monocytogenes* ist nicht beeinträchtigt, während eine Erniedrigung der Resistenz gegenüber *Streptococcus pneumoniae* und in dem B16F10-Melanom-Modell beobachtet wird. Die Behandlung der Mäuse mit bis zu 600 mg Diethanolamin/kg Körpergewicht hat keinen signifikanten Effekt auf das Körpergewicht der Tiere, die auch bei der Sektion keine pathologischen Veränderungen zeigen. Alle Organgewichte entsprechen denen der Kontrolltiere, bis auf das Lebergewicht, das dosisabhängig und signifikant erhöht ist. Die klinisch-chemischen Befunde entsprechen bei den behandelten Tieren denen der Kontrollen. Dosisabhängig erniedrigt sind bei den behandelten Tieren die Anzahl der Erythrozyten und der Retikulozyten, der Hämoglobingehalt und der Hämatokritwert, während die Leukozyten unbeeinflusst bleiben. In einer vorgeschalteten Dosisfindungsstudie, in der Dosierungen bis zu 900 mg/kg Körpergewicht eingesetzt worden sind, führt die Diethanolamin-Behandlung ebenfalls zur Verringerung der Antikörper bildenden Zellreaktion der Milz gegenüber Schafererythrozyten und zur Verminderung der Bildung von zytotoxischen T-Lymphozyten in Milzzellen. Diethanolamin hat damit eine deutliche Wirkung auf das Immunsystem von Mäusen und könnte somit eine immuntoxische Wirkung besitzen. Ein no effect level (NOEL) konnte nicht angegeben werden.

Hinweise auf eine mögliche neurotoxische Wirkung liegen lediglich aus zwei Untersuchungen vor, bei denen Ratten zur Prüfung der subchronischen Toxizität 13 Wochen lang Diethanolamin im Trinkwasser oder in 95-prozentigem Ethanol gelöst auf die geschorene Rückenhaut verabreicht

worden ist. In beiden Fällen werden toxische Effekte auf das Gehirn und im Fall der oralen Applikation auch auf das Rückenmark beobachtet, die als Demyelinisierung beschrieben worden sind. Allerdings treten diese Effekte nur bei den jeweils beiden höchsten Dosierungen (≥ 124 bzw. ≥ 250 mg/kg Körpergewicht) auf und in keinem Fall kann eine korrelierende klinische Symptomatik beobachtet werden. In einer daraufhin durchgeführten Neurotoxizitätsstudie an Ratten, die inhalativ mit Diethanolamin 13 Wochen lang behandelt und sehr sorgfältig sowohl klinisch als auch histopathologisch entsprechend der Richtlinien auf neurotoxikologische Effekte untersucht worden sind, hat sich kein Anhaltspunkt für eine neurotoxische Wirkung von Diethanolamin gezeigt. Allerdings liegt auch eine Berichterstattung über insgesamt 39 Fälle bei Hunden und 12 Fälle bei Katzen vor, bei denen nach oraler Verabreichung einer 54-prozentigen wässrigen Lösung von Diethanolamin als Flohabwehrmittel über im Mittel 5 Monate ein neuroparalytisches Syndrom aufgetreten ist. Bei einem auch pathologisch und histopathologisch begutachteten Hund sind Veränderungen am Gehirn und am Halswirbel Rückenmark mit Spongiose der Corona radiata im Gehirn sowie des Rückenmarks beobachtet worden. Die tägliche Diethanolamin-Gabe hat 23 mg/kg Körpergewicht betragen.

Zu Erfahrungen mit Diethanolamin am Menschen liegen, abgesehen von Untersuchungen zur hautsensibilisierenden Wirkung, nur ganz vereinzelte und auch nur wenig aussagekräftige Berichte vor. So wird in vergleichenden Untersuchungen mit verschiedenen Patch-Testsystemen Diethanolamin als nur gering die menschliche Haut reizend gefunden. Hautsensibilisierende Wirkungen sind in verschiedenen Studien und als Einzelfallberichte beschrieben worden. Zum einen ist im Patch-Test an 32 gegen Ethylendiamin sensitiven Patienten bei einem dieser Patienten eine positive Reaktion auch gegen Diethanolamin gefunden worden. Zum anderen wird von einem Fall berichtet, bei dem ein mit Schneidölen umgehender Metallarbeiter eine Kontaktallergie der Hände und Unterarme entwickelt hat. Dieser Mann zeigt neben einer Anzahl von anderen Inhaltsstoffen auch eine positive Reaktion gegen Diethanolamin. Auch in einem weiteren Fall wird von einem Arbeiter berichtet, der beim Metallschleifen mit einem Diethanolamin-haltigen Kühlschmiermittel häufigen Kontakt gehabt und eine Allergie gegen diesen Stoff entwickelt hat. Von 17 Metallarbeitern mit einem kontaktallergischen Hautekzem haben 2 eine eindeutig positive Reaktion gegen Diethanolamin im Patch-Test gezeigt. Bei 3 Metallarbeitern mit einer

Kontaktallergie gegen Alkanolaminborate als Inhaltstoffe von Schneidölen verläuft der Patch-Test mit Diethanolamin allerdings negativ und in einem Kollektiv von ca. 200 Ekzempatienten ohne Fokussierung auf Metall verarbeitende Berufe zeigt Diethanolamin in keinem Fall eine kontaktallergische Wirkung. In umfassenden Erhebungen der letzten 10 Jahre, die vom Informationsverbund Dermatologischer Kliniken (IVDK) durchgeführt worden sind und alle in den angeschlossenen Kliniken auf Kontaktallergie gegen Diethanolamin getesteten Patienten erfasst haben (> 4000), zeigen 1,7 % eine positive Reaktion. Betrachtet man in diesem Kollektiv nur diejenigen Patienten, die einen Beruf mit Metall verarbeitender Tätigkeit haben (> 2000), so steigt die Häufigkeit der positiven Reaktionen gegen Diethanolamin auf 2,9 % an und engt man noch weiter auf diejenigen Patienten ein, die im Metallberuf eine spanende Tätigkeit ausüben (353), so ergibt sich eine Häufigkeit von positiven Reaktionen gegen Diethanolamin im Patch-Test von > 10 %. Aus diesen Zahlen ist ein eindeutiger Trend zu erkennen, der bei steigender Möglichkeit zur Exposition gegenüber Diethanolamin auch eine steigende Häufigkeit an Allergien gegen diesen Stoff zeigt. Danach hat Diethanolamin bei entsprechender Exposition beim Menschen durchaus ein relevantes kontaktallergenes Potenzial. Es wird auch noch von einem Fall von berufsbedingtem Asthma berichtet, dessen Auslösung auf den Umgang mit Diethanolamin-haltigen Schneidölen zurückgeführt wird. Die asthmatischen Erscheinungen konnten in einem Kammer-Provokationstest mit sehr geringen Konzentrationen von Diethanolamin hervorgerufen werden. Der Geruchsschwellenwert für Diethanolamin in der Luft wird mit 0,27 ppm, gelöst in Wasser mit 22000 ppm angegeben.

Für die Frage der kanzerogenen Wirkung von Diethanolamin beim Menschen ist es von Bedeutung, dass die N-Nitroso-Verbindung dieses Stoffes, das N-Nitrosodiethanolamin, in Untersuchungen an Ratten nachweislich Krebs erzeugende Eigenschaften gehabt hat, wie mehrfach belegt worden ist. Berücksichtigt werden muss die Tatsache, dass vom Körper aufgenommenes Diethanolamin im Magen in Gegenwart von Nitrat oder Nitrit zu N-Nitrosodiethanolamin umgesetzt wird. Die in Kühlschmiermitteln enthaltenen Gemische von Natriumnitrit und Triethanolamin sollen durch das zum Teil daraus entstehende N-Nitrosodiethanolamin in einem Fall ein Kolonkarzinom bei einem exponierten Menschen, in dessen Urin N-Nitrosodiethanolamin nachgewiesen worden ist, ausgelöst haben. Die TRGS 615 „Verwendungsbeschränkungen für Korrosionsschutzmittel, bei deren Ein-

satz N-Nitrosamine auftreten können“ regelt u. a. den Einsatz von Diethanolamin in Korrosionsschutzmitteln, um die Bildung von N-Nitrosodiethanolamin zu verhindern.

Die Senatskommission zur Prüfung gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe der Deutschen Forschungsgemeinschaft (MAK-Kommission) hat Diethanolamin in der MAK- und BAT-Werte-Liste 2003 in die Kategorie 3A der Krebs erzeugenden Arbeitsstoffe „Stoffe, die wegen erwiesener oder möglicher krebserzeugender Wirkung Anlass zur Besorgnis geben, aber aufgrund unzureichender Informationen nicht endgültig beurteilt werden können. Die Einstufung ist vorläufig. Stoffe, bei denen die Voraussetzungen erfüllt wären, sind der Kategorie 4 oder 5 zuzuordnen. Für die Stoffe liegen jedoch keine hinreichenden Informationen vor, um einen MAK- oder BAT-Wert abzuleiten.“ eingestuft. Sie hat den Stoff wegen seiner sensibilisierenden Wirkung an der Haut mit „Sh“ gekennzeichnet und wegen der Gefahr der Hautresorption mit „H“ markiert.

2 Stoffname

2.1	Gebrauchsname	Diethanolamin
2.2	IUPAC-Name	2,2'-Iminobisethanol
2.3	CAS-Nr.	111-42-2
2.4	EINECS-Nr.	203-868-0

3 Synonyme, Trivial- und Handelsnamen

2,2'-Aminodiethanol
Bis(hydroxyethyl)amin
Bis(2-hydroxyethyl)amine
Bis-(2-hydroxyethyl)amin
N,N-Bis(2-hydroxyethyl)amin
DEA
DELA
N,N-Diethanolamin
Diethylolamine
 β,β' -Dihydroxydiethylamin
2,2'-Dihydroxydiethylamine
 β,β' -Di(hydroxyethyl)amin

Di(2-hydroxyethyl)amin
 Di(2-hydroxyethyl)amine
 Diolamin
 Diolamine
 Ethanol, 2,2'-iminobis-
 Ethanol, 2,2'-iminodi-
 2-[(Hydroxyethyl)amino]ethanol
 2-[(2-Hydroxyethyl)amino]ethanol
 2,2'-Iminobis(ethanol)
 Iminodiethanol
 2,2'-Iminodiethanol
 2,2'-Iminodi-1-ethanol

4 Struktur- und Summenformel

4.1	Strukturformel	$ \begin{array}{c} \text{HO}-\text{CH}_2-\text{CH}_2 \\ \quad \quad \quad \diagdown \\ \quad \quad \quad \quad \text{NH} \\ \quad \quad \quad \diagup \\ \text{HO}-\text{CH}_2-\text{CH}_2 \end{array} $
4.2	Summenformel	$\text{C}_4\text{H}_{11}\text{NO}_2$

5 Physikalisch-chemische Eigenschaften

5.1	Molekularmasse, g/mol	105,14	
5.2	Schmelzpunkt, °C	27,8 (Erstarrungspunkt)	(Condea, 1998)
		28	(INRS, 1991; Edens und Lochary, 1991; Lide und Frederikse, 1997; BASF, 2000; O'Neil et al., 2001)
5.3	Siedepunkt, °C	268	(Edens und Lochary, 1991; BASF, 2000)
		268,8	(Lide und Frederikse, 1997; O'Neil et al., 2001)
		269 (Zersetzung)	(INRS, 1991)
		270,3 (Zersetzung)	(Condea, 1998)
5.4	Dampfdruck, hPa	< 0,01 (bei 20 °C)	(INRS, 1991)
		0,0037 (bei 25 °C)	(BASF, 2000)
		5 (bei 126,7 °C)	(Condea, 1998)
		6,5 (bei 138 °C)	(INRS, 1991)

5.5	Dichte, g/cm ³	1,1004 (bei 15 °C) (BASF, 2000) 1,0966 (bei 20 °C) (Lide und Frederikse, 1997) 1,0881 (bei 30 °C) (O'Neil et al., 2001) 1,0919 (bei 30 °C) (INRS, 1991) 1,0838 (bei 40 °C) (Condea, 1998)
5.6	Löslichkeit in Wasser	mischbar (INRS, 1991; O'Neil et al., 2001) vollkommen löslich (bei 20 und 25 °C) (Edens und Lochary, 1991; BASF, 2000) sehr gut löslich (Lide und Frederikse, 1997)
5.7	Löslichkeit in organischen Lösemitteln	mischbar mit Aceton und Ethanol, wenig löslich in Kohlenwasserstoffen und Diethylether (INRS, 1991) 0,01 g/100 g n-Heptan (bei 25 °C) (Edens und Lochary, 1991) sehr gut löslich in Ethanol, wenig in Diethylether und Benzol (Lide und Frederikse, 1997) mischbar mit Methanol, Aceton, bei 25 °C 4,2 % in Benzol, 0,8 % in Diethylether, < 0,1 % in Tetrachlorkohlenstoff, < 0,1 % in n-Heptan löslich (O'Neil et al., 2001)
5.8	Löslichkeit in Fett	keine Information vorhanden
5.9	pH-Wert	11,28 (bei 53 g/l, 20 °C) (BASF, 2000)
5.10	Umrechnungsfaktor	1 ml/m ³ (ppm) \triangleq 4,370 mg/m ³ 1 mg/m ³ \triangleq 0,229 ml/m ³ (ppm) (bei 1013 hPa und 25 °C)

6 Herstellung, Produktionsmenge und Verwendung

6.1 Herstellung

Die Ethanolamine werden durch Reaktion von Ethylenoxid mit Ammoniak unter Druck bei hoher Temperatur im Reaktor hergestellt. Das gebildete Gemisch aus Mono-, Di- und Triethanolamin wird in Kolonnen durch Destillation getrennt (Edens und Lochary, 1991).

6.2 Hergestellte oder eingeführte Menge

Im Jahr 1990 wurden ca. 20500 t Diethanolamin in der Bundesrepublik Deutschland hergestellt, 11330 t exportiert und 10540 t importiert. Somit wurden 1990 in der Bundesrepublik Deutschland ca. 19700 t Diethanolamin verbraucht (BUA, 1994).

6.3 Verwendung

Diethanolamin und die daraus gebildeten Amide werden in einer großen Zahl von Anwendungen im Haushalt und in der Industrie eingesetzt. Für das Jahr 1990 wurde die folgende Verteilung auf die einzelnen Anwendungsbereiche geschätzt (BUA, 1994):

Waschrohstoffe	50 %
Gaswäsche	15 %
Bohr- und Schneidöle (Kühlschmiermittel)	15 %
Kosmetik/Pharma	< 10 %
Zementhilfsmittel	1 %
Agrochemikalien	1 %
Sonstige	10 %

Zusammenfassend wird über folgende wesentliche Verwendungsbereiche gesprochen: Gaswäsche, Ausgangsmaterial für die Herstellung oberflächenaktiver Stoffe, für Seifen, Emulgatoren, Schmieröle und Kosmetika, Zwischenprodukt für die Synthese von Pharmazeutika und Pflanzenschutzmitteln, von Kunststoffen, Antikorrosionsmitteln und Vulkanisationsbeschleunigern und schließlich als Lösemittel für Pflanzenschutzmittelzubereitungen (INRS, 1991).

Eine detaillierte Zusammenstellung der Verwendungen von Diethanolamin findet sich auch bei Edens und Lochary (1991).

7 Experimentelle Befunde

7.1 Toxikokinetik und Metabolismus

Die Verteilung im Körper und die Ausscheidung von Diethanolamin nach oraler Verabreichung wurden an männlichen Ratten (F344-M, ca. 160 bis

190 g schwer) gemessen. 4 Tieren wurden einmalig 7,9 mg Diethanolamin/kg Körpergewicht, dem ^{14}C -Diethanolamin (7,3 mCi/mmol, 95 bis 96 % radiochemisch rein) in einer Menge von ca. 3 μCi zugesetzt war, in Wasser gelöst mit der Schlundsonde verabreicht. Urin und Fäzes wurden über zwei 24-Stunden-Intervalle gesammelt und die radioaktiven Bestandteile in der Atemluft aufgefangen. Am Versuchsende nach 2 Tagen wurden die Tiere getötet und Blut, Fettgewebe, Muskel, Haut, Niere, Leber, Milz, Herz, Lunge und Gehirn gewonnen. In allen Proben wurde die Radioaktivität gemessen. Von dem verabreichten Diethanolamin wurden, gemessen als Radioaktivität, innerhalb von 48 Stunden 22 % im Urin und 2 % über die Fäzes ausgeschieden. Dagegen fanden sich in den Geweben mit Schwerpunkten in der Leber und der Niere erhebliche Mengen der eingesetzten Radioaktivität (insgesamt 57 %). In der Atemluft konnten nur 0,2 % der eingesetzten Radioaktivität als CO_2 und 0,01 % als flüchtige andere Stoffe festgestellt werden. Die Analyse der im Urin ausgeschiedenen radioaktiven Stoffe mit Hochdruckflüssigkeitschromatographie (HPLC) zeigte, dass ganz überwiegend unverändertes Diethanolamin neben kleineren Mengen nicht näher identifizierter Metaboliten vorlag. Es wurde damit gezeigt, dass Diethanolamin nach oraler Gabe vom Körper gut aufgenommen, in verschiedenen Organen gespeichert und langsam, hauptsächlich über den Urin wieder ausgeschieden wurde. Eine Metabolisierung fand nur in geringem Umfang statt. Wurden die Tiere in der gleichen Versuchsanordnung mit 200 statt mit 7,9 mg Diethanolamin/kg Körpergewicht behandelt, so ergaben sich sehr ähnliche Werte. Der Stoff wurde vom Körper schnell und vollständig aufgenommen. Die gesamte Ausscheidung im Urin innerhalb von 48 Stunden betrug nur 20 bis 30 % der eingesetzten Radioaktivität. Weniger als 3 % wurden mit den Fäzes ausgeschieden. Die Verteilung des gespeicherten Diethanolamins in den Körperorganen war bei beiden Dosierungen vergleichbar. Somit bestand bei Aufnahme, Verteilung und Ausscheidungsgeschwindigkeit von Diethanolamin keine Dosisabhängigkeit (RTI, 1991; Mathews et al., 1997).

Um herauszufinden, in welcher Form Diethanolamin in den Geweben gespeichert wird, untersuchte man die radioaktiv markierten Verbindungen in Blut, Leber und Gehirn der wie oben beschrieben behandelten Ratten. 1 g des in kleine Stücke geschnittenen Gewebes bzw. 1 ml Vollblut wurden mit 10 ml einer phosphatgepufferten Kochsalzlösung (pH 7,1) homogenisiert, mit 20 ml Chloroform/Methanol 2 : 1 versetzt und nach ausreichendem

Durchmischen zentrifugiert. Damit wurden die vorhandenen radioaktiven Stoffe zu 87 bis 89 % in die wässrige Phase und zu 6 bis 9 % in die Chloroform-Phase extrahiert. Die Analyse der wässrigen Phase mit HPLC zeigte, dass 70 bis 80 % der in Leber und Gehirn angereicherten Radioaktivität unverändertes Diethanolamin waren. Daneben wurden in der Leber geringe Mengen an N-Methyldiethanolamin und N,N-Dimethyldiethanolamin nachgewiesen und eine Fraktion, die Phosphate des Diethanolamins und seines Methyl- und Dimethyl-Derivates enthielt (95, 2 und 2 %), wie durch Inkubation dieser Fraktion mit alkalischer Phosphatase und anschließender HPLC-Analyse gezeigt werden konnte. Im Gehirngewebe wurden weder die Methyl- noch die Dimethyl-Verbindung, sondern nur unverändertes Diethanolamin und Diethanolaminphosphat gefunden. Die Chloroform-Phase aus dem Lebergewebe konnte in zwei Fraktionen aufgetrennt werden, die sich als Phosphatidylethanolamine und als Phosphatidylcholine erwiesen und jeweils 50 % des aus dieser Phase extrahierbaren, gebundenen Diethanolamins enthielten. Nach Inkubation mit Phospholipase D wurden in der Phosphatidylethanolamin-Fraktion unverändertes Diethanolamin und in der Phosphatidylcholin-Fraktion N-Methyldiethanolamin (15 %) und N,N-Dimethyldiethanolamin (85 %) nachgewiesen. Im Gehirn wurden 97 % der angereicherten Radioaktivität im Chloroform-Extrakt als unverändertes Diethanolamin in der Phosphatidylethanolamin-Fraktion bestimmt. Durch vorherige Inkubation des Chloroform-Extraktes mit Sphingomyelinase, die spezifisch die Phosphorsäure-Ceramid-Bindung spaltet, konnte gezeigt werden, dass in diesem Extrakt aus Lebergewebe etwa 30 % der Radioaktivität an Ceramide gebunden waren und 70 % an Phosphoglyceride. Etwa ein Drittel der an Ceramide gebundenen Radioaktivität repräsentierte N-Methyl-Derivate des Diethanolamins und etwa 60 % der an Phosphoglyceride gebundenen Radioaktivität. 15 % der aus dem Gehirngewebe isolierten radioaktiven Phospholipide waren Ceramid-Derivate und 85 % Phosphoglyceride. N-Methyl-Derivate des Diethanolamins wurden im Gehirn nur in geringem Umfang gefunden. Im Blut lagen auch etwa 20 % der Radioaktivität als Phospholipide vor, von denen 80 % N-methyliertes Diethanolamin enthielten. Eine Bindung des Diethanolamins oder seiner Metaboliten an Proteine konnte weitgehend ausgeschlossen werden. Nach Ultrazentrifugation des Leberhomogenats lagen nur 6 bis 7 % der vorhandenen Radioaktivität proteingebunden vor. Mit den vorliegenden Untersuchungen wurde nachgewiesen, dass weitaus der größte Teil des im Gewebe gespeicherten Diethanolamins in Form der unveränderten Verbindung

vorlag, dass aber ein Teil des Diethanolamins am Stickstoffatom methyliert und/oder am Sauerstoffatom phosphoryliert wurde und dass diese Metaboliten in Phospholipiden anstelle von Cholin eingebaut werden konnten. Die Autoren gingen davon aus, dass Diethanolamin und seine N-Methyl-Verbindungen wie Cholin in die Zelle transportiert wurden, dort akkumulierten und teilweise in Phospholipide eingebaut wurden. Letztere wurden dann in die Zellmembranen eingebaut. Nach Meinung der Autoren können diese Reaktionen für die längerfristigen Wirkungen des Diethanolamins im Körper verantwortlich gemacht werden (Mathews et al., 1995, 1997).

Mit der gleichen Versuchsanordnung wurde weiteren 4 männlichen Ratten (F344-M, ca. 160 bis 190 g schwer) über 5 Tage Diethanolamin mit der Schlundsonde verabreicht. Die tägliche Dosis betrug 7,8 mg/kg Körpergewicht und radioaktives Diethanolamin war in einer Menge von ca. 3 µCi/Applikation zugesetzt worden. Urin, Fäzes, Blut und Organe wurden wie oben beschrieben gewonnen und untersucht. Urin und Fäzes wurden zusätzlich über alle 24-Stunden-Intervalle gesammelt und auf Radioaktivität geprüft. An keinem Tag erreichte die Ausscheidung von Diethanolamin in Urin und Fäzes die verabreichte Menge, sodass von einer fortschreitenden Akkumulation auszugehen war. Von der insgesamt aufgenommenen Menge wurden nur etwa 40 % ausgeschieden. Die nach 5 Tagen in den Geweben nachweisbare Radioaktivität war 3- bis 5-mal höher als nach einer einmaligen Gabe, wobei die Verteilung auf die einzelnen Gewebe sich nicht deutlich veränderte. Auch die Analyse der im Urin und im Leberextrakt vorliegenden radioaktiven Stoffe ergab keine qualitativen Unterschiede zwischen der einmaligen und der 5-mal wiederholten Applikation. Wurde weiteren Ratten bei gleicher Radioaktivitätsmenge/Applikation statt 7,8 mg Diethanolamin/kg Körpergewicht eine tägliche Dosis von 0,7 bzw. 200 mg/kg Körpergewicht oral verabreicht, so war die Ausscheidung bei 0,7 und 7,8 mg/kg Körpergewicht proportional zu der applizierten Dosis. Bei 200 mg/kg Körpergewicht trat eine Sättigung auf. Es wurde proportional mehr ausgeschieden, aber auch eine sehr hohe Diethanolamin-Konzentration in der Leber und den Nieren der Tiere gefunden, die 2 mg/g Gewebe erreichte (RTI, 1991; Mathews et al., 1997).

Um den Akkumulationseffekt des Diethanolamins im Körper noch näher zu untersuchen, wurden in einer weiteren Studie nochmals Gruppen von je 4 bis 6 männlichen Ratten (F344-M, ca. 160 bis 190 g schwer) über 2, 4 oder 8 Wochen täglich 5-mal pro Woche mit Diethanolamin oral behandelt. Die

Ausführung der Untersuchungen entsprach den bereits vorstehend beschriebenen. Die tägliche Dosis betrug 7 bis 8 mg/kg Körpergewicht und die Menge an Radioaktivität/Dosis etwa 1 bis 2 μCi . Am Ende der jeweiligen Behandlungsperiode wurden die Tiere getötet und Blut und Organe wie bereits beschrieben gewonnen und analysiert. In der jeweils letzten Woche der Behandlungsperiode wurden Urin und Fäzes über alle 24-Stunden-Intervalle gesammelt und auf Radioaktivität untersucht. Es zeigte sich, dass Diethanolamin mit steigender Verabreichungsdauer in immer höherem Prozentsatz auch wieder ausgeschieden wurde, dass also die Akkumulation nach Erreichung eines Sättigungsgrades nicht mehr zunahm. So wurden nach 2 Wochen 68,9 % der verabreichten Radioaktivität wieder ausgeschieden, nach 4 Wochen 79,1 % und nach 8 Wochen 92,1 %, jeweils gemessen in der letzten Woche. Die Analyse der Radioaktivität in den Organen zeigte ein stetiges Ansteigen bis zum Ende der 4. Woche und eine Plateaubildung zwischen der 4. und 8. Woche. Es konnte daraus geschlossen werden, dass zwischen der 4. und 8. Woche eine Sättigung des Gewebes erreicht wurde. Weiteres aufgenommenes Diethanolamin wurde ausgeschieden. Die Ausscheidung im Urin erfolgte wie nach einmaliger Applikation auch hier im Wesentlichen als unverändertes Diethanolamin. Daneben wurden jedoch nach 8 Wochen Belastung auch deutliche Mengen an N-Methyldiethanolamin und einem Metaboliten nachgewiesen, der als das N,N-Dimethyl-2-oxomorpholinium-Ion identifiziert werden konnte. In einer Gruppe von Ratten, die nach 4 Wochen Verabreichung von Diethanolamin nicht getötet, sondern über weitere 4 Wochen ohne Behandlung gehalten und deren Urin und Fäzes an ausgewählten Tagen gesammelt wurden, zeigte sich eine Halbwertszeit der Ausscheidung von etwa einer Woche. Auch die am Ende der Untersuchung nach 8 Wochen bestimmte Radioaktivität in den Geweben bestätigte diesen Wert und zeigte, dass > 90 % des Diethanolamins innerhalb von 4 Wochen wieder ausgeschieden worden waren (RTI, 1991; Mathews et al., 1997).

Wie nach einmaliger oraler Gabe von Diethanolamin an Ratten wurde auch an den Geweben der Ratten, die 8 Wochen lang wie oben beschrieben mit radioaktiv markiertem Diethanolamin behandelt worden waren, untersucht, in welcher Form der Stoff in den Geweben gespeichert worden war. Die Methoden waren die gleichen, die auch bei den Geweben der einmal behandelten Tiere angewendet wurden. 97 % der in der Leber vorhandenen Radioaktivität und 77 % der im Gehirn vorhandenen Radioaktivität wurden

im wässrigen Extrakt gefunden und repräsentierten fast ausschließlich unverändertes Diethanolamin; N-Methyl-Derivate des Diethanolamins waren nicht nachweisbar. Mit Chloroform/Methanol 2 : 1 konnten aus dem Lebergewebe 2 % und aus dem Gehirngewebe 21 % der vorhandenen Radioaktivität gewonnen werden. Im Blut wurden, wie nach der einmaligen Applikation, etwa 20 % der Radioaktivität als an Phospholipide gebunden festgestellt. Diethanolamin lag vollständig als N-Methyl-Derivat vor. In dem Leberextrakt lag die Radioaktivität als Bestandteil der Phosphatidylcholin-Verbindungen vor und repräsentierte N,N-Dimethyldiethanolamin, während im Extrakt aus Gehirn nur die Phosphatidylethanolamin-Verbindungen gefunden wurden, die als Träger der Radioaktivität zu 97 % unverändertes Diethanolamin aufwiesen. Von den Phosphatidylcholin-Verbindungen aus dem Leberextrakt wurde nach Inkubation mit Sphingomyelinase nachgewiesen, dass das vorhandene N,N-Dimethyldiethanolamin fast vollständig an Ceramide gebunden war. Im Gehirn war Diethanolamin zu 65 % an Ceramide und zu 35 % an Phosphoglyceride gebunden. Gegenüber den Werten nach einmaliger Behandlung hatte sich damit das Bild nach 8 Wochen Behandlungsdauer nicht wesentlich verändert. Der weitaus größte Teil des im Gewebe gespeicherten Diethanolamins konnte unverändert mit Wasser extrahiert werden, im Gehirn allerdings deutlich weniger als nach einmaliger Gabe. Entsprechend konnten aus dem Gehirn 21 % der vorhandenen Radioaktivität mit Chloroform/Methanol gewonnen werden. Die Verteilung der N-Methyl-Derivate des Diethanolamins war eindeutiger geworden. Sie fanden sich nur noch im Lebergewebe und im Blut. Im Gehirn waren sie gar nicht mehr nachzuweisen. Nicht metabolisiertes Diethanolamin war im Lebergewebe als Baustein der Phospholipide nicht mehr nachzuweisen (Mathews et al., 1995, 1997).

Eine weitere Untersuchung zur Resorption, Verteilung im Körper und Ausscheidung von Diethanolamin wurde an männlichen Ratten (F344-M, ca. 170 bis 190 g schwer) mit dermalen Verabreichung durchgeführt. Gruppen von je 4 bis 5 Tieren wurden Dosierungen von 2,1, 7,6 oder 27,5 mg Diethanolamin/kg Körpergewicht auf die 24 Stunden vorher geschorene und entfettete Rückenhaut (2 cm²) appliziert, dort mit einer speziellen „Mikrogewebekapsel“ aus Metall mit Cyanoacrylat-Kleber überklebt und für 48 Stunden dort belassen. ¹⁴C-Diethanolamin (7,3 mCi/mmol, 95 bis 96 % radiochemisch rein) wurde in einer Menge von ca. 6 bis 20 µCi/Dosierung eingesetzt. Das Applikationsvolumen betrug 25 µl einer Lösung von markier-

tem und nicht markiertem Diethanolamin in Ethanol. Urin und Fäzes wurden über zwei 24-Stunden-Intervalle gesammelt und die radioaktiven Bestandteile der Atemluft aufgefangen. Am Versuchsende wurden die Tiere getötet, das nicht dermal resorbierte Diethanolamin wurde von der Haut sorgfältig zurückgewonnen und dieses sowie Blut, Fettgewebe, Muskel, Haut, Niere, Leber, Milz, Herz, Lunge und Gehirn wurden auf Radioaktivität analysiert. In der beschriebenen Versuchsanordnung wurde Diethanolamin nur mäßig, aber dosisabhängig resorbiert (maximal 16,2 % bei der höchsten Dosis). Ein wesentlicher Teil davon (ca. 40 %) verblieb dabei im Gewebe am Applikationsort. Ein weiterer wesentlicher Teil (ca. 30 %) wurde in verschiedenen Organen des Körpers gespeichert. Nur maximal 26 % der aufgenommenen Radioaktivität wurden mit dem Urin ausgeschieden und 1,9 % mit den Fäzes. In der Atemluft wurden weniger als 0,1 % der aufgenommenen Radioaktivität wiedergefunden. Die Verteilung des resorbierten Diethanolamins im Körper entsprach dem nach oraler Verabreichung gefundenen Muster. Ganz überwiegend waren Leber und Niere betroffen, daneben Lunge und Herz. Weitere analytische Untersuchungen wurden nicht durchgeführt (RTI, 1991; Mathews et al., 1997).

In einer ebenfalls mit dermalen Applikation durchgeführten Untersuchung zur Resorption und Verteilung von Diethanolamin wurden 10 weiblichen Ratten (Sprague-Dawley, 230 bis 300 g schwer) einmalig auf 19,5 cm² der geschorenen Rückenhaut 1500 mg Diethanolamin/kg Körpergewicht, versetzt mit ¹⁴C-Diethanolamin (21 µCi/Ratte, 15 mCi/mmol, 98 % radiochemisch rein), aufgetragen, mit nicht absorbierender Gaze und Saran-Folie abgedeckt und 6 Stunden auf der Haut belassen. Danach wurde der Verband entfernt und bei der Hälfte der Tiere die Haut gewaschen. 48 Stunden nach der Applikation, während derer Urin und Fäzes gesammelt wurden, tötete man die Tiere und bestimmte die Verteilung der Radioaktivität in den Organen. Blut wurde in festgelegten Intervallen mit einem Jugulariskatheter entnommen und ebenfalls auf Radioaktivität untersucht. Die Resorption war gering und betrug bei den Tieren mit ungewaschener Haut 1,4 % der eingesetzten Radioaktivität und bei den Tieren, denen das Diethanolamin nach 6 Stunden von der Haut abgewaschen worden war, 0,64 %. Daraus errechnete sich eine Resorptionsrate von 45 bzw. 21 g/cm²/Stunde. Sehr wenig der eingesetzten Radioaktivität wurde mit dem Urin (0,11 %) und den Fäzes ausgeschieden. Im Blut waren messbare, aber nicht quantifizierbare Mengen an Diethanolamin über die Radioaktivität nachzuweisen.

Das resorbierte Diethanolamin wurde hauptsächlich in Leber und Niere und im ausgeweideten Gesamtkörper wiedergefunden (Dow, 1995).

Der Einfluss der mehrfachen Applikation von Diethanolamin auf die Resorptionsrate des Stoffes durch die Haut wurde ebenfalls an weiblichen Ratten (Sprague-Dawley, 230 bis 300 g schwer) untersucht. Es wurden die gleichen Methoden wie oben beschrieben angewendet. Je 4 Tieren wurden an 2 oder 5 Tagen täglich 1500 mg Diethanolamin/kg Körpergewicht auf 25 cm² der geschorenen Rückenhaut appliziert, mit nicht resorbierender Gaze und Saran-Film abgedeckt und für 6 Stunden am Applikationsort belassen. Danach wurde die Gaze jeweils entfernt und die Haut gewaschen. Einen Tag nach dieser Behandlung mit nicht radioaktiv markiertem Diethanolamin wurde den Tieren einmalig die gleiche Dosis, der ¹⁴C-Diethanolamin (21 µCi/Ratte, 15 mCi/mmol, 98 % radiochemisch rein) zugesetzt worden war, appliziert, die 48 Stunden am Applikationsort belassen wurde. Die Tiere mit der 3-maligen Behandlung nahmen insgesamt 21 %, die mit der 6-maligen Behandlung 42 % der eingesetzten Radioaktivität auf. 4,3 % der aufgenommenen Radioaktivität wurden von den Tieren nach 3-maliger Behandlung mit dem Urin ausgeschieden, 13 % nach 6-maliger Behandlung. Die Ausscheidung mit den Fäzes betrug 0,06 bzw. 0,3 % nach 3- bzw. 6-maliger Behandlung. Der wesentliche Anteil der aufgenommenen Radioaktivität wurde im ausgeweideten Gesamtkörper, der Leber und den Nieren wiedergefunden. Nur weniger als 0,3 % waren im Gehirn, Fettgewebe oder Herz nachweisbar. Insgesamt waren 16 % (2 Tage Vorbehandlung) und 28 % (5 Tage Vorbehandlung) der eingesetzten Radioaktivität im Gewebe nachweisbar. Auch im Blut konnte Diethanolamin in einer Konzentration von ca. 10 µg/g während der Applikationstage nachgewiesen werden. Durch die Vorbehandlung war die Resorption des Diethanolamins durch die Haut sehr deutlich angestiegen (Dow, 1995).

Auch an Mäusen (Stamm B6C3F1, 23 bis 25 g schwer) wurden die Aufnahme, Verteilung im Körper und Ausscheidung von Diethanolamin nach dermalen Verabreichung untersucht. 4 männlichen Tieren wurden auf 1 cm² der geschorenen und entfetteten Rückenhaut einmalig 8, 23 oder 81 mg Diethanolamin/kg Körpergewicht in einem Applikationsvolumen von 15 µl/Tier verabreicht, die ¹⁴C-markiertes Diethanolamin (6 bis 20 µCi, 7,3 mCi/mmol, 95 bis 96 % radiochemisch rein) enthielten. Die behandelte Hautstelle wurde mit einer speziellen „Mikrogewebekapsel“ mit Cyanoacrylat-Kleber überklebt, die über 48 Stunden dort belassen wurde. Urin und

Fäzes der Tiere wurden über zwei 24-Stunden-Intervalle gesammelt und die radioaktiven Bestandteile in der Atemluft aufgefangen. Am Versuchsende wurden die Tiere getötet, das nicht dermal resorbierte Diethanolamin wurde von der Haut sorgfältig zurückgewonnen und dieses sowie Blut, Fettgewebe, Muskel, Haut, Niere, Leber, Milz, Herz, Lunge und Gehirn wurden auf Radioaktivität analysiert. Von der mit Diethanolamin aufgetragenen Radioaktivität wurden innerhalb von 48 Stunden 27 % bei 8 mg/kg Körpergewicht, 34 % bei 23 mg/kg Körpergewicht und 58 % bei 81 mg/kg Körpergewicht resorbiert. Bei der höchsten Dosis wurden 19 % der resorbierten Radioaktivität mit dem Urin und den Fäzes wieder ausgeschieden (16,4 bzw. 2,6 %), während 39,2 % im Körper verblieben, 2,2 % davon an der Applikationsstelle. 24,8 % der eingesetzten Radioaktivität wurden als nicht resorbiert zurückgewonnen. Somit betrug die Wiederfindungsrate in diesem Versuch insgesamt 82,9 %. Die Bestimmung der Radioaktivität im Gewebe ergab eine starke Anhäufung in der Leber (16,7 % der eingesetzten Radioaktivität), im Muskel (9,5 %) und in den Nieren (4,2 %). Alle anderen Werte lagen unter 3 %. In der Atemluft wurden unter 1 % gefunden (RTI, 1991; Mathews et al., 1997).

In einer weiterführenden eingehenden Untersuchung wurde Gruppen von 11 Wochen alten weiblichen Sprague-Dawley-Ratten (247 bis 271 g schwer), denen auch ein Jugulariskatheter gelegt worden war, ¹⁴C-markiertes Diethanolamin (97,4 % rein, spezifische Aktivität 15 mCi/mmol) durch den Katheter intravenös appliziert. Je 5 Tiere erhielten eine einmalige Dosis von 10 bzw. 100 mg Diethanolamin (99,3 % rein)/kg Körpergewicht verabreicht, der markiertes Diethanolamin (4,2 µCi/Tier) zugesetzt worden war. Anschließend wurden Urin und Fäzes in 12-Stunden-Intervallen über insgesamt 96 Stunden gesammelt und Blut über den Jugulariskatheter 5, 10, 15 und 30 Minuten sowie 1, 2, 4, 6, 12, 24, 36, 48, 60, 72 und 84 Stunden nach der Applikation entnommen. 96 Stunden nach der Applikation wurden alle Tiere getötet und mittels Herzpunktion entblutet. Blut, Leber, Nieren, Herz, Gehirn, Magen und Fettgewebe sowie Haut und der enthäutete Körper wurden gewonnen und von den Geweben und den Fäzes wässrige Homogenate hergestellt. In allen Homogenaten sowie in Blut und Urin wurde die Radioaktivität gemessen. Die Radioaktivität im Blut, in den Blutzellen und im Urin wurde auch in Abhängigkeit von der Zeit nach der Verabreichung bestimmt. Insgesamt wurden in der 10 mg/kg Körpergewicht-Gruppe 96 % und in der 100 mg/kg Körpergewicht-Gruppe 94,8 %

der eingesetzten Radioaktivität wiedergefunden. Zum Zeitpunkt der Tötung befanden sich 64,1 % der eingesetzten Radioaktivität bei den Tieren der 10 mg/kg Körpergewicht-Gruppe und 52,5 % bei denen der 100 mg/kg Körpergewicht-Gruppe im Gewebe verteilt. Davon entfielen 34,6 bzw. 28,2 % auf den ausgeweideten und enthäuteten Gesamtkörper, 20,9 bzw. 17,1 % auf die Leber, 7,2 bzw. 4,9 % auf die Nieren und 5 % bei beiden Dosierungen auf die Haut. Die anderen untersuchten Organe enthielten jeweils weniger als 1 % der eingesetzten Radioaktivität. Die höchste Gewebekonzentration wurde mit 26 bzw. 199 µg Äquivalenten Diethanolamin/g Gewebe in den Nieren festgestellt. Die hauptsächliche Ausscheidung des verabreichten Diethanolamins erfolgte mit dem Urin. 25 % (bei 10 mg/kg Körpergewicht) bzw. 36 % (bei 100 mg/kg Körpergewicht) wurden insgesamt im Beobachtungszeitraum von 96 Stunden auf diese Weise ausgeschieden, in den Fäzes nur 1,2 bzw. 1,5 %. Innerhalb der ersten 12 Stunden nach der Applikation wurde bei einer Dosis von 100 mg/kg Körpergewicht bereits ein wesentlicher Teil der Gesamtausscheidung (23 %) im Urin gefunden, während bei 10 mg/kg Körpergewicht nur 8,5 % in diesem Zeitraum ausgeschieden wurden. Im Blutplasma wurde die höchste Konzentration an Radioaktivität 5 Minuten nach der Applikation gemessen. Danach erfolgte die Elimination in einem biphasischen Prozess mit Halbwertszeiten von 9,2 Minuten und 258 Stunden für die Dosis von 10 mg/kg Körpergewicht und 16,3 Minuten und 206 Stunden für 100 mg/kg Körpergewicht. Die letzte Angabe wurde in der späteren Publikation auf 113 Stunden korrigiert (Dow, 1995; Mendrala et al., 2001).

3 männliche Ratten (F344-M, ca. 169 bis 190 g schwer) wurden ebenfalls intravenös mit ¹⁴C-markiertem Diethanolamin (7,3 mCi/mmol, 95 bis 96 % radiochemisch rein), gelöst in phosphatgepufferter physiologischer Kochsalzlösung, behandelt. Der Stoff wurde einmalig in einer Dosis von 7,5 mg/kg Körpergewicht (mit ca. 3 µCi) in die laterale Schwanzvene appliziert. Urin und Fäzes wurden über zwei 24-Stunden-Intervalle gesammelt und auf Radioaktivität analysiert. Die radioaktiven Bestandteile der Atemluft wurden aufgefangen und bestimmt. Am Ende des Versuches wurden die Tiere getötet und die Radioaktivität in Blut, Fettgewebe, Gehirn, Herz, Nieren, Leber, Lunge, Muskel, Haut und Milz bestimmt. 48 Stunden nach der Applikation waren 28,3 % der eingesetzten Radioaktivität mit dem Urin ausgeschieden worden, 0,6 % fanden sich in den Fäzes und 0,2 % in der Atemluft als CO₂. 0,01 % der Radioaktivität wurde nicht als CO₂ in der

Atemluft gefunden. Der weitaus größte Teil der Radioaktivität (53,7 %) war in den Organen und im Muskel (15,3 %) gespeichert. Betroffen waren vor allem die Leber (27,1 %), die Haut (4,5 %) und die Niere (4 %). In den anderen Geweben und im Blut waren nur geringe Mengen an Radioaktivität gespeichert. Die Analyse des Urins und des Leberhomogenatextraktes mit HPLC ergab, dass als radioaktiver Stoff ganz überwiegend unverändertes Diethanolamin vorlag neben kleinen Mengen nicht näher identifizierter Metaboliten. Wurde die gleiche Untersuchung an Mäusen (B6C3F1, 23 bis 25 g schwer) hier mit einer Dosis von 14,9 mg Diethanolamin/kg Körpergewicht durchgeführt, so wurden sehr ähnliche Befunde erhalten, die sich nur unwesentlich von den an Ratten gefundenen unterschieden (RTI, 1991; Mathews et al., 1997).

Für eine in vitro-Untersuchung zur Absorption und Penetration von Diethanolamin wurden Hautpräparate von weiblichen Ratten (CD, etwa 10 Wochen alt), weiblichen Mäusen (CD1, etwa 6 Wochen alt), weiblichen weißen Neuseeland-Kaninchen (11 bis 12 Wochen alt) und frische Hautproben von Mammoplastik-Patientinnen verwendet. Die tierischen Präparate stammten von dem vorher geschorenen thorakalen Rückenbereich der Tiere. Alle Hautpräparate wurden in Minimum essentiell Medium (MEM) gehalten, in einer Hautpenetrationsapparatur eingespannt und mit 2,5 ml Minimum essentiell Medium/Stunde unterströmt. Nach 30 Minuten wurden 20 mg Diethanolamin (99 % rein)/cm² der Hautoberfläche in der Apparatur (1,77 cm² insgesamt) auf die eingespannte Haut aufgetragen. Pro Hautprobe waren 5 bis 10 µCi ¹⁴C-Diethanolamin (150 mCi/mmol, ca. 96,5 % radiochemisch rein) zugesetzt worden. Das aufgetragene Diethanolamin war entweder unverdünnt oder eine 37-prozentige wässrige Lösung und die Hautpräparate wurden nach dem Auftragen mit zweilagiger Gaze abgedeckt, um die Bedingungen einer in vivo-Applikation zu simulieren. Während 6 Stunden wurde das unter den Hautpräparaten strömende Medium gesammelt und auf Radioaktivität untersucht. Als Kontrolle wurde ¹⁴C-Ethanol verwendet, dessen Penetrationsgeschwindigkeit durch die verschiedenen Hautarten bekannt war. Sie lag bei den eingesetzten Hautproben im Normalbereich und bewies damit die Integrität der Hautpräparationen. Am Ende der Untersuchungen wurden die nicht resorbierte und die penetrierte Radioaktivität, die in der Haut resorbierte Radioaktivität sowie die aus der Apparatur ausgewaschene Radioaktivität bestimmt; ferner wurde zusammen mit der penetrierten, im Unterströmungsmedium gefundenen Radioaktivität die

Wiederfindungsrate berechnet. Sie betrug in allen Fällen ca. 80 %, mit Ausnahme der Versuche an der Rattenhaut mit unverdünntem Diethanolamin, wo 95 % erreicht wurden. Weitaus der größte Teil der Radioaktivität war unresorbiert auf der Haut zurückgeblieben, nur kleine Mengen waren in die Haut eingedrungen oder penetriert. Dabei wurden diese Vorgänge durch die Verdünnung des Diethanolamins mit Wasser begünstigt. Trug man die penetrierte Radioaktivität kumulativ gegen die Zeit auf, so konnte eine konstante Penetrationsgeschwindigkeit bestimmt werden. Die Daten sind in Tabelle 2 zusammengestellt.

Tabelle 2. Hautpenetration und Resorption von Diethanolamin in vitro nach Behandlung mit unverdünntem Diethanolamin im Vergleich zu der mit 37-prozentiger Lösung*				
	Maus	Kaninchen	Ratte	Mensch
Resorbierte Menge in 6 Stunden (% der eingesetzten Radioaktivität)	1,30/6,68	0,02/2,81	0,04/0,56	0,08/0,23
Hautresorption in 6 Stunden (% der eingesetzten Radioaktivität)	0,68/1,28	0,44/2,06	0,08/0,46	0,95/1,88
Penetrationsgeschwindigkeit ($\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{Stunde}$)	46,3/294,40	0,9/132,20	1,8/23,00	5,7/12,70
* die Werte vor dem Schrägstrich wurden mit dem unverdünntem Diethanolamin gewonnen, die dahinter mit der 37-prozentigen wässrigen Lösung				

In den Versuchen mit der 37-prozentigen Lösung waren Hautpenetration und Resorption deutlich höher. Zudem wiesen die Autoren ausdrücklich auf die sehr ausgeprägten Speziesunterschiede hin. Von der Maus zum Kaninchen, zur Ratte und zum Menschen nahm die Durchlässigkeit der Haut für Diethanolamin deutlich ab (Sun et al., 1996).

Die Absorption und die Verteilung von Diethanolamin in menschlichem Gewebe wurden an Leberschnitten untersucht, die in modifiziertem Krebs-Henseleit-Puffer bei pH 7,4 gehalten wurden. Die Präparate hatten eine Dicke von 250 μm und waren von einem medizinischen Forschungsinstitut in Baltimore erhalten worden. Sie wurden bei 37 °C im Puffer inkubiert, dem ^{14}C -Diethanolamin in einer Konzentration von 1,05 mM (entsprechend 110 $\mu\text{g}/\text{ml}$) zugesetzt worden war. Nach 4 bzw. 12 Stunden wurden die Schnitte herausgenommen und für eine Minute mit Ultraschall in Wasser homogenisiert. Die weitere Aufarbeitung erfolgte wie bereits weiter oben für die gleichen Autoren und für tierisches Lebergewebe beschrieben. Nach 4 Stunden waren 11 % und nach 12 Stunden 29 % der eingesetzten Radioaktivi-

tät von den Leberschnitten aufgenommen worden. 85 bis 97 % der im Puffermedium verbliebenen Radioaktivität lagen dort als unverändertes Diethanolamin neben kleinen Mengen von 4 nicht näher charakterisierten Metaboliten vor. Der wässrige Extrakt aus dem Homogenat enthielt nach 4 Stunden Inkubation 74 % und nach 12 Stunden Inkubation 92 % der von den Leberschnitten aufgenommenen Radioaktivität. Von dieser Radioaktivität konnte bei weitem die größte Menge auf unverändertes Diethanolamin zurückgeführt werden. Von 4 insgesamt gefundenen Metaboliten repräsentierten zwei nach 4 Stunden Inkubation je 1,5 % der gefundenen Radioaktivität. Nach 12 Stunden waren 3 Metaboliten mit insgesamt 14 % dieser Radioaktivität nachweisbar. Einer der nach 4 Stunden nachweisbaren Metaboliten erschien nicht mehr. Zur chemischen Struktur der Metaboliten wurden keine Angaben gemacht. Die im Chloroform/Methanol-Extrakt gefundene Radioaktivität wurde zu mehr als 90 % auf Phospholipide zurückgeführt, in denen das Diethanolamin als unveränderte Verbindung vorlag. Nach 12 Stunden Inkubation waren auch geringe Mengen (0,3 %) an N-methyliertem Diethanolamin in den Phospholipiden nachweisbar. Die radioaktiv markiertes Diethanolamin enthaltenden Phospholipide waren nach 4 Stunden zu mehr als 80 % und nach 12 Stunden Inkubation zu 95 % Ceramid-Abkömmlinge, Sphingomyeline, in denen das Cholin durch Diethanolamin ersetzt war. Damit konnte nachgewiesen werden, dass Diethanolamin in menschlichem Gewebe in gleicher Weise wie bei der Ratte aufgenommen, umgesetzt und gespeichert wird (Mathews et al., 1995).

7.2 Akute und subakute Toxizität

Akute Toxizität

Die Daten zur akuten Toxizität von Diethanolamin nach einmaliger Applikation sind in Tabelle 3 zusammengefasst.

Anfang Tabelle 3

Tabelle 3. Daten zur akuten Toxizität von Diethanolamin nach einmaliger Applikation					
Spezies, Stamm, Geschlecht ¹	Zufuhrweg	Dosis (mg/kg Körpergewicht bzw. mg/m ³)	Effekte	Nachbeobachtungszeitraum	Literatur
Ratte, Sherman, männlich	oral	1820, 2830	LD ₅₀ (mit Chargen unterschiedlicher Herkunft)	14 Tage	Mellon Institute, 1950; Smyth et al., 1951

Tabelle 3. Daten zur akuten Toxizität von Diethanolamin nach einmaliger Applikation					
Spezies, Stamm, Geschlecht ¹	Zufuhrweg	Dosis (mg/kg Körpergewicht bzw. mg/m ³)	Effekte	Nachbeobachtungszeitraum	Literatur
Ratte, Sherman, weiblich	oral	1410, 1650, 1660	LD ₅₀ (mit Chargen aus verschiedenen Produktionsjahren)	14 Tage	Mellon Institute, 1950; Smyth et al., 1951
Ratte	oral	3540	LD ₅₀	k.A.	Anonym, 1968
Ratte	oral	710	LD ₅₀	k.A.	Smyth et al., 1970
Ratte	oral	ca. 2300	LD ₅₀	k.A.	Eastman Kodak, 1982
Ratte	oral	3460	LD ₅₀	k.A.	Izmerov et al., 1982
Ratte	oral	ca. 1600 (männlich 2500, weiblich 1100)	LD ₅₀ , Taumeln, forcierte Atmung; Magen-Darm-Reizungen, Hydrothorax	7 Tage	BASF, 1966
Maus	oral	4570	LD ₅₀	k.A.	Eastman Kodak, 1982
Maus	oral	3300	LD ₅₀	k.A.	Izmerov et al., 1982
Kaninchen	oral	2200	LD ₅₀	k.A.	Izmerov et al., 1982
Meerschweinchen	oral	2200	LD ₅₀	k.A.	Izmerov et al., 1982
Kaninchen	dermal	13000	LD ₅₀	k.A.	INRS, 1991
Kaninchen	dermal	12200	LD ₅₀	k.A.	National Association of Printing Ink Research Institute, 1974
Ratte	inhalativ	Inhalations-Risiko-Test, angereicherte Atmosphäre bei 20 °C, 8 Stunden lang	alle 12 Tiere überlebten, keine toxischen Effekte	7 Tage	BASF, 1966
Ratte	inhalativ	Inhalations-Risiko-Test, gesättigte Dämpfe, 8 Stunden lang	alle 6 Tiere überlebten	k.A.	Union Carbide, 1966
Ratte, männlich	inhalativ	875 (Dämpfe, keine Angaben zur Expositionsdauer)	Todesfälle und Atemschwierigkeiten	k.A.	Hartung et al., 1970
Ratte, männlich	inhalativ	6122 (Aerosol, keine Angaben zur Expositionsdauer)	Todesfälle und Atemschwierigkeiten	k.A.	Hartung et al., 1970
Ratte, Sprague-Dawley, männlich	inhalativ	6433 (Dämpfe und Aerosol, keine Angaben zur Expositionsdauer)	Todesfälle innerhalb von weniger als 2 Stunden; Lungenödem, Leber- und Nierenschäden	k.A.	Foster, 1972

Tabelle 3. Daten zur akuten Toxizität von Diethanolamin nach einmaliger Applikation					
Spezies, Stamm, Geschlecht ¹	Zufuhrweg	Dosis (mg/kg Körpergewicht bzw. mg/m ³)	Effekte	Nachbeobachtungszeitraum	Literatur
Ratte	intraperitoneal	1500	Elektrolytverschiebungen im Serum (Abfall von Na ⁺ und PO ₄ ³⁻ ; Anstieg von K ⁺ , Ca ²⁺ und Mg ²⁺); erniedrigter Herzschlag und EEG-Abnormalitäten; Aszites, erhöhter Wassergehalt in Niere und Leber; degenerative Veränderungen der Hepatozyten und des Tubulusepithels in der Niere, Vakuolisierung des Zytoplasmas und Schwellung der Mitochondrien in Leberzellen	k.A.	Foster, 1972
Ratte	intraperitoneal	160	LD ₅₀	k.A.	Eastman Kodak, 1982
Maus	intraperitoneal	ca. 400	LD ₅₀ ; Seitenlage, Dyspnoe, Krämpfe; Adhäsionen der Darmschlingen	7 Tage	BASF, 1966
Maus	intraperitoneal	210	LD ₅₀	k.A.	Eastman Kodak, 1982
Maus, Swiss-Webster	intraperitoneal	2300	LD ₅₀	24 Stunden	Blum et al., 1972
Maus, Swiss-Webster	intraperitoneal	1700	Sedierung, Ataxie, Verlust des Aufrichtreflexes und nachfolgender Tod innerhalb von 15 Minuten bis 24 Stunden; mikroskopisch wurden Schäden des Lebergewebes und elektronenmikroskopisch geschwollene Mitochondrien in den Hepatozyten festgestellt	24 Stunden	Blum et al., 1972
Ratte	subkutan	2200	LD ₅₀	k.A.	Izmerov et al., 1982
Maus	subkutan	3553	LD ₅₀	k.A.	Koch, 1954
Ratte	intramuskulär	1500	LD ₅₀	k.A.	Izmerov et al., 1982
Hund	intravenös	400	alle Tiere starben; sympathomimetische und parasympatholytische Wirkungen; Blutdruckanstieg, Vasokonstriktion, Steigerung des Atemvolumens, Depression des zentralnervösen Systems, gesteigerte Diurese, Kardiotoxizität, Krämpfe der Eingeweide; kurz vor dem Tod: Absinken des Blutdruckes, gesteigerte Diurese und Defäkation, Mydriasis	-	Mellon Institute, 1954
¹ soweit angegeben			k.A. keine Angaben		

Ende Tabelle 3

In den meisten Fällen wurden keine Vergiftungssymptome und nur ein Zahlenwert für die LD₅₀ angegeben, sodass die Methodik, mit der dieser Wert erarbeitet wurde, nicht nachvollziehbar ist. Mit oralen LD₅₀-Werten zwischen 1410 und 4570 mg/kg Körpergewicht (Ausnahme ein Wert von 710 mg/kg Körpergewicht) bei Ratten, Mäusen, Meerschweinchen und Kaninchen besaß Diethanolamin nach einmaliger Behandlung nur eine geringe Toxizität. Entsprechend der experimentell erwiesenen, deutlich niedrigeren Resorption durch die Haut im Vergleich zur oralen Applikation (siehe Kapitel 7.1) erwies sich die Substanz dermal mit LD₅₀-Werten von 12200 und 13000 mg/kg Körpergewicht bei Kaninchen als noch weniger toxisch. Die einmalige Inhalation von Diethanolamin führte bei Ratten nur bei sehr hohen Konzentrationen zu Todesfällen. Die Validität der Angaben zur inhalativen Toxizität von Diethanolamin ist jedoch wegen des Fehlens aller näheren experimentellen Einzelheiten nicht nachvollziehbar. Intraperitoneal an Ratten und Mäuse verabreicht wirkte Diethanolamin zwischen 160 und ca. 400 mg/kg Körpergewicht bei 50 % der Tiere tödlich. Ein LD₅₀-Wert von 2300 mg/kg Körpergewicht nach intraperitonealer Gabe und nur 24 Stunden Nachbeobachtungszeit passt nicht in das Gesamtbild, konnte aber aufgrund fehlender experimenteller Einzelheiten nicht mit den anderen Daten verglichen werden (Blum et al., 1972). Subkutane LD₅₀-Werte für Ratte und Maus und ein intramuskulärer LD₅₀-Wert bei der Ratte lagen mit 1500 bis 3553 mg/kg Körpergewicht im Bereich der oralen LD₅₀. Eine deutliche Abhängigkeit der akuten Toxizität vom Geschlecht oder der Spezies der Tiere konnte aus den vorliegenden Daten nicht abgeleitet werden. Es besteht jedoch der Eindruck, dass Mäuse etwas weniger empfindlich gegenüber Diethanolamin waren als Ratten.

Zu den Zielorganen und zu Symptomen der akuten Vergiftung durch Diethanolamin wurde nur wenig berichtet. Neben eher unspezifischen Effekten wurden Leber und Niere als Zielorgane genannt und eine Elektrolytverschiebung im Serum angegeben. Die Leber als Zielorgan der toxischen Wirkung von Diethanolamin war Inhalt mehrerer Untersuchungen an Ratten, in denen neben licht- und elektronenmikroskopischen Untersuchungen auch für Leberschäden spezifische Serumenzymaktivitäten bestimmt wurden.

Männliche Sprague-Dawley-Ratten (Durchschnittsgewicht 380 g) wurden in Gruppen von 7 bis 9 Tieren mit Diethanolamin, gelöst in Wasser und mit HCl neutralisiert, in Dosierungen von 0 (Kontrollen), 100, 200, 400, 800, 1600 oder 3200 mg/kg Körpergewicht einmalig oral mit der Schlundsonde

behandelt. Das Applikationsvolumen betrug jeweils 5 ml/kg Körpergewicht. 18 Stunden nach der Gabe von Diethanolamin wurden die Tiere entblutet und seziiert. Blut, Leber und Nieren wurden gewonnen, die Gewebe lichtmikroskopisch und elektronenmikroskopisch untersucht und im Blutserum die Aktivitäten von 10 Enzymen und die Konzentrationen von Harnstoff, Ornithin und Arginin bestimmt. In allen Dosisgruppen waren die Leber- und Nierengewichte dosisabhängig erhöht. Ein deutlicher Anstieg erfolgte in der Niere allerdings erst ab einer Dosis von 1600 mg/kg Körpergewicht. Ab einer Dosis von 800 mg/kg Körpergewicht stieg die Harnstoff-Konzentration im Blut sehr stark und dosisabhängig an, die Arginin-Konzentration fiel ab. Die Ornithin-Konzentration war bei allen Dosierungen unverändert. Die Aktivitäten aller 10 Enzyme im Serum waren durch die Applikation von Diethanolamin in einer Dosis von 800 bzw. 1600 mg/kg Körpergewicht deutlich erhöht. Die Erhöhung war dosisabhängig und verstärkte sich bei einer Dosis von 3200 mg/kg Körpergewicht noch weiter (siehe Tabelle 4).

Tabelle 4. Enzymaktivitäten im Serum von Ratten nach einmaliger oraler Verabreichung verschiedener Dosierungen von Diethanolamin (nmol Substrat umgesetzt/Minute/ml Serum)				
Enzym	Diethanolamin-Dosierungen (mg/kg Körpergewicht)			
	0 (Kontrolle)	800	1600	3200
Ornithin-Carbamyltransferase	0,007	0,008	0,031	0,032
Glutamatdehydrogenase	0,51	0,51	0,69	0,98
Isozitatdehydrogenase	0,45	0,78	1,14	2,14
Sorbitoldehydrogenase	0,47	1,09	1,65	1,95
Fruktose-1-Phosphat-Aldolase	0,24	0,89	1,36	1,56
Fruktose-1,6-Diphosphat-Aldolase	1,39	1,48	1,94	2,03
Glutamat-Pyruvat-Transaminase	1,11	1,42	1,63	2,14
Glutamat-Oxalacetat-Transaminase	1,62	1,98	2,33	2,97
Malatdehydrogenase	1,87	2,16	2,50	3,75
Laktatdehydrogenase	2,57	2,68	2,84	3,16

Lichtmikroskopisch wurden degenerative Veränderungen der Leberparenchymzellen ab einer Dosis von 200 mg/kg Körpergewicht beobachtet. Diese verstärkten sich bei 400 mg/kg Körpergewicht und bei dieser Dosis traten auch degenerative Veränderungen im Nierengewebe mit tubulären Nekrosen auf. Bei höheren Dosierungen waren die degenerativen Veränderungen noch ausgeprägter, besonders die tubulären Nekrosen in den Nieren bei 800 und 1600 mg/kg Körpergewicht. Elektronenmikroskopisch wurden in den Leberzellen von Ratten, die 1600 mg Diethanolamin/kg Körpergewicht

erhalten hatten, disseminierte Veränderungen beobachtet. Die Zellen enthielten zahlreiche große Lipidtropfen. Das raue und das glatte endoplasmatische Retikulum waren geschwollen, begleitet von einem Verlust an Ribosomen. Die Morphologie der Mitochondrien, der Lysosomen, der Zellkerne und der Nukleolen sowie die Verteilung des Glykogens waren in keiner der Dosisgruppen durch Diethanolamin beeinflusst. Die Autoren schlossen jedoch aus den erhöhten Enzymaktivitäten im Serum, dass die Mitochondrien durch Diethanolamin mit angegriffen wurden (Korsrud et al., 1973).

In einer weiteren Studie erhielten männliche Sprague-Dawley-Ratten (300 g schwer) Diethanolamin in einer Dosis von 1000 mg/kg Körpergewicht durch Zwangsfütterung (keine weiteren Angaben) in einem Cholin-freien Kaseinhydrolysat verabreicht. 3 Tiere erhielten diese Dosis einmalig und je eines der Tiere wurde 2, 5 oder 24 Stunden danach getötet. 3 weitere Tiere wurden an 4 aufeinander folgenden Tagen dreimal täglich mit einem Drittel der Dosis im Abstand von 6 Stunden behandelt und 24 Stunden nach der letzten Applikation getötet. 2 dieser Tiere wurden in den letzten 24 Stunden mit einer Cholin und Cholesterin enthaltenden Diät gefüttert. Von einem dieser Tiere wurden 0, 2 und 5 Stunden, von dem anderen 0 und 1 Stunden nach der Fütterung Pankreasbiopsien entnommen. Von allen Tieren wurden nach der Tötung Gewebeproben von Pankreas und der Leber gewonnen und licht- und elektronenmikroskopisch unter besonderer Berücksichtigung der serösen Endstücke (Acini) des Pankreas untersucht. Lichtmikroskopisch wurden an den Lebern der mehrfach behandelten Ratten große Vakuolen in den Hepatozyten beobachtet und die basophilen, zytoplasmatischen Körperchen waren sehr klein. Im Pankreas wurden bei den gleichen Tieren nur sehr wenig Granula in den Drüsenzellen (Zymogenkörnchen) gesehen. Fütterung von Cholin und Cholesterin verminderte die Vakuolen in den Hepatozyten bereits nach 5 Stunden und hob diesen Effekt innerhalb von 24 Stunden ganz auf, hatte aber keinen Einfluss auf die Veränderungen im Zytoplasma. Nach der einmaligen Gabe von Diethanolamin wurde mit einem Maximum nach 5 Stunden eine Schwellung der Mitochondrien beobachtet, die nach 24 Stunden reversibel war. Nach mehrfacher Behandlung war das raue endoplasmatische Retikulum merklich verändert, die Gestalt des Golgi-Apparates war leicht verändert und das glatte endoplasmatische Retikulum war etwas vergrößert. Wurde den Tieren Cholin- und Cholesterin-haltige Nahrung gegeben, so normalisierten sich die Veränderungen des rauen endoplasmatischen Retikulums inner-

halb von 5 Stunden. In den Acinarzellen des Pankreas zeigten sich nach einmaliger Applikation von Diethanolamin leichte bis mäßige fokale Degenerationen, ein Verschwinden der Zymogenkörnchen und eine Vakuolisierung des Golgi-Apparates. Außerdem wurde das raue endoplasmatische Retikulum angegriffen (Brüche, Vakuolen). Nach mehrfacher Behandlung verstärkten sich diese Effekte. Fütterung von Cholin- und Cholesterin-haltiger Nahrung führte zu einer schnellen Erholung des rauen endoplasmatischen Retikulums und einer langsameren Normalisierung der Zahl von Zymogenkörnchen. Die Autoren schlossen aus den Befunden, dass Diethanolamin in den untersuchten Zellen die Bildung von intrazellulären Membranen verhindert mit nachfolgender Entleerung des endoplasmatischen Retikulums. Sie vermuteten, dass Diethanolamin den Lipidstoffwechsel in den Zellen hemmte (Hruban et al., 1965).

Männliche Sprague-Dawley-Ratten (225 bis 300 g schwer) in Gruppen von je 6 Tieren wurden einmalig mit Dosierungen von 0 (Wasserkontrolle), 100 oder 500 mg Diethanolamin/kg Körpergewicht behandelt, 4 oder 24 Stunden nüchtern gehalten und dann getötet. Diethanolamin wurde in Wasser gelöst, mit HCl neutralisiert und den Tieren intraperitoneal verabreicht. Bei allen Tieren wurden die Aktivitäten der Laktatdehydrogenase und der Aspartataminotransferase im Blut bestimmt sowie die Gewebe der Leber und der Niere licht- und elektronenmikroskopisch untersucht. 4 Stunden nach der Applikation von 100 oder 500 mg Diethanolamin/kg Körpergewicht wurden im Lebergewebe der Tiere beider Dosisgruppen Vakuolisierung des Zytoplasmas und zytoplasmatische Basophilie beobachtet. Das elektronenmikroskopische Bild war ebenfalls durch Vakuolisierung des Zytoplasmas charakterisiert. Die Mitochondrien erschienen geschwollen und weniger dicht. 24 Stunden nach der Applikation waren die Effekte noch deutlicher ausgebildet. In keinem Fall wurden nekrotische Leberzellen beobachtet. In den Nierentubuli wurden die gleichen Effekte wie im Lebergewebe beobachtet (Vakuolisierung und Aufhellung des Zytoplasmas). Die Effekte waren bei einer Dosis von 100 mg/kg Körpergewicht in den Nieren deutlich geringer. Eine Erhöhung der Laktatdehydrogenase-Aktivität im Serum auf etwa das Doppelte trat nur bei der Dosis von 500 mg/kg Körpergewicht sowohl 4 als auch 24 Stunden nach der Applikation auf. Die Aspartataminotransferase-Aktivität war bei 100 mg/kg Körpergewicht nur sehr wenig, bei 500 mg/kg Körpergewicht auf etwa das Dreifache gesteigert. Auch diese Steigerung war unabhängig von der Wartezeit nach der Applikation (Grice et al., 1971).

Subakute Toxizität

Gruppen von je 10 männlichen weißen Ratten (mittleres Gewicht 319 g) wurden über 32 Tage mit einem Futter ernährt, dem 0,01, 0,1 oder 1 % Diethanolamin zugesetzt worden waren. 10 Kontrolltiere erhielten Futter ohne Diethanolamin-Zusatz. Die Entwicklung der Körpergewichte und der Futterverbrauch der Tiere wurden während der gesamten Applikationszeit gemessen. Am 28. Tag der Behandlung wurde Blut für hämatologische Untersuchungen von den Kontrolltieren und den mit 1 oder 0,1 % Diethanolamin behandelten Tieren entnommen. Am Ende der Behandlung wurden alle überlebenden Tiere getötet, Leber, Nieren, Milz, Herz, Lungen, Gehirn und Testes präpariert, gewogen und umfassende histopathologische Untersuchungen durchgeführt. Von den 10 Tieren der Gruppe, die 1 % Diethanolamin im Futter erhalten hatten (nach Angabe der Autoren 330 mg/kg Körpergewicht unter Berücksichtigung des gemessenen Futterverbrauchs), starben 9 zwischen dem 13. und 21. Behandlungstag, sodass diese Gruppe bei der Befundung weitgehend ausfiel. Alle Tiere der Gruppe nahmen vom Tag 0 bis 14 ständig weniger Futter auf und zeigten deutliche Gewichtsverluste. Das überlebende Tier erholte sich nach dem 21. Behandlungstag etwas. Bei den mit 0,1 oder 0,01 % Diethanolamin gefütterten Tieren wurden im Futterverbrauch und in der Körpergewichtsentwicklung keine deutlichen Abweichungen von der Kontrolle beobachtet, bis auf eine kaum erklärbare Abnahme beider Parameter zwischen dem 4. und 8. Behandlungstag in der untersten Dosisgruppe. Die Organgewichte einschließlich der Testesgewichte waren in den beiden niedrigen Dosisgruppen nicht verändert gegenüber der Kontrolle, bis auf das Lebergewicht, das erhöht war. Das eine überlebende Tier der 1 %-Gruppe hatte eine stark erniedrigte Hämoglobinkonzentration im Blut, einen niedrigen Hämatokritwert und eine sehr hohe Zahl an Leukozyten. Die mit 0,1 % Diethanolamin gefütterten Tiere zeigten bei Hämoglobinkonzentration und Hämatokritwert eine signifikante Erniedrigung gegenüber den mitgeführten Studienkontrollen, obwohl die Werte sich im Normalbereich befanden. Die Leukozytenzahl war gegenüber der Kontrolle unverändert. Substanzbedingte histopathologische Veränderungen konnten nicht nachgewiesen werden (Eastman Kodak, 1967 a).

In einer Wiederholung der vorstehenden Untersuchung mit exakt der gleichen Versuchsanordnung, jedoch mit zusätzlicher Bestimmung der Aktivitäten der alkalischen Phosphatase und der Aspartataminotransferase so-

wie des Proteingehaltes im Serum und einer Urinanalyse bei allen Tieren, bestätigten sich die Befunde der ersten Untersuchung, abgesehen von dem Absinken des Körpergewichtes und der Futteraufnahme vom 4. bis 8. Behandlungstag in der Gruppe der mit 0,01 % Diethanolamin im Futter behandelten Tiere. In der 1 %-Gruppe verendeten 7 der 10 Tiere zwischen dem 14. und 21. Behandlungstag und ein 8. Tier musste in diesem Zeitraum getötet werden. Organgewichte wurden in dieser Gruppe nicht bestimmt. Die Gewichte von Leber, Nieren und Testes wichen nicht von denen der Kontrollen ab. Die früher gefundenen erhöhten Lebergewichte wurden nicht bestätigt. Die vorher an einem Tier erhobenen hämatologischen Befunde in der 1 %-Gruppe (4 Tiere am 21. Tag der Applikation untersucht) bestätigten sich. Das Gleiche galt für die anderen beiden Futterkonzentrationen. Der Proteingehalt im Serum war bei der höchsten Futterkonzentration deutlich erniedrigt, bei den beiden anderen Konzentrationen normal. Die im Serum gemessenen Enzymaktivitäten lagen im Normalbereich mit starker Streuung bei der höchsten Diethanolamin-Konzentration. Histopathologische Untersuchungen wurden an Leber, Nieren und Testes der Kontrollen und der Tiere der 1 %-Gruppe durchgeführt. Sie wiesen keine organotoxischen Effekte des Diethanolamins auf (Eastman Kodak, 1968).

Die wiederholte orale oder intraperitoneale Applikation von in Wasser gelöstem und mit HCl neutralisiertem Diethanolamin in einer täglichen Dosis von 9,5 mmol/kg Körpergewicht (entsprechend 1000 mg/kg Körpergewicht) führte bei männlichen Sprague-Dawley-Ratten abhängig von der Behandlungszeit zu Hypokalzämie, begleitet von den klassischen Symptomen der Tetanie und sehr stark herabgesetzter Blutgerinnung innerhalb von 3 bis 5 Tagen. Die Erhöhung der Kalziumausscheidung im Urin auf das Dreifache war teilweise verantwortlich für die Ausbildung des Kalziummangels. Bei einer täglichen Dosis von 5,3 mmol/kg Körpergewicht (entsprechend 557 mg/kg Körpergewicht) war dieser Effekt weniger ausgeprägt. Wurden die Ratten mit Dosierungen von 0,25 bis 5,3 mmol/kg Körpergewicht (entsprechend 26 bis 557 mg/kg Körpergewicht) 2 bis 49 Tage täglich behandelt, so resultierten eine Hyperfunktion der Nebennierenrinde, die sich als Anstieg des Corticosterons im Serum, des Leberglykogens und als Hyperglykämie manifestierte, sowie eine Rückbildung des Thymus und ein Anstieg des Blut-Harnstoff-Stickstoffs. Eine längerfristige Applikation von Diethanolamin führte dosisabhängig zu einer normochromen, normozytären Anämie (keine weiteren Angaben; Foster, 1972).

Neugeborene Sprague-Dawley-Ratten wurden vom 5. bis 15. Tag nach ihrer Geburt mit Dosierungen von 1, 2 bzw. 3 mmol Diethanolamin/kg Körpergewicht (entsprechend 105, 210 bzw. 315 mg/kg Körpergewicht) täglich oral behandelt. Gemessen wurden die Organgewichte von Leber, Herz, Niere und Gehirn am Ende der Behandlungszeit, die Aktivitäten der membrangebundenen Enzyme Cholinesterase und Succinatdehydrogenase in verschiedenen Zellfraktionen der Organe und der Flüssigkeitsgehalt der Organe. Die relativen Organgewichte der Leber und der Niere waren bei der mittleren und der höchsten Dosierung und die der anderen untersuchten Organe bei der höchsten Dosierung signifikant erhöht. Der Flüssigkeitsgehalt aller Organe war nicht vermehrt. Bei der höchsten Dosierung waren die Aktivität der Succinatdehydrogenase in der Kern- und Mitochondrienfraktion der Leber und der Mitochondrienfraktion der Niere sowie die Cholinesterase-Aktivität in der Mitochondrienfraktion dieser Organe erhöht (keine weiteren Angaben; Burdock und Masten, 1979).

Wurde mit Salzsäure neutralisiertes, in Wasser gelöstes Diethanolamin in Dosierungen von 1, 2 oder 3 mmol/kg Körpergewicht (entsprechend 105, 210 oder 315 mg/kg Körpergewicht) täglich oral an neugeborene Sprague-Dawley-Ratten vom 5. bis 15. Tag nach ihrer Geburt verabreicht und die Lebern mikroskopisch und elektronenmikroskopisch untersucht, so waren periportale Schwellungen und Vakuolisierung zu beobachten. Die Mitochondrien waren geschwollen, zahlreiche Fetttropfen und Glykogensammlungen sowie punktartige Degenerationen (keine weiteren Angaben) zeigten sich. Aus den Lebern und Nieren der Tiere wurden nach Homogenisation Fraktionen der Zellkerne, der Mitochondrien und der Mikrosomen isoliert. In diesen Fraktionen wurde die Aufnahme von ^{14}C -Diethanolamin (vermutlich nach Gabe an die Tiere während der Applikation von nicht markiertem Diethanolamin) untersucht. Ferner wurden der Protein-, Lipid- und Phosphor-Gehalt und die Aktivitäten der Succinatdehydrogenase, der Acetylcholinesterase, der Aminopyrin-N-Demethylase und der Anilinhydroxylase bestimmt. Die Lipide wurden aus den Fraktionen extrahiert und dünn-schichtchromatographisch aufgetrennt. Die Aufnahme von radioaktiv markiertem Diethanolamin wurde vornehmlich in der Mitochondrienfraktion aus Leber und Niere nachgewiesen. Die Radioaktivität in den Phospholipiden wurde dünn-schichtchromatographisch nachgewiesen, wobei sie in der Mikrosomenfraktion auf verschiedene Phospholipidmetaboliten verteilt war und in der Kern- und der Mitochondrienfraktion mehr den Phospholipiden selbst

zugeordnet werden konnte. In der Kern- und der Mitochondrienfraktion aus der Leber waren der Proteingehalt und der Lipidgehalt erhöht ohne ein gleichzeitiges Ansteigen im Phosphorgehalt, was auf die Bildung von atypischen Phospholipiden hinwies. Alle drei Parameter wurden in der Mikrosomenfraktion der Leber durch die Behandlung mit Diethanolamin nicht beeinflusst. Die Aktivität der Succinatdehydrogenase war in der Kern- und der Mitochondrienfraktion der Leber und in der Mitochondrienfraktion der Niere erhöht, was auf eine Schädigung der Membranen hindeutete. Die Aktivitäten der Acetylcholinesterase und der Aminopyrin-N-Demethylase waren unverändert. Die Anilinhydroxylase-Aktivität in der Mikrosomenfraktion der Leber war erniedrigt. Der Autor schloss aus den Befunden, dass Diethanolamin in mitochondriale Phospholipidmembranen eingebaut wurde und damit zu enzymatischen und morphologischen Veränderungen führte (Burdock, 1981).

Männlichen Sprague-Dawley-Ratten wurde eine auf pH 7,4 neutralisierte Lösung von Diethanolamin in Wasser als Trinkwasser verabreicht. Es wurden Konzentrationen von 0,25, 1,3 oder 5 mg/ml über 1, 2 oder 3 Wochen gegeben. Die Tiere wurden dann getötet, die Mitochondrien aus Hepatozyten und Nierenzellen isoliert und auf ihre Funktionsfähigkeit untersucht. Lebermitochondrien zeigten eine Abnahme der Atmungskontrolle und einen Anstieg des Sauerstoffverbrauchs im Status 4 der Atmung. Die Mitochondrien der Nierenzellen wurden durch die Gabe von Diethanolamin nicht beeinflusst. An Lebermitochondrien traten die Effekte erst nach mehreren Tagen auf. 3 mg/ml Trinkwasser für 24 Stunden hatten keinen Effekt. Die Permeabilität der inneren und der äußeren Membran der Mitochondrien war auch in der höchsten Konzentration nach 3 Wochen nicht beeinflusst. Elektronenmikroskopisch wurden keine strukturellen Veränderungen an den Mitochondrien beobachtet (keine weiteren Angaben; Barbee und Hartung, 1976).

In einer weiteren Untersuchung erhielten männliche Sprague-Dawley-Ratten mit dem Trinkwasser die folgenden Diethanolamin-Konzentrationen (errechnet aus dem tatsächlichen Trinkwasserverbrauch) unterschiedlich lang verabreicht: 0,25 mg/ml (42 mg/kg Körpergewicht) 2 oder 5 Wochen lang, 1 mg/ml (160 mg/kg Körpergewicht) 1, 3 oder 5 Wochen lang oder 3 mg/ml (490 mg/kg Körpergewicht) 1 oder 3 Tage bzw. 1, 2, 3 oder 5 Wochen lang. Das mit Diethanolamin versetzte Trinkwasser war immer mit Salzsäure auf pH 7,4 neutralisiert. Am Schluss der Behandlung wurden die Tiere mittels Entblutung durch Herzpunktion in Narkose getötet und die Lebermitochondrien isoliert, deren Sauerstoffaufnahme nach Zugabe von Adeno-

sindiphosphat in Suspension mit der Sauerstoffelektrode gemessen wurden. Bestimmt wurden die schnelle Sauerstoffaufnahme bis zur vollständigen Phosphorylierung des Adenosindiphosphats (Status 3) und die langsamere, darauf folgende Sauerstoffaufnahme (Status 4). Aus diesen Werten wurden die Akzeptorkontrollrate (Status 3 : Status 4) und die Adenosindiphosphat/Sauerstoffrate berechnet. Zusätzlich wurde die mitochondriale Adenosintriphosphatase-Aktivität nach Gabe von 3 mg Diethanolamin/ml Trinkwasser über 3 Wochen bestimmt sowie die Permeabilität der inneren und der äußeren Mitochondrienmembran durch permeationsabhängige biochemische Reaktionen gemessen. Eine elektronenmikroskopische Untersuchung der Mitochondrien erfolgte nach Gabe von 3 mg/ml Trinkwasser über 2 Wochen. Keinen Einfluss auf die gemessenen Parameter hatte die Gabe von Diethanolamin für nur einen Tag. Auch in vitro waren 5 mM Diethanolamin einer Mitochondriensuspension wirkungslos. Bei bis zu 5-wöchiger Verabreichung von Diethanolamin kam es zu einer deutlichen zeit- und dosisabhängigen Zunahme der Sauerstoffaufnahme im Status 4 ab einer Konzentration von 1 mg/ml. Nach 3 Wochen wurde ein gleicher Sättigungswert mit den beiden hohen Konzentrationen erreicht (plus 45 bis 40 %), der nach 5 Wochen nicht mehr überschritten wurde. Die Sauerstoffaufnahme im Status 3 und der Adenosindiphosphat/Sauerstoffquotient blieben nach allen Behandlungszeiten und bei allen Diethanolamin-Konzentrationen konstant, sodass die Akzeptorkontrollrate entsprechend dem gesteigerten Sauerstoffverbrauch im Status 4 absank (auf ca. 75 % der Kontrolle). Die Aktivität der Magnesium-abhängigen Adenosintriphosphatase war signifikant in den Mitochondrien gesteigert, die auch eine erhöhte Sauerstoffaufnahme im Status 4 besaßen, wobei diese Effekte miteinander korrelierten. Mitochondrien der Leberzellen von Tieren, die 2 Wochen lang mit 3 mg Diethanolamin/ml behandelt worden waren, zeigten in dem eingesetzten Test zur Membranpermeabilität keinen Effekt. Elektronenmikroskopisch wurden an diesen Mitochondrien leichte Veränderungen, besonders in der Größe und Gestalt, im Vergleich zu den Kontrollen beobachtet. Die Autoren vermuteten trotzdem, dass die gesteigerte Sauerstoffaufnahme im Status 4 und die Erhöhung der Adenosintriphosphatase-Aktivität auf einer Schädigung der Mitochondrienmembran beruhten (Barbee und Hartung, 1979 a).

In einer Untersuchung zur Dosisfindung für eine 13-Wochen-Studie wurde Gruppen von je 5 weiblichen und 5 männlichen 6 Wochen alten F344/N-Ratten (79 bis 81 g schwere Weibchen und 72 bis 74 g schwere Männ-

chen) Diethanolamin (> 99 % rein) im Trinkwasser über 14 Tage verabreicht. Verwendet wurden Diethanolamin-Konzentrationen von 0 (Kontrollen), 630, 1250, 2500, 5000 und 10000 ppm, die mit Salzsäure auf pH 7,4 eingestellt worden waren. Unter Zugrundelegung des gemessenen Körpergewichtes und des gemessenen Wasserverbrauchs betrug die tatsächlichen Dosierungen für Männchen/Weibchen 0 (Kontrollen), 77/79, 162/158, 319/371, 622/670 oder 1016/1041 mg/kg Körpergewicht täglich. Die Tiere wurden am 12. Behandlungstag einzeln gehalten und es wurde über 16 Stunden von jedem Tier der Urin gesammelt. Am Ende der 14-tägigen Behandlungszeit wurde retroorbital Blut entnommen und alle Tiere wurden der Autopsie zugeführt. Gehirn, Herz, rechte Niere, Leber, Lunge, rechter Hoden und Thymus wurden gewogen. Histopathologische Untersuchungen wurden an den Organen der Kontrollgruppe und der höchsten überlebenden Dosisgruppe sowie bei den vorzeitig verendeten Tieren durchgeführt und, soweit erforderlich, zur Festlegung eines no observed effect level (NOEL) auch bei den niedrigeren Dosisgruppen. Mit dem Blut aller überlebenden Tiere wurden umfangreiche hämatologische und klinisch-chemische Untersuchungen durchgeführt und im Urin die Konzentrationen an Glukose, Eiweiß, Harnstoff und Kreatinin sowie die Aktivitäten der alkalischen Phosphatase und der Laktatdehydrogenase gemessen. Von der Gruppe, die 10000 ppm Diethanolamin im Trinkwasser erhalten hatte, starben alle Weibchen am 4. bzw. 6. Tag und 2 Männchen am 14. Tag der Behandlung. In der 5000 ppm-Gruppe starben ebenfalls alle Weibchen am 5. bzw. 8. Tag der Behandlung, während die Männchen überlebten. Weitere Todesfälle traten nicht auf. Die Körpergewichtsentwicklung war bei den Weibchen ab 1250 ppm und bei den Männchen ab 5000 ppm dosisabhängig verlangsamt. Der Wasserverbrauch war bei allen behandelten Tieren um 10 bis 15 % reduziert. Die Behandlung der Ratten mit Diethanolamin führte zu einer mäßigen normochromen, mikrozytären Anämie bei beiden Geschlechtern; es kam zu einer dosisabhängigen Abnahme der Zahl der Erythrozyten und Retikulozyten sowie der Hämoglobinkonzentration und des Hämatokrits. Die Serumkonzentrationen von Kreatinin, Gesamtprotein, Albumin und Gallensäuren waren unter der Behandlung mit Diethanolamin erhöht (keine weiteren Angaben). Bei beiden Geschlechtern traten nach der Gabe von Diethanolamin dosisabhängig Nierenschäden auf. Das absolute und das relative Nierengewicht waren erhöht und bei höheren Diethanolamin-Konzentrationen (Weibchen ab 2500 ppm, Männchen ab 10000 ppm) wurden Nekrosen des Nierentubulusepithels beobachtet. Im Urin stie-

gen die Konzentrationen an Harnstoff, Glukose und Eiweiß sowie die Laktatdehydrogenase-Aktivität dosisabhängig an. Bei allen Männchen, die 10000 ppm Diethanolamin im Trinkwasser erhalten hatten, zeigte sich eine schwache bis deutliche Degeneration der Hodenkanälchen (Tubuli seminiferi) mit Atrophie der Tubuli und Abnahme der Zahl an spermatogenen Zellen. Es erschien eine große Zahl von degenerierten Zellen im Lumen der Nebenhodenkanälchen. Da auch die niedrigste eingesetzte Trinkwasserkonzentration noch Effekte an der Niere und Veränderungen des Blutbildes hervorrief, konnte in dieser Untersuchung kein no observed adverse effect level (NOAEL) für Diethanolamin bestimmt werden (NTP, 1992).

An Mäusen wurde ebenfalls eine Dosisfindungsstudie für einen 13-Wochen-Versuch mit oraler Verabreichung durchgeführt. Gruppen von je 5 weiblichen und 5 männlichen 6 Wochen alten B6C3F1-Mäusen (19 bzw. 21 g schwer) wurden Lösungen von Diethanolamin (> 99 % rein) in Wasser, die mit Salzsäure auf pH 7,4 eingestellt worden waren, als einziges Trinkwasser für 14 Tage angeboten. Die verschiedenen Diethanolamin-Konzentrationen betragen 0 (Kontrollen), 630, 1250, 2500, 5000 und 10000 ppm. Aus dem gemessenen Trinkwasserverbrauch und den Körpergewichten der Tiere errechneten sich tatsächliche mittlere Dosierungen für die Männchen/Weibchen von 110/197, 205/326, 415/793, 909/1399 bzw. 1362/2169 mg/kg Körpergewicht. Alle Tiere wurden einzeln gehalten. Nach 14 Tagen Behandlung wurde Blut entnommen und alle Tiere wurden der Autopsie zugeführt. Gehirn, Herz, rechte Niere, Leber, Lunge, rechter Hoden und Thymus wurden gewogen. Histopathologische Untersuchungen wurden an den Organen der Kontrollgruppe und der höchsten Dosisgruppe und, soweit erforderlich, zur Festlegung eines no observed effect level (NOEL) auch bei den niedrigeren Dosisgruppen durchgeführt. Mit dem Blut wurden umfangreiche hämatologische und klinisch-chemische Untersuchungen durchgeführt. Alle Mäuse überlebten bis zum Ende der Behandlung. Äußere Anzeichen für eine toxische Wirkung wurden nur bei der höchsten Konzentration von 10000 ppm beobachtet. Hier zeigten die Tiere ein raues Haarkleid und abnorme Körperhaltung. Auch die Körpergewichte waren in dieser Gruppe reduziert und der Wasserverbrauch war eingeschränkt. Bei der Autopsie wurden keine behandlungsbedingten makroskopischen Veränderungen beobachtet. Das Lebergewicht war absolut und relativ dosisabhängig erhöht. In Korrelation dazu traten geringgradige Veränderungen im Lebergewebe auf (Zellvergrößerung, gesteigerte zytoplasma-

tische Eosinophilie, Einzelzellnekrosen). Deutliche Unterschiede zwischen Männchen und Weibchen wurden nicht beobachtet. Alle anderen erhobenen Daten der behandelten Tiere unterschieden sich nicht von den Kontrollen (NTP, 1992).

In einer Untersuchung zur Dosisfindung für eine dermale 13-Wochen-Studie wurde F344/N-Ratten in Gruppen von je 5 weiblichen und 5 männlichen Tieren Diethanolamin (> 99 % rein, in 95 % Ethanol gelöst) täglich mit Ausnahme der Wochenenden über 16 Tage (12 Applikationen) auf die geschorene Rückenhaut ohne Abdeckung in Dosierungen von 0 (Kontrollen), 125, 250, 500, 1000 bzw. 2000 mg/kg Körpergewicht verabreicht. Die Tiere wurden einzeln gehalten, die Körpergewichtsentwicklung wurde gemessen und am 12. Behandlungstag wurde der Urin von jedem Tier über 16 Stunden gesammelt. Am Ende der Behandlungszeit wurde retroorbital Blut entnommen und alle Tiere wurden makroskopisch-pathologisch untersucht. Gehirn, Herz, rechte Niere, Leber, Lunge, rechter Hoden und Thymus wurden gewogen. Histopathologische Untersuchungen wurden an den Organen einschließlich der Haut des Applikationsortes der Tiere der Kontrollgruppe und der höchsten überlebenden Dosisgruppe (1000 mg/kg Körpergewicht) sowie bei den vorzeitig verendeten Tieren durchgeführt und, soweit erforderlich, zur Festlegung eines no observed effect level (NOEL) auch bei den niedrigeren Dosisgruppen. Mit dem Blut aller überlebenden Tiere wurden umfangreiche hämatologische und klinisch-chemische Untersuchungen durchgeführt und im Urin die Konzentrationen an Glukose, Eiweiß, Harnstoff und Kreatinin sowie die Aktivitäten der alkalischen Phosphatase und der Laktatdehydrogenase gemessen. Nach Applikation der höchsten Dosis von 2000 mg/kg Körpergewicht starben alle Weibchen (4 am 5. Tag und eines am 15. Tag der Behandlung) und 3 der Männchen (am 6., 8. und 14. Tag der Behandlung). In der 1000 mg/kg Körpergewicht-Gruppe starb ein Weibchen am 5. Behandlungstag. Alle anderen Tiere überlebten. Die Körpergewichtsentwicklung der Männchen und der Weibchen in den beiden höchsten Dosisgruppen war deutlich reduziert. Wie bei der Untersuchung mit oraler Verabreichung führte auch hier die Behandlung der Ratten mit Diethanolamin zu einer mäßigen normochromen, mikrozytären Anämie bei beiden Geschlechtern. Dosisabhängig kam es zu einer Abnahme der Zahl der Erythrozyten und Retikulozyten sowie der Hämoglobinkonzentration und des Hämatokritwertes. Der beobachtete Anstieg der Zahl der Leukozyten wurde auf entzündliche Prozesse am Applikationsort zurückgeführt.

Wie nach der oralen Applikation von Diethanolamin traten auch hier bei beiden Geschlechtern Nierenschäden auf. Das absolute und das relative Nierengewicht waren dosisabhängig erhöht und an den vorzeitig verendeten Tieren wurden Nekrosen des Nierentubulusepithels beobachtet. Im Urin waren bei beiden Geschlechtern der Gehalt an Harnstoff, Glukose und Eiweiß dosisabhängig erhöht sowie die Aktivität der Laktatdehydrogenase in den beiden höchsten Dosisgruppen gesteigert. Im Applikationsbereich wurden bei allen behandelten Tieren dosisabhängig Veränderungen an der Haut bis hin zu Nekrosen gesehen. Zu starken Entzündungen und Verkrustungen der Haut kam es ab einer Dosis von 500 mg/kg Körpergewicht. Bei den niedrigeren Dosierungen wurde Hyperkeratose beobachtet. Bei 4 der 5 männlichen Ratten, die mit der höchsten Dosis von 2000 mg/kg Körpergewicht behandelt worden waren, zeigte sich eine schwache bis mäßige Degeneration der Hodenkanälchen (Tubuli seminiferi) mit den gleichen morphologischen Veränderungen wie nach der Gabe von Diethanolamin mit dem Trinkwasser. Wie schon bei der Trinkwasserstudie konnte auch bei dieser dermalen Studie wegen der noch in der niedrigsten Dosis auftretenden Effekte an der Niere und der Veränderungen des Blutbildes kein no observed adverse effect level (NOAEL) festgelegt werden (NTP, 1992).

In einer Untersuchung zur Dosisfindung für eine dermale 13-Wochen-Studie an B6C3F1-Mäusen wurde Gruppen von je 5 männlichen und 5 weiblichen Mäusen Diethanolamin (> 99 % rein, in 95 % Ethanol gelöst) täglich mit Ausnahme der Wochenenden über 16 Tage (12 Applikationen) auf die geschorene Rückenhaut ohne Abdeckung in Dosierungen von 0 (Kontrollen), 160, 320, 630, 1250 oder 2500 mg/kg Körpergewicht verabreicht. Die Tiere wurden einzeln gehalten und die Körpergewichtsentwicklung wurde gemessen. Am Ende der Behandlungszeit wurde retroorbital Blut entnommen und alle Tiere, auch die vorzeitig verendeten, wurden makroskopisch-pathologisch untersucht. Gehirn, Herz, rechte Niere, Leber, Lunge, rechter Hoden und Thymus wurden gewogen. Histopathologische Untersuchungen wurden an den Organen einschließlich der Haut des Applikationsortes der Kontrollgruppe und der höchsten überlebenden Dosisgruppe sowie bei den vorzeitig verendeten Tieren durchgeführt und, soweit erforderlich, zur Festlegung eines no observed effect level (NOEL) auch bei den niedrigen Dosisgruppen. Mit dem Blut aller überlebenden Tiere wurden umfangreiche hämatologische und klinisch-chemische Untersuchungen durchgeführt. In der höchsten Dosisgruppe starben alle männlichen Tiere zwischen dem 11.

und 14. Tag der Untersuchung und 3 der weiblichen Tiere im gleichen Zeitraum. In den anderen Dosisgruppen entsprach die Körpergewichtsentwicklung der der Kontrollen und Intoxikationserscheinungen wurden nicht beobachtet. An der Haut des Applikationsortes wurden bei den Männchen ab 1250 mg/kg Körpergewicht und bei den Weibchen ab 2500 mg/kg Körpergewicht mäßige bis deutliche Entzündungen, Ulzerationen und Verkrustungen beobachtet. Eine geringe Akanthose trat in allen Dosisgruppen bis zur niedrigsten Dosis von 160 mg/kg Körpergewicht auf und war in den beiden höchsten Dosisgruppen verstärkt. Die absoluten und relativen Lebergewichte waren ab einer Dosis von 320 mg/kg Körpergewicht dosisabhängig erhöht. Die histopathologischen Befunde beschränkten sich jedoch auf minimale Veränderungen der Hepatozyten bei den Mäusen der höchsten Dosisgruppe (Zellvergrößerung, vermehrte Eosinophilie). Alle anderen bei den behandelten Tieren erhobenen Daten entsprachen denen der Kontrolle (NTP, 1992).

Die kurzzeitige Inhalation von hohen Konzentrationen an Diethanolamin-Dämpfen (200 ppm, entsprechend 874 mg/m³) oder -Aerosol (1400 ppm, entsprechend 6118 mg/m³) führte zu Atemschwierigkeiten und einigen Todesfällen bei Ratten. Die kontinuierliche Inhalation von 25 ppm Diethanolamin (entsprechend 109 mg/m³) über 216 Stunden (9 Tage) bewirkte einen Anstieg des Lebergewichtes, eine erhöhte Aspartataminotransferase-Aktivität im Serum, einen Anstieg des Nierengewichtes und eine Erhöhung des Blut-Harnstoff-Stickstoffs (keine weiteren Angaben; Hartung et al., 1970).

Gruppen von je 10 männlichen und 10 weiblichen Wistar-Ratten (Chbb:THOM) wurden in einer Dosisfindungsstudie zu einer 90-Tage-Untersuchung mit Diethanolamin (99,5 % rein) in Form eines Aerosols täglich an 5 Tagen/Woche über 14 Tage inhalativ entsprechend der OECD-Richtlinie Nr. 412 behandelt. Die Tiere waren zu Versuchsbeginn 7 Wochen alt und hatten ein mittleres Gewicht von 218 g (Männchen) bzw. 166 g (Weibchen). Die Konzentrationen von 100, 200 oder 400 mg/m³ wurden den Tieren mit einem Kopf-Nasen-Expositionssystem über 6 Stunden täglich verabreicht. Eine gleichgroße Tiergruppe wurde als Kontrolle mit reiner Luft behandelt. Alle Tiere im Versuch wurden einzeln gehalten. Körpergewichtsbestimmungen und Beobachtungen von klinischen Zeichen an den Tieren wurden entsprechend der OECD-Richtlinie durchgeführt. Eine ausführliche Untersuchung auf neurotoxische Effekte wurde entsprechend der „Functional Observational Battery“ der EPA an allen behandelten Tieren und den

Kontrollen durchgeführt (siehe auch Kapitel 7.10). Am Ende der Behandlungszeit wurde von 5 weiblichen und 5 männlichen Tieren jeder Gruppe Blut aus der Retroorbitalvene entnommen, mit dem umfangreiche hämatologische und klinisch-chemische Untersuchungen entsprechend der Richtlinien durchgeführt wurden. Auch die Blutgerinnung wurde mit dem Hepato-Quick-Test bestimmt. Von jeder Gruppe wurden je 3 weibliche und 3 männliche Tiere am Ende der Behandlungszeit durch Perfusion mit Soerensen's Phosphatpuffer und Karnovsky-Fixativ getötet und entsprechend der EPA-Richtlinien „Neuropathology“ auf neurotoxikologische Effekte untersucht. 5 weitere Tiere jeden Geschlechts und jeder Gruppe wurden makroskopisch-pathologisch und histopathologisch entsprechend der OECD-Richtlinie Nr. 412 untersucht. Alle Tiere überlebten bis zum Ende der Behandlungszeit und zeigten keine Vergiftungserscheinungen. Die höchste Konzentration von 400 mg Diethanolamin/m³ führte bei den männlichen Ratten zu einem leichten Absinken des Körpergewichtes und einer geringen Verlangsamung der Körpergewichtsentwicklung. Bei dieser Konzentration wurde auch bei beiden Geschlechtern ein leichtes Absinken des Cholesteringehaltes im Serum beobachtet und bei den Weibchen ein signifikanter Anstieg des relativen Lebergewichtes sowie eine Tendenz zur Erhöhung des absoluten Lebergewichtes. Alle anderen Untersuchungen einschließlich der neurotoxikologischen Befundungen ergaben keine durch die Inhalation von Diethanolamin bewirkten Abweichungen von den an Kontrollen erhobenen Daten (siehe auch Kapitel 7.10; BASF, 1993 a).

Die wiederholte intraperitoneale Applikation von 250 mg Diethanolamin/kg Körpergewicht führte zum Anstieg des Lebergewichtes, verbunden mit einem Absinken des Gesamtlipidgehaltes der Leber bei Ratten (keine weiteren Angaben; Hartung et al., 1970).

Die tägliche intraperitoneale Injektion von Diethanolamin über 2 bis 48 Tage an weiße Mäuse führte in der Leber der Tiere zu einem Anstieg des Glykogengehaltes und einem Absinken der Gesamtlipide. Gewicht und Größe sowie der Wassergehalt der Leber waren erhöht. In der Regel reichte eine über 3 Tage durchgeführte Behandlung aus, um die Effekte zu erzeugen. Längere Behandlungen führten zu keiner Effektsteigerung. Diethanolamin wurde als Hydrochlorid in Dosierungen von 6, 8 bzw. 12 mg/Tier in maximal 0,4 ml Wasser verabreicht. Eine Dosisabhängigkeit der Effekte auf die Leber bestand nur beim Lebergewicht. Die Untersuchungen wurden

am letzten Behandlungstag nach einer Fastenperiode von 5 Stunden durchgeführt (keine weiteren Angaben; Annau et al., 1950).

7.3 Haut- und Schleimhautverträglichkeit

In einer orientierenden Prüfung auf Hautreizwirkung wurden unverdünntes Diethanolamin oder eine 20-prozentige Diethanolamin-Lösung in Wasser (pH-Wert > 10) für 1, 5 oder 15 Minuten auf den Rücken von Kaninchen appliziert und anschließend die behandelten Hautstellen mit einer 25-prozentigen wässrigen Lutrol-Lösung, der 5 % Essigsäure zugesetzt waren, abgewaschen. Mit der genannten Versuchsanordnung konnten keine sichtbaren Reizerscheinungen ausgelöst werden (keine weiteren Angaben; BASF, 1956).

In einer weiteren Prüfung auf Hautreizwirkung wurde unverdünntes Diethanolamin auf die Rückenhaut von Kaninchen aufgebracht und dort 1, 5 oder 15 Minuten bzw. 20 Stunden belassen. 24 Stunden nach Applikationsende wurden bei den Einwirkungszeiten bis zu 15 Minuten keine Reizerscheinungen beobachtet. Wirkte unverdünntes Diethanolamin 20 Stunden auf die Rückenhaut von Kaninchen ein, so wurden nach 24 Stunden eine leichte Rötung, starke Ödembildung und leichte fleckige Nekrosen der Haut festgestellt. Nach 8 Tagen wurden noch leichte Nekrosen und starke Schuppenbildung gesehen. Auf die Haut des Kaninchenohrs für 20 Stunden aufgetragenes unverdünntes Diethanolamin zeigte keine Reizwirkung (keine weiteren Angaben; BASF, 1966). Diethanolamin ist danach als reizend an der Haut zu bezeichnen.

Eine weitere Prüfung von Diethanolamin auf akute Hautreizwirkung erfolgte an der geschorenen Rückenhaut weißer Kaninchen mit 1, 5 oder 15 Minuten Einwirkungszeit (Läppchentest) sowie im 20-Stunden-Versuch an der Rückenhaut und der Haut des Kaninchenohrs. Nach der kurz dauernden Applikation wurde die Haut zunächst mit unverdünntem Lutrol 9 und anschließend mit einer 50-prozentigen wässrigen Lutrol-Lösung abgewaschen. Nach 20-stündiger Einwirkung wurden die Substanzreste nicht abgewaschen. Der Befund wurde bei Abnahme der Testläppchen sowie nach 1, 3 und 8 Tagen kontrolliert. Diethanolamin führte bei 1 bis 15 Minuten langer Einwirkung nur zu einer angedeuteten Hautrötung. Die 20-stündige Applikation bewirkte an der Rückenhaut eine deutliche Rötung und leichte Schwellung mit zum Teil fleckigen, anämischen oberflächlichen Nekrosen, die sich in Form von groben, pergamentartigen Schuppen abstießen. An

der Haut des Kaninchenohrs kam es nach 20-stündiger Einwirkung zu einer leichten Rötung mit umschriebenen oberflächlichen, bis linsengroßen Krusten (keine weiteren Angaben; BASF, 1967). Auch in dieser Untersuchung erwies sich Diethanolamin als reizend für die Haut.

An weißen Neuseeland-Kaninchen (2,5 bis 3,8 kg schwer) wurde die Hautreizwirkung von Diethanolamin (98 % rein) an der geschorenen und der nicht geschorenen Haut untersucht. Es wurden die französischen Richtlinien für die Prüfung von Haut- und Augenreizwirkungen angewendet. Diethanolamin erwies sich als mäßig reizend (Score 2,6 von bis zu maximal 8) bei allen Tieren mit geschorener bzw. ungeschorener Haut, aber der Effekt war auf der geschorenen Haut deutlich stärker ausgeprägt. Nach 72 Stunden zeigte sich eine Tendenz zur Abnahme der Ödeme und Zunahme der Erytheme (keine weiteren Angaben; Dutertre-Catella et al., 1982). Auch nach dieser Untersuchung wirkte Diethanolamin reizend an der Haut.

Berichtet wird auch von Untersuchungen zur Hautreizwirkung von Diethanolamin an Kaninchen, bei denen 50- und 30-prozentige Lösungen des Stoffes auf die intakte und die skarifizierte, geschorene Rückenhaut semiokklusiv aufgetragen und die Befunde 24 und 72 Stunden später erhoben wurden. Bei jeweils 6 Tieren/Konzentration wurde eine mittlere Bewertungsziffer nach Draize von 0,29 bzw. 0,17 gefunden. Die verwendeten Diethanolamin-Lösungen wurden als nicht reizend bewertet (keine weiteren Angaben; Anonym, 1983).

Weiterhin wurden Kaninchen mit 0,1 ml reinem Diethanolamin oder mit einer 10-prozentigen Lösung von Diethanolamin in Wasser behandelt. Das reine Diethanolamin oder die wässrige Lösung wurden innerhalb von 14 Tagen 10-mal auf das Ohr der Tiere oder 10-mal hintereinander 24 Stunden lang semiokklusiv auf die geschorene Bauchregion appliziert. Mit reinem Diethanolamin zeigte sich am Ohr nach 10 Verabreichungen und an der Bauchregion nach 3 Verabreichungen eine Denaturierung der Haut, die von den Autoren als „mäßige Reizung“ angesehen wurde (keine weiteren Angaben; Anonym, 1983).

6 Kaninchen wurde unverdünntes Diethanolamin in einer Menge von 0,5 ml einmalig auf die Flankenhaut appliziert und dort unter einem Okklusivverband 4 Stunden belassen. Anschließend wurde die Applikationsstelle sorgfältig gereinigt und die Tiere wurden nach 1, 24, 42 und 69 Stunden befundet. Bei allen Tieren zeigten sich nach 1 und 24 Stunden leichte bis mäßige

Erytheme und Ödeme, die sich bei einigen Tieren noch bis zu 69 Stunden nachweisen ließen, nach 5 bis 6 Tagen aber vollständig abgeklungen waren. Die Autoren sprachen von einer „leichten Hautreizwirkung“ (ICI, 1985).

Die Hautreizwirkung von Diethanolamin wurde auch an Meerschweinchen in einer vergleichenden Studie mit 20 anderen Stoffen untersucht. Diethanolamin erwies sich als nicht reizend (keine weiteren Angaben; Kharchenko und Ivanova, 1980).

Zur Bestimmung der augenreizenden und -schädigenden Wirkung wurde in einer breit angelegten Studie auch Diethanolamin untersucht. In je ein Auge von 5 augengesunden Kaninchen wurden 0,005 oder 0,02 ml unverdünntes Diethanolamin direkt auf die Cornea appliziert. Die Lider wurden danach noch für eine Minute offen gehalten. 18 bis 24 Stunden später wurden die Augen vor und nach der Anfärbung mit Fluorescein begutachtet. Die erhobenen Befunde wurden in ein Klassifizierungssystem eingeordnet, das die am Auge auftretenden verschiedenen Schäden in Einzelscores, die sich auf einen Gesamtscore von maximal 20 aufsummieren können, einteilt und die untersuchten Stoffe unter Heranziehung der Schäden auslösenden Stoffmengen in 10 Gruppen nach ihrer Gefährlichkeit für das Auge zusammenfasst. Diethanolamin bewirkte in der beschriebenen Versuchsanordnung bei einer Gabe von 0,005 ml Augenschäden mit einem Gesamtscore unter 5, d. h. die Hornhaut war auf einer Fläche < 63 % nekrotisch, und bei 0,02 ml von über 5. Es wurde damit in die Gruppe 5 des Systems eingestuft (keine weiteren Angaben; Carpenter und Smyth, 1946).

Eine Prüfung zur Schleimhautreizwirkung von Diethanolamin am Kaninchenauge, bei der einmalig 0,05 ml des unverdünnten Stoffes in den Bindehautsack des Auges gegeben wurde, ergab nach einer Beobachtungszeit von einer Stunde starke Rötung, Ödembildung und Hornhauttrübung sowie Schleimhautblutungen. Diese Befunde wurden in unverminderter Stärke auch nach 24 Stunden Beobachtungszeit festgestellt. Starke Rötung der Augen und Hornhauttrübung waren auch noch nach 8 Tagen vorhanden, daneben Narbenbildung und Schleimhautblutungen (keine weiteren Angaben, BASF, 1966). Somit hatte Diethanolamin eine ätzende Wirkung am Auge mit der Gefahr ernster Augenschäden.

Bei einer weiteren Untersuchung auf akute Schleimhautreizwirkung wurde ein Tropfen des unverdünnten Diethanolamins in den Bindehautsack des

Kaninchenauges eingebracht und gleichmäßig über die Augenoberfläche verteilt. Nach 10 Minuten, 1 und 24 Stunden sowie nach 3 und 8 Tagen wurde eine Befundung durchgeführt. Diethanolamin bewirkte graurote, oberflächliche Verätzung der Bindehäute mit Schleimhautblutungen, Rötung, Schwellung und schleierartige Hornhauttrübung, aus der sich eine milchige Trübung entwickelte. Außerdem kam es zu einer Narbenbildung an den Lidern. Die Autoren bewerteten den Stoff als „ätzend“ (BASF, 1967).

Ohne Angabe der verwendeten Untersuchungsmethode wurde die reizende Wirkung auf das Kaninchenaugen als „schwer“ bezeichnet. Eine 40-prozentige Lösung führte noch zu schweren Effekten am Auge der Tiere (keine weiteren Angaben; Eastman Kodak, 1982).

In einer Untersuchung zur Augenreizwirkung an weißen Neuseeland-Kaninchen (2,5 bis 2,8 kg schwer), die nach den französischen Richtlinien für die Prüfung der Haut- und Augenreizwirkung durchgeführt wurde, bewirkte Diethanolamin (98 % rein) eine starke Reizung der Iris, der Cornea und der Konjunktiva. Nach einer Beobachtungszeit von 24 Stunden wurde ein Score von > 50 (bei maximal 110) ermittelt und nach 48 Stunden von 56. Die Reizwirkung ging nur sehr langsam etwas zurück und wurde nach 7 Tagen noch mit einem Score von 41 bewertet (keine weiteren Angaben; Dutertre-Catella et al., 1982). Nach diesen Befunden besitzt Diethanolamin eine starke Augenreizwirkung mit der Gefahr ernster Augenschäden.

Weiterhin wurde von einer Untersuchung berichtet, bei der je 6 Kaninchen 0,2 ml einer 30- oder 50-prozentigen Lösung von Diethanolamin (> 99 % rein) in den Bindehautsack des Auges appliziert erhielten. Die Augen wurden nach 15 Sekunden ausgespült. Während die 30-prozentige Lösung in dieser Versuchsanordnung keine Reizwirkung auf das Auge hatte, kam es mit der 50-prozentigen Diethanolamin-Lösung zu mäßigen bis schweren Reizungen der Bindehaut und zu Schädigungen der Cornea mit leichter Rötung der Iris. Die Veränderungen heilten innerhalb von 7 Tagen ab. Die Autoren sahen den Stoff damit als „stark reizend“ an (keine weiteren Angaben; Anonym, 1983).

7.4 Sensibilisierende Wirkung

In einer vergleichenden Studie mit 20 anderen Stoffen wurde Diethanolamin auf seine sensibilisierenden Eigenschaften am Meerschweinchen un-

tersucht. Es wurde ein Epikutantest angewendet. In diesem Test besaß Diethanolamin keine sensibilisierenden Eigenschaften an der Haut (keine weiteren Angaben; Kharchenko und Ivanova, 1980).

An 8 Wochen alten weiblichen Meerschweinchen (Himalaja spotted, 296 bis 369 g schwer) wurde ein Maximierungstest nach Magnusson und Kligman entsprechend der OECD-Richtlinie Nr. 406 durchgeführt. Die Testgruppe bestand aus 20 Tieren, die Kontrollgruppe aus 10 Tieren für die erste Auslösung und 10 Tieren für die zweite Auslösung, die sich aber nicht als notwendig erwies. Für die intradermale Induktion wurde eine 5-prozentige Lösung von Diethanolamin „rein“ in physiologischer Kochsalzlösung verwendet, für die epidermale Induktion eine 75-prozentige Lösung. Beide Lösungen wirkten bei der jeweiligen Applikationsform leicht reizend auf die Haut. Die Auslösung erfolgte mit einer nicht reizenden 25-prozentigen Lösung von Diethanolamin. Nach einem Beobachtungszeitraum von 24 Stunden nach der Auslösung zeigten 2 der 20 Tiere der Testgruppe leichte Erytheme (Score 1 von 4) und nach 48 Stunden noch ein Tier. Bei den Kontrolltieren wurden keinerlei Effekte beobachtet. Der Stoff wurde als eindeutig nicht sensibilisierend bezeichnet (RCC, 1990).

Ein weiterer Maximierungstest mit weißen Meerschweinchen (Dunkin-Hartley-Stamm) wurde mit Mono-, Di- und Triethanolamin durchgeführt, um deren Sensibilisierungspotenzial und eine mögliche Kreuzreaktivität zu prüfen. Gruppen von je 15 Tieren wurden eingesetzt und mit je einem der drei Amine behandelt. Die Auslösung erfolgte in jeder Gruppe mit allen drei Aminen. Reines Diethanolamin, das 0,1 % Monoethanolamin und weniger als 0,1 % Triethanolamin enthielt, wurde in Wasser gelöst verabreicht. Intradermal wurde eine 1-prozentige Lösung appliziert und epidermal eine 17,6-prozentige Lösung (pH der Lösung 9,8), nachdem der Applikationsbereich mit einer 10-prozentigen Dodecylsulfat-Lösung vorbehandelt worden war. Für die Auslösung wurden 7-, 3,5- und 0,7-prozentige Lösungen von Diethanolamin und äquimolare Lösungen von Mono- und Triethanolamin verwendet. In keinem Fall trat bei der Befundung 48 oder 72 Stunden nach der Auslösung ein signifikanter Unterschied des Effektes bei den behandelten Tieren gegenüber den Kontrolltieren auf, sodass die Autoren sicher waren, dass Diethanolamin in der durchgeführten Prüfung keine hautsensibilisierende Wirkung besaß und auch keine Kreuzreaktion mit den anderen beiden Aminen stattfand (Wahlberg und Boman, 1996).

Diethanolamin wurde gemeinsam mit 3 Stoffen, die als mäßig hautsensibilisierend am Menschen bekannt sind (Tetramethylthiuramdisulfid, 2-Mercaptobenzothiazol, Zinkdimethyldithiocarbamat) in einem modifizierten lokalen Lymphknotentest (local lymph node assay, LLNA) auf seine sensibilisierenden Eigenschaften geprüft. Gruppen von je 3 bis 4 männlichen und weiblichen Mäusen (BALB/c, 6 bis 8 Wochen alt) wurden an 3 aufeinander folgenden Tagen an jedem Ohr täglich mit 25 µl unterschiedlich konzentrierter Lösungen von Diethanolamin in Aceton/Olivenöl 4 : 1 behandelt. 5 Tage nach Beginn der Behandlung wurden die Tiere getötet, die Lymphknoten der Ohren präpariert und die Lymphknotenzellen als Einzelzellsuspension gewonnen. Zur Bestimmung der Proliferation dieser Zellen wurden diese unter Zusatz von ³H-Methylthymidin 24 Stunden bei 37 °C inkubiert. Anschließend wurde die in die DNA eingebaute Radioaktivität gemessen. Der Proliferationsindex wurde als ein Vielfaches der von nur mit dem Vehikel behandelten Tieren erhaltenen Daten ausgedrückt. Weiterhin wurden Lymphknotenzellsuspensionen von mit Diethanolamin behandelten Mäusen 24 Stunden unter Zusatz von Concanavalin A bei 37 °C inkubiert und anschließend im Überstand der Zellsuspension die Konzentrationen der Zytokine Interleukin-4 und Interferon-γ bestimmt. Mit den drei anderen Stoffen wurde in gleicher Weise verfahren. Während Tetramethylthiuramdisulfid und Zinkdimethyldithiocarbamat in Konzentrationen von 1 bis 5 % deutliche und dosisabhängige Effekte auf die Proliferation der Lymphknotenzellen zeigten (Proliferationsindex bis 30), ergaben 2-Mercaptobenzothiazol und Diethanolamin in Konzentrationen von bis zu 25 bzw. 30 % widersprüchliche Ergebnisse. Für Diethanolamin lag der Proliferationsindex in 4 unabhängigen Untersuchungen mit einer Konzentration von 20 % zwischen 1,2 und 3,7, wobei Werte ≥ 3 als positiv angesehen wurden. Wurden die Applikationsstellen eine Stunde vor dem Auftragen des zu prüfenden Stoffes mit einer 10-prozentigen Lösung von Natriumdodecylsulfat in Aceton/Olivenöl 4 : 1 behandelt, so wurde die Wirkung aller untersuchten Stoffe auf die Proliferation der Lymphknotenzellen deutlich verstärkt. Eine 20-prozentige Diethanolamin-Lösung ergab unter diesen Bedingungen einen Proliferationsindex von 20,1. Allerdings zeigte auch das Natriumdodecylsulfat eine deutliche Wirkung mit einem Proliferationsindex von bis zu 14,8, sodass das Ergebnis für eine Beurteilung von Diethanolamin nicht herangezogen werden konnte. Verwendete man eine 1-prozentige Lösung von Natriumdodecylsulfat, so wurde ohne weitere Behandlung keine Steigerung der Proliferation der Lymphknotenzellen beobachtet. Eine Vorbehandlung

des Applikationsortes mit dieser Konzentration führte aber auch zu keiner relevanten Erhöhung des Proliferationsindex von Diethanolamin oder 2-Mercaptobenzothiazol. Die Untersuchungen zur Produktion von Zytokinen in Suspensionen von behandelten Lymphknotenzellen, für die jeweils 4 bis 10 Mäuse/Gruppe eingesetzt wurden, ergaben ein vergleichbares Ergebnis wie die Untersuchung der Zellproliferation. Ohne Vorbehandlung steigerten nur Tetramethylthiuramdisulfid und Zinkdimethyldithiocarbamat die Konzentration von Interleukin und Interferon, während Diethanolamin und 2-Mercaptobenzothiazol wirkungslos waren. Nur nach Vorbehandlung mit 10-prozentigem Natriumdodecylsulfat kam es bei 6 von 8 Tieren zu einer deutlichen Erhöhung der Zytokine, während Natriumdodecylsulfat allein nur bei einem von 8 Tieren die Zytokin-Produktion erhöhte. Die Autoren bewerteten ihre Befunde als synergistische Wirkung zwischen Diethanolamin und Natriumdodecylsulfat. Aus ihrer Sicht zeigte Diethanolamin nach Vorbehandlung der Haut mit Natriumdodecylsulfat eine sensibilisierende Wirkung im lokalen Lymphknotentest (De Jong et al., 2002).

7.5 Subchronische und chronische Toxizität

Neutralisiertes Diethanolamin, im Trinkwasser in einer Konzentration von 4 mg/ml über 7 Wochen verabreicht, bewirkte viele Todesfälle bei Ratten. Leber- und Nierenschäden wurden beobachtet. Der eindeutigste Befund war eine deutlich ausgeprägte normozytäre Anämie ohne Beeinträchtigung des Knochenmarks und ohne deutlichen Anstieg der Zahl an Retikulozyten. Diese Befunde wiesen nach Ansicht der Autoren auf eine deutliche chronische Toxizität von Diethanolamin hin (keine weiteren Angaben; Hartung et al., 1970).

Gruppen von je 5 männlichen und 5 weiblichen Ratten erhielten Diethanolamin in Konzentrationen von 0,25, 0,5, 1, 2 oder 4 % im Futter (aufgenommene Menge 171, 350, 680, 560 oder 580 mg/kg Körpergewicht) verabreicht. Als Kontrolle diente eine unbehandelte Gruppe von 10 männlichen und 10 weiblichen Ratten. Die Ausgangsgewichte der Männchen lagen bei 100 g, die der Weibchen um 90 g. Die mit den beiden höchsten Konzentrationen behandelten Tiere starben zwischen dem 4. und 6. Behandlungstag. Bei einer Konzentration von 1 % Diethanolamin im Futter (entsprechend 680 mg/kg Körpergewicht) überlebten die Tiere im Mittel 23 Behandlungstage und bei einer Konzentration von 0,5 % (entsprechend 350 mg/kg Kör-

pergewicht) 30 Tage. Die mit einer Konzentration von 0,25 % (entsprechend 171 mg/kg Körpergewicht) behandelten Tiere überlebten die volle Versuchsdauer von 90 Tagen, bis auf ein Tier dieser Gruppe, das am 31. Behandlungstag starb. Häufigste Todesursache war eine Lungeninfektion, die bei 7 von 10 Tieren der 350 mg/kg Körpergewicht-Gruppe und bei 5 von 10 Tieren der 171 mg/kg Körpergewicht-Gruppe auftrat. Auch 2 Tiere der Kontrollgruppe starben an Lungeninfektion. Die überlebenden Tiere der niedrigsten Konzentrationsgruppe hatten erhöhte absolute und relative Leber- und Nierengewichte. Bei 25/26 Tieren, die eine längerfristige Behandlung überlebten, wurden histopathologisch trübe Schwellungen und Degeneration der Nierentubuli und bei 7/26 Tieren eine frühe fettige Degeneration der Leber beobachtet. Wegen der zahlreichen Todesfälle wurde die Untersuchung mit niedrigeren Konzentrationen an Diethanolamin im Futter wiederholt. Es wurden 0,0075, 0,030, 0,125 oder 0,5 % (entsprechend 5,1, 20, 90 oder 390 mg/kg Körpergewicht, errechnet aus dem tatsächlichen Futtermittelverbrauch und dem Körpergewicht der Tiere) eingesetzt. Auch bei diesem Wiederholungsversuch starben eine Reihe von Tieren an Lungeninfektion: 3/10 in der Kontrollgruppe, 7/10 in der höchsten Konzentrationsgruppe und je 2 bis 3/10 in den anderen Behandlungsgruppen. Die Tiere, die 90 Tage überlebten, zeigten am Ende der Behandlung erhöhte Leber- und Nierengewichte in den beiden höchsten Dosisgruppen. Es wurden aber keine anderen deutlichen Effekte beobachtet. Die Autoren gaben als no effect level (NOEL) zwischen 0,125 und 0,25 % (entsprechend 90 bzw. 171 mg/kg Körpergewicht) an (Mellon Institute, 1950; Smyth et al., 1951). Die Studie hat wegen der zahlreichen und nicht testsubstanzbedingten Todesfälle auch in den Kontrollen und der sehr unzureichenden Dokumentation der Durchführung und Befundung nur eine begrenzte Aussagekraft.

Zur Prüfung der subchronischen Toxizität von Diethanolamin (97,2 % rein) erhielten Gruppen von je 10 männlichen und 10 weiblichen Ratten (Fischer 344, ca. 150 bzw. 120 g schwer) Dosierungen von 0 (Kontrollen), 25, 50, 100, 200 oder 400 mg/kg Körpergewicht des Stoffes gelöst in destilliertem Wasser an den 5 Werktagen der Woche 13 Wochen lang mit der Schlundsonde verabreicht. Am Behandlungsende wurden die Tiere getötet und sezziert. Histopathologische Untersuchungen wurden bei allen vorzeitig verendeten oder moribund getöteten Tieren sowie bei den Kontrollen und den Tieren der höchsten Dosisgruppe durchgeführt. Nieren und Nebennieren wurden bei allen Tieren histopathologisch untersucht. Substanzbedingte

Todesfälle traten bei Dosierungen von 100 (ein Männchen), 200 (3 Männchen, ein Weibchen) und 400 mg/kg Körpergewicht (3 Männchen, ein Weibchen) auf. Die Körpergewichtsentwicklung während der Behandlungszeit wurde bei den Männchen ab einer Dosis von 50 mg/kg Körpergewicht und bei den Weibchen ab 100 mg/kg Körpergewicht dosisabhängig negativ beeinflusst, sodass in der höchsten Dosisgruppe am Ende der Behandlungszeit die Männchen 51 % und die Weibchen 75 % weniger Gewicht zugenommen hatten als die Kontrolltiere. Pathologisch-anatomische oder histopathologische Veränderungen, die eindeutig der Behandlung mit Diethanolamin zugeschrieben werden konnten, wurden nicht beobachtet. Vergiftungssymptome wurden nicht beobachtet (GSRI, 1980). Aufgrund der verminderten Körpergewichtsentwicklung ergibt diese Studie einen no observed effect level (NOEL) von 25 (Männchen) bzw. 50 mg/kg Körpergewicht (Weibchen).

Gruppen von je 10 männlichen und 10 weiblichen Ratten (Stamm F344/N, 6 Wochen alt, Ausgangsgewicht 117 bis 123 g bzw. 102 bis 105 g) wurden über 13 Wochen mit Diethanolamin (> 99 % rein) im Trinkwasser, das mit Salzsäure auf pH 7,4 eingestellt worden war, behandelt. Die Männchen erhielten Konzentrationen von 0 (Kontrollen), 320, 630, 1250, 2500 oder 5000 ppm, entsprechend den aus dem gemessenen Wasserverbrauch und Körpergewicht bestimmten mittleren täglichen Dosierungen von 25, 48, 97, 202 oder 436 mg/kg Körpergewicht. Die Weibchen wurden mit Konzentrationen von 0 (Kontrollen), 160, 320, 630, 1250 bzw. 2500 ppm, entsprechend mittleren täglichen Dosierungen von 14, 32, 57, 124 bzw. 242 mg/kg Körpergewicht, behandelt. Es wurden jeweils 5 Tiere in einem Käfig gehalten. In der 12. Behandlungswoche wurde von jedem Tier im Einzelkäfig über 16 Stunden der Urin gesammelt. In jeder Urinprobe wurden die Konzentration an Glukose, Eiweiß, Harnstoff und Kreatinin sowie die Aktivitäten der alkalischen Phosphatase und der Laktatdehydrogenase gemessen. Am Ende der Behandlung, während der 7 Tage vor der Autopsie, wurden bei den Weibchen Vaginalabstriche angefertigt, diese zytologisch untersucht und die Zykluslänge bestimmt. Schließlich wurden nach 13 Wochen alle Tiere getötet und sezirt, nachdem vorher retroorbital Blut entnommen worden war. Gehirn, Herz, rechte Niere, Leber, Lunge, rechter Hoden und Thymus wurden gewogen. Eine komplette histopathologische Untersuchung wurde bei allen Kontrolltieren sowie bei allen Tieren der höchsten Dosisgruppen mit wenigstens 60 % überlebenden Tieren und bei allen vor-

zeitig verendeten Tieren durchgeführt und, soweit zur Festlegung eines no observed effect level notwendig, auch bei den Tieren niedrigerer Dosisgruppen. Mit dem Blut aller Tiere wurden umfangreiche hämatologische Untersuchungen durchgeführt sowie die Konzentration an Gesamteiweiß, Albumin, Harnstoff, Kreatinin, Glukose und der gesamten Gallensäuren und die Aktivitäten der Alaninaminotransferase und Sorbitdehydrogenase bestimmt. Außerdem wurden bei den männlichen Tieren die Bewegungs- und Lebensfähigkeit sowie die Anzahl der aus dem Nebenhoden gewonnenen Spermien bestimmt. Alle Tiere, bis auf 2 Männchen der höchsten Dosisgruppe und ein Weibchen der niedrigsten Dosisgruppe, überlebten bis zum Ende der Behandlung. Die Körpergewichtsentwicklung war bei beiden Geschlechtern dosisabhängig verringert, am ausgeprägtesten bei den Männchen, die ab 630 ppm (48 mg/kg Körpergewicht) am Ende der Untersuchung ein über 10 % niedrigeres Körpergewicht als die Kontrollen aufwiesen und bei 5000 ppm (436 mg/kg Körpergewicht) nur noch 56 % des Körpergewichtes der Kontrollen besaßen. Bei den Weibchen setzte eine deutliche Retardierung der Körpergewichtsentwicklung bei 1250 ppm (124 mg/kg Körpergewicht) ein mit 84 % des Endgewichtes der Kontrollen und erreichte bei der höchsten Dosis von 2500 ppm (242 mg/kg Körpergewicht) einen Wert von 75 % der Kontrollen. Der Wasserverbrauch war ebenfalls dosisabhängig vermindert, bei Männchen und Weibchen deutlich in den höchsten Dosisgruppen, was zu der erniedrigten Körpergewichtsentwicklung beigetragen haben mag. In den beiden höchsten Dosisgruppen traten bei beiden Geschlechtern als klinische Zeichen von Toxizität Tremor, Abmagerung, abnorme Körperhaltung und struppiges Fell auf. Die Gabe von Diethanolamin führte bei den Ratten zu einer kaum regenerativen, normochromen, mikrozytären Anämie. Signifikante Effekte traten schon bei der niedrigsten eingesetzten Dosis bei Weibchen und Männchen auf (Volumen und Hämoglobingehalt der Erythrozyten). Dosisabhängig nahmen bei beiden Geschlechtern die Anzahl an Erythrozyten und Retikulozyten sowie die Hämoglobinkonzentration und der Hämatokritwert ab. Im Blut stiegen bei allen behandelten Tieren dosisabhängig ab der niedrigsten Dosis der Harnstoffgehalt, das Gesamteiweiß und das Albumin sowie die Gallensäuren an. Die im Blut der behandelten Tiere gemessenen Enzymaktivitäten zeigten keine Unterschiede zur Kontrolle. Die Autopsie aller behandelten und unbehandelten Tiere ergab keine sichtbaren Schädigungen. Es wurden dosisabhängig erhöhte relative Lebergewichte bei den weiblichen und männlichen Ratten beobachtet. Die absoluten Lebergewichte waren bei den

Männchen, besonders in den hohen Dosisgruppen, erniedrigt, bei den Weibchen erhöht. Histopathologische Schäden der Leberzellen konnten nicht nachgewiesen werden, nur die erhöhte Gallensäurekonzentration im Blut gab einen Hinweis auf Störungen der Leberfunktion. Ebenfalls deutlich und dosisabhängig erhöht waren bei allen behandelten Männchen und Weibchen die relativen Nierengewichte, bei den Weibchen auch die absoluten Nierengewichte, während sich diese bei den Männchen unter der Behandlung nicht veränderten. Im Urin aller behandelten Männchen war der Eiweißgehalt erhöht. Histopathologisch wurde eine minimale Nephropathie bei verschiedenen Tieren in allen Gruppen einschließlich der Kontrollen festgestellt, die sich mit steigenden Dosierungen in Schweregrad und Häufigkeit verstärkte. Während bei den Männchen in der Kontrolle 6/10 Tieren eine minimale Nephropathie aufwies, wurden bei einer täglichen Dosis von 436 mg/kg Körpergewicht bei allen 10 Tieren leichte bis mäßige Nephropathien beobachtet. Bei dieser Dosis zeigten alle Männchen Nekrosen des Tubulusepithels und eine leichte Mineralisierung in den Tubuli, Effekte, die bei niedrigen Dosierungen und in der Kontrolle nicht auftraten. Bei den Weibchen fand sich eine minimale Nephropathie in 2/10 Kontrollen und in allen Behandlungsgruppen bei 9/10 bis 10/10 Tieren. Nekrosen des Nierentubulusepithels traten in minimaler Stärke bei 3/10 Weibchen in der höchsten Dosisgruppe auf. Alle weiblichen Kontrolltiere zeigten eine minimale Mineralisierung in den Nierentubuli, die auch bei den behandelten Weibchen nicht dosisabhängig bis zu mäßiger Stärke beobachtet wurde. Zusätzlich zu der Niere wurde als weiterer Zielpunkt der toxischen Wirkung von Diethanolamin das Gehirn und das Rückenmark erkannt. Leichte Vakuolisierung und Demyelinisierung wurden bei allen Männchen und Weibchen der beiden höchsten Dosisgruppen in der Medulla oblongata und im Rückenmark festgestellt. Dazu korrelierende klinische Symptome konnten nicht beobachtet werden. Bei den behandelten männlichen Tieren war das Hodengewicht ab einer Konzentration von 1250 ppm im Trinkwasser dosisabhängig bis auf 36 % der Kontrolle bei der höchsten Konzentration von 5000 ppm gesenkt. Im gleichen Sinn sank das Nebenhodengewicht bis auf 30 % der Kontrolle. Morphologisch waren die Zahl der spermatogenen Zellen sowie die Größe der Nebenhodentubuli reduziert. Im Nebenhoden war die Zahl der Spermien stark zurückgegangen, ebenso wie die prozentuale Beweglichkeit dieser Spermien. Bei allen Tieren der höchsten Dosisgruppe und bei 3/10 Tieren der zweithöchsten Dosisgruppe wurde Hodendegeneration diagnostiziert. Bei den weiblichen Tieren wurde kein Einfluss der Be-

handlung mit Diethanolamin auf die Länge des Zyklus beobachtet. Aufgrund der hämatologischen und nephrologischen Befunde auch in den untersten geprüften Dosen von 25 (Männchen) bzw. 14 mg/kg Körpergewicht (Weibchen) wurde in dieser Studie kein no observed adverse effect level (NO-AEL) gefunden (siehe auch Kapitel 7.8; NTP, 1992; Melnick et al., 1994 a).

In grundsätzlich gleicher Weise wie an Ratten (siehe oben; GSRI, 1980) wurde auch die subchronische Toxizität von Diethanolamin (97,2 % rein) an männlichen und weiblichen Mäusen (B6C3F1, ca. 25 bzw. 19 g schwer) geprüft, die in Gruppen von je 10 Tieren/Geschlecht mit Dosierungen von 0 (Kontrollen), 50, 100, 200, 400 oder 800 mg/kg Körpergewicht ebenfalls an den 5 Werktagen der Woche 13 Wochen lang behandelt wurden. Todesfälle oder eine Verringerung der Körpergewichtszunahme, die eindeutig auf die Behandlung mit Diethanolamin zurückgeführt werden konnten, traten nicht auf. Auch pathologisch-anatomische oder histopathologische Veränderungen wurden nicht beobachtet und die Tiere zeigten keine klinischen Zeichen von Toxizität. Allerdings war die Untersuchung insofern problematisch, als die männlichen Mäuse der Dosisgruppen 200, 400 und 800 mg/kg Körpergewicht wesentlich höhere Ausgangsgewichte als die Kontrolltiere hatten und bei Zugrundelegung dieser Gewichte im Verlauf der Behandlung tatsächlich, aber nicht dosisabhängig eine geringere Körpergewichtszunahme als die Kontrolltiere zeigten. Bei den weiblichen Mäusen trat dieser Effekt nicht auf; sie nahmen vielmehr in allen Dosisgruppen deutlich zu. Auch ein Todesfall in der 800 mg/kg Körpergewicht-Gruppe bei den Männchen und ein weiterer Todesfall in der 100 mg/kg Körpergewicht-Gruppe bei den Weibchen wurde von den Autoren nicht als Folge der Diethanolamin-Behandlung angesehen (GSRI, 1980). Bis zur obersten geprüften Dosis von 800 mg/kg Körpergewicht wurde kein sicher auf die Behandlung zurückzuführender Befund erhoben.

Mit grundsätzlich der gleichen Versuchsanordnung wie bei der 13-Wochen-Trinkwasserstudie an Ratten (siehe oben; NTP, 1992; Melnick et al., 1994 a) wurde auch an Mäusen (B6C3F1, 6 Wochen alt, mittleres Gewicht der Männchen 23,6 g und der Weibchen 20 g) die Wirkung von Diethanolamin (> 99 % rein) nach Gabe im Trinkwasser über 13 Wochen untersucht. Gruppen von je 10 Männchen und 10 Weibchen erhielten in auf pH 7,4 mit Salzsäure eingestelltem Trinkwasser Diethanolamin-Konzentrationen von 0 (Kontrollen), 630, 1250, 2500, 5000 bzw. 10000 ppm verabreicht. Entsprechend dem gemessenen Wasserverbrauch und dem Körpergewicht errech-

neten sich daraus mittlere tägliche Dosierungen von 104, 179, 422, 807 bzw. 1674 mg/kg Körpergewicht für die Männchen und 142, 347, 884, 1154 bzw. 1128 mg/kg Körpergewicht für die Weibchen. Die Tiere wurden einzeln in Käfigen gehalten. Alle Tiere, die die Behandlung bis zum Ende der 13. Woche überlebten, wurden den gleichen Untersuchungen unterzogen, wie für die Ratten beschrieben, mit Ausnahme der Bestimmungen im Urin und der hämatologischen Untersuchungen, die hier nicht durchgeführt wurden. Die vorzeitig verendeten Tiere wurden wie bei den Ratten seziiert und histopathologisch untersucht. In der 10000 ppm-Gruppe starben alle Weibchen zwischen dem 15. und 27. Behandlungstag und alle Männchen zwischen dem 24. und 32. Behandlungstag. Auch alle Tiere, die mit 5000 ppm im Trinkwasser behandelt wurden, verendeten, die Weibchen zwischen dem 14. und 31. Tag und die Männchen zwischen dem 19. und 70. Tag. In der 2500 ppm-Gruppe starben 3 Weibchen am 30., 78. bzw. 82. Tag. Alle anderen Mäuse überlebten die Behandlung. Bei allen Tieren der 2500 ppm-Gruppe und bei den Weibchen der 1250 ppm-Gruppe war die Körpergewichtsentwicklung verlangsamt. Der Trinkwasserverbrauch war bei den überlebenden Tieren durch den Zusatz von Diethanolamin nicht beeinflusst. Bei den Autopsien wurden weder bei den vorzeitig verendeten noch bei den am Ende der Untersuchung getöteten Tieren makropathologische Befunde erhoben. Die absoluten und relativen Lebergewichte waren bei allen untersuchten Tieren in allen Dosisgruppen signifikant gegenüber der Kontrolle erhöht. Dieser Effekt wurde begleitet von einem Anstieg der Alaninaminotransferase- und Sorbitdehydrogenase-Aktivität im Blut bei einer Trinkwasserkonzentration von 2500 ppm Diethanolamin und durch histopathologische Befunde im Lebergewebe. Dort wurden Hypertrophie der Hepatozyten, Anstieg der Zahl der Eosinophilen, Zellen mit deformierten und/oder mehreren Zellkernen in allen Konzentrationsgruppen und kleine nekrotische Bereiche ab 2500 ppm beobachtet. Die absoluten und relativen Nierengewichte waren bei den Männchen ab 1250 ppm erhöht, bei den Weibchen nur das relative Nierengewicht bei 2500 ppm. Bei den Männchen wurden bei verschiedenen Tieren aller Dosisgruppen, in der Anzahl dosisabhängig, minimale Nephropathien beobachtet, bei den Weibchen nur bei einem der überlebenden Tiere der 2500 ppm-Gruppe. Nekrosen im Nierentubulusepithel wurden nur vereinzelt bei wenigen der frühzeitig verendeten Tiere der höchsten Dosisgruppen gefunden. Außerdem waren das absolute Herzgewicht bei den Weibchen bei einer Behandlung mit 2500 ppm Diethanolamin sowie das relative Herzgewicht bei Männchen und

Weibchen bei dieser Konzentration und bei den Weibchen bei 1250 ppm erhöht. Die Erhöhung bei 2500 ppm ging mit einer minimalen bis leichten Degeneration des Herzmuskels einher, die in deutlich schwererem Ausmaß bei allen Tieren der 5000 und 10000 ppm-Gruppe gefunden wurden, die vorzeitig verendet waren. Der frühe Tod wurde von den Autoren mit den Herzmuskelveränderungen in Zusammenhang gebracht. Ebenfalls bei den Tieren der 2500 ppm-Gruppe und bei den vorzeitig verendeten Tieren der beiden höheren Dosisgruppen wurden in ihrem Ausmaß dosisabhängig verstärkte zytologische Veränderungen der submandibulären Speicheldrüsen beobachtet. Es wurde keine Wirkung der Diethanolamin-Behandlung auf das Hodengewicht und die Zahl und Motilität der Spermien bei den Männchen und auf die Länge des Zyklus bei den weiblichen Mäusen festgestellt. Aufgrund der Leberbefunde auch in den untersten geprüften Dosen von 104 (Männchen) bzw. 142 mg/kg Körpergewicht (Weibchen) wurde kein no observed adverse effect level (NOAEL) gefunden (NTP, 1992; Melnick et al., 1994 b).

In einer dermalen Untersuchung wurden Gruppen von je 10 männlichen und 10 weiblichen Ratten (F344/N, 7 Wochen alt, Anfangsgewicht der Männchen 120 bis 124 g und der Weibchen 107 bis 114 g) 13 Wochen lang täglich (außer an den Wochenenden und an Feiertagen) an der Haut mit Diethanolamin (> 99 % rein) behandelt. Der Stoff wurde in 95 % Ethanol gelöst auf die Rückenhaut in Dosierungen von 0 (Kontrollen), 32, 63, 125, 250 oder 500 mg/kg Körpergewicht aufgetragen und nicht abgedeckt. Die Tiere wurden einzeln gehalten. In der 12. Behandlungswoche wurde von jedem Tier über 16 Stunden Urin gesammelt. Die Glukose-, Eiweiß-, Harnstoff- und Kreatinin-Konzentration sowie die Aktivitäten der alkalischen Phosphatase und der Laktatdehydrogenase wurden in jeder Urinprobe bestimmt. Während der 7 Tage vor dem Ende der Behandlung wurden bei den Weibchen Vaginalabstriche angefertigt, diese zytologisch untersucht und die Zykluslängen bestimmt. Schließlich wurden nach 13 Wochen Behandlung alle Tiere getötet, nachdem vorher retroorbital Blut entnommen worden war. Alle Tiere wurden seziiert und makroskopisch-pathologisch begutachtet. Gehirn, Herz, rechte Niere, Leber, Lunge, rechter Hoden und Thymus wurden gewogen. Eine komplette histopathologische Untersuchung wurde bei allen Kontrolltieren sowie bei allen Tieren der höchsten Dosisgruppen sowie wenigstens 60 % überlebenden Tieren und bei den vorzeitig verendeten Tieren durchgeführt und, soweit zur Festlegung eines

no effect level (NOEL) erforderlich, auch bei den Tieren niedrigerer Dosisgruppen. Mit dem Blut aller Tiere wurden umfangreiche hämatologische Untersuchungen durchgeführt sowie die Konzentrationen an Gesamteiweiß, Albumin, Harnstoff, Kreatinin, Glukose und der gesamten Gallensäuren sowie die Aktivitäten der Alaninaminotransferase und der Sorbitdehydrogenase bestimmt. Außerdem wurden bei den männlichen Tieren die Bewegungsfähigkeit der aus dem Nebenhoden gewonnenen Spermien geprüft und die Anzahl und Lebensfähigkeit der in der Cauda befindlichen Spermien bestimmt. In der Gruppe mit der höchsten Dosis von 500 mg/kg Körpergewicht starb ein Männchen in der 9. Woche und 2 Weibchen mussten in der 10. Woche in moribundem Zustand getötet werden. Die Körpergewichtsentwicklung der behandelten Tiere war dosisabhängig verlangsamt, beginnend bei den Männchen ab einer Dosis von 250 mg/kg Körpergewicht, bei den Weibchen ab 125 mg/kg Körpergewicht. Bei allen Tieren der drei höchsten Dosisgruppen traten Reizeffekte und Verkrustungen an den Applikationsstellen der Haut auf. Die dermale Behandlung der Ratten mit Diethanolamin führte außerdem zu einer kaum regenerativen normochromen, mikrozytären Anämie. Bei den weiblichen Tieren waren bis zur niedrigsten Dosis die Zahl der Erythrozyten und Retikulozyten, der Hämoglobingehalt und der Hämatokritwert signifikant gegenüber der Kontrolle erniedrigt, ab einer Dosis von 63 mg/kg Körpergewicht auch das mittlere Erythrozytenvolumen und der mittlere Hämoglobingehalt der einzelnen Erythrozyten. Alle Effekte waren dosisabhängig und steigerten sich bis zur höchsten Dosis. Bei den männlichen Tieren wurde keine deutliche Abnahme der Anzahl an Retikulozyten bis zur höchsten Dosis beobachtet; alle anderen bei den Weibchen beobachteten hämatologischen Effekte waren jedoch bei den Männchen ebenfalls vorhanden, aber teilweise erst bei höheren Dosierungen. Histopathologische Veränderungen im Knochenmark des Oberschenkels wurden nicht beobachtet. Im Blut der Tiere aller Behandlungsgruppen, ausgenommen bei den Männchen der niedrigsten Dosisgruppe, war der Albumingehalt dosisabhängig erhöht. Bei den Weibchen war bei allen Dosierungen der Harnstoffgehalt im Blut dosisabhängig erhöht, bei den Männchen erst ab einer Dosis von 250 mg/kg Körpergewicht. Zusätzlich wurden bei den Weibchen ab einer Dosis von 63 mg/kg Körpergewicht eine dosisabhängige Zunahme der Proteinkonzentration und ab einer Dosis von 125 mg/kg Körpergewicht eine dosisabhängige Zunahme der Gallensäurekonzentration im Blut beobachtet. Bei den Männchen war die Alaninaminotransferase-Aktivität im Blut ab einer Dosis von 125 mg/kg

Körpergewicht signifikant erhöht. Bei Männchen und Weibchen waren die relativen Lebergewichte bei allen Dosierungen dosisabhängig erhöht, bei den Weibchen auch die absoluten Lebergewichte. Bei den Männchen stiegen die absoluten Lebergewichte erst ab einer Dosis von 125 mg/kg Körpergewicht etwas, jedoch nicht dosisabhängig an. Histopathologische Veränderungen der Leber wurden nicht gefunden. Hauptzielorgan der Diethanolamin-Wirkung war in dieser Studie nach Ansicht der Autoren die Niere. Das absolute und das relative Nierengewicht waren bereits bei der niedrigsten Dosis von 32 mg/kg Körpergewicht signifikant erhöht, ein Effekt, welcher durch höhere Dosierungen kaum verstärkt wurde. Die Erhöhung der Nierengewichte ab der niedrigsten Dosis wurde begleitet von in Anzahl und Schweregrad verstärkten Nephropathien, Nekrosen der Nierentubuluszellen oder Tubulusmineralisationen: Minimale Nephropathien wurden auch bei den Kontrolltieren beobachtet (9/10 Männchen, 3/10 Weibchen). Sie nahmen bei den Weibchen mit der Behandlung an Zahl und Schweregrad bis zu einer Dosis von 125 mg/kg Körpergewicht zu, dann bei höheren Dosierungen wieder auf Kontrollwerte ab. Bei den Männchen waren keine Unterschiede zur Kontrolle zu beobachten. Minimale Nekrosen des Tubulusepithels wurden bei den Weibchen bei den beiden oberen Dosisgruppen (2 bzw. 10/10 Tieren) beobachtet, bei den Männchen traten sie nicht auf. Mineralisation wurde bei den Weibchen in der Kontrollgruppe in minimaler Form bei 4/10 Tieren beobachtet, bei den behandelten Weibchen folgte die Mineralisation dem gleichen Dosis-Wirkungsverlauf wie die Nephropathie, bei den Männchen trat sie nur schwach bei 9/10 Tieren in der höchsten Dosisgruppe auf. Einzelne, nicht dosisabhängige und teilweise nur in der höchsten Dosis auftretende Abweichungen in den Urinalysen gegenüber der Kontrolle wurden nicht als behandlungsbedingt interpretiert. In der Medulla oblongata wurde bei der höchsten Dosierung bei allen Männchen und Weibchen eine minimale Demyelinisierung mit Vakuolenbildung beobachtet und bei den Weibchen auch bei 7/10 Tieren bei der Dosis 250 mg/kg Körpergewicht. Im Rückenmark traten keine Veränderungen auf. Das Hodengewicht war bei den Männchen der höchsten Dosisgruppe erniedrigt. Effekte an den Spermien wurden nicht beobachtet. Der Zyklus der weiblichen Ratten war in keinem Fall durch die Behandlung mit Diethanolamin beeinflusst. An der Haut kam es am Applikationsort durch die Behandlung mit Diethanolamin dosisabhängig zu minimalen bis mäßigen Schädigungen, die als Geschwürbildung (ab 250 mg/kg Körpergewicht), als chronisch-aktive Entzündung (ab 250 mg/kg Körpergewicht bei Männchen und 125

mg/kg Körpergewicht bei Weibchen), als Akanthose (ab 63 mg/kg Körpergewicht) und als Hyperkeratose (bei allen behandelten Weibchen und den Männchen ab 63 mg/kg Körpergewicht) beschrieben wurden. Aufgrund der hämatologischen, der nephrologischen und der Hautbefunde auch in der niedrigsten geprüften Dosis von 32 mg/kg Körpergewicht wurde in dieser Studie kein no observed adverse effect level (NOAEL) gefunden (NTP, 1992; Melnick et al., 1994 a).

In einer Studie zur Feststellung der möglichen kanzerogenen Wirkung von Diethanolamin (siehe auch Kapitel 7.7) wurden Gruppen von je 50 männlichen und 50 weiblichen Ratten (F344/N, 6 Wochen alt, mittleres Anfangsgewicht der Männchen 130 g, der Weibchen 105 g) über 2 Jahre dermal mit Diethanolamin (> 99 % rein, gelöst in 95 % Ethanol) täglich an 5 Werktagen/Woche behandelt. Die Männchen erhielten Dosierungen von 0 (Kontrollen), 16, 32 oder 64 mg/kg Körpergewicht, die Weibchen von 0 (Kontrollen), 8, 16 oder 32 mg/kg Körpergewicht. Die Tiere wurden während der gesamten Behandlungszeit einzeln gehalten. Vorzeitig verendete, moribund getötete und alle bis zum Ende der Behandlung überlebenden Tiere wurden der Autopsie zugeführt und sowohl makroskopisch als auch histopathologisch umfassend untersucht. Klinisch-chemische oder hämatologische Untersuchungen wurden nicht durchgeführt. Alle behandelten Tiergruppen unterschieden sich in der Überlebenszeit nicht von den Kontrollen. Auch bei der Körpergewichtsentwicklung gab es keine deutlichen Abweichungen zur Kontrolle. Klinische Beobachtungen im Behandlungszeitraum zeigten als behandlungsbedingte Symptome nur minimale bis schwache Schädigungen der Haut am Applikationsort, die dosisabhängig und bei den Weibchen deutlicher ausgeprägt waren als bei den Männchen. Berichtet wurde von Akanthose, Hyperkeratose und fokalen Ansammlungen von Exsudat an der Haut sowie von einzelnen Geschwürbildungen. Bei allen behandelten Weibchen waren die Häufigkeit und der Schweregrad der beobachteten Nephropathie signifikant und dosisabhängig höher als in der Kontrollgruppe. Die Behandlung führte in schweren Fällen zur interstitiellen Fibrose und zum Verlust von Nephronen. Bei den männlichen Ratten wurden nur in der höchsten Dosisgruppe minimale Effekte an der Niere beobachtet, die aber gegenüber der Kontrollgruppe signifikant waren. In keinem anderen Organ wurden deutliche behandlungsbedingte toxische Effekte gefunden (siehe auch Kapitel 7.7; NTP, 1999 a).

Mit grundsätzlich der gleichen Versuchsanordnung wie bei der bereits beschriebenen dermalen 13-Wochen-Studie an Ratten (NTP, 1992; Melnick et al., 1994 a) wurden Gruppen von je 10 männlichen und 10 weiblichen Mäusen (B6C3F1, 6 Wochen alt, Gewicht der Männchen 22,5 bis 23,2 g, der Weibchen 18,9 bis 19,5 g) über 13 Wochen dermal mit Diethanolamin (> 99 % rein) behandelt. Der in 95 % Ethanol gelöste Stoff wurde den Tieren täglich außer an den Wochenenden und an Feiertagen in Dosierungen von 0 (Kontrollen), 80, 160, 320, 630 bzw. 1250 mg/kg Körpergewicht auf die Rückenhaut appliziert. Die Tiere wurden einzeln in Käfigen gehalten. Alle Tiere, die die Behandlung bis zum Ende der 13. Woche überlebten, wurden den gleichen Untersuchungen unterzogen, wie für die Ratten beschrieben, mit Ausnahme der hämatologischen und der Urinuntersuchungen. Klinisch-chemische Blutuntersuchungen wurden durchgeführt. Vorzeitig verendete Tiere wurden wie bei den Ratten seziiert und histopathologisch untersucht. In der höchsten Dosisgruppe starben 4 Weibchen in der 2. und 3. Behandlungswoche und je ein Männchen in der 2. und 9. Behandlungswoche (einzelne dieser Tiere wurden in moribundem Zustand getötet). Alle anderen Tiere überlebten die Behandlung. Die Körpergewichtsentwicklung war nur bei den Männchen der höchsten Dosisgruppe etwas verlangsamt, im Mittel um 8 %. Als einzige klinische Zeichen von Toxizität zeigten sich an der Haut des Applikationsortes bei den beiden höchsten Dosisgruppen Entzündungen und Krustenbildungen. Bei allen Tieren und in allen Dosisgruppen waren die absoluten und die relativen Lebergewichte dosisabhängig erhöht. Histopathologische Veränderungen des Lebergewebes, wie Hypertrophie der Hepatozyten, Anstieg der Zahl der Eosinophilen und Zellen mit deformierten oder mehreren Zellkernen, wurden bei allen Tieren der Dosierungen ab 160 mg/kg Körpergewicht und bei 4/10 Männchen der niedrigsten Dosis beobachtet. Bei den Männchen wurden bei Dosierungen ab 320 mg/kg Körpergewicht und bei 2 Tieren der niedrigsten Dosis außerdem hepatozelluläre Nekrosen gefunden, die bei den Weibchen nicht auftraten. Die Alaninaminotransferase-Aktivität war bei den Männchen dosisabhängig ab einer Dosis von 320 mg/kg Körpergewicht und bei den Weibchen bei einer Dosis von 1250 mg/kg Körpergewicht signifikant erhöht. Die Aktivität der Sorbitdehydrogenase war nur bei den Männchen ab einer Dosis von 320 mg/kg Körpergewicht signifikant und dosisabhängig gesteigert. Die absoluten und relativen Nierengewichte waren bei den Tieren aller Dosisgruppen erhöht (Ausnahme: relative Nierengewichte bei den Weibchen der unteren Dosisgruppen). Es wurden je-

doch nur bei einzelnen Tieren der höchsten Dosisgruppe geringgradige Nekrosen des Tubulusepithels beobachtet. In der höchsten Dosisgruppe wurden erhöhte absolute und relative Herzgewichte, die mit einer Degeneration des Herzmuskelgewebes einhergingen, gefunden sowie zytologische Veränderungen der submandibulären Speicheldrüsen. Auf das Hodengewicht und die Zahl und Motilität der Spermien bei den Männchen und auf die Länge des Zyklus bei den weiblichen Mäusen hatte die Diethanolamin-Behandlung keinen Einfluss. An der Haut kam es am Applikationsort durch die Behandlung mit Diethanolamin dosisabhängig zu minimalen bis mäßigen Schädigungen, die sich als Akanthose bei allen Tieren aller Dosisgruppen, als Geschwürbildung ab einer Dosis von 640 mg/kg Körpergewicht, als chronisch-aktive Entzündung ab 320 mg/kg Körpergewicht bei den Weibchen und ab 630 mg/kg Körpergewicht bei den Männchen und als Hyperkeratose ab 320 mg/kg Körpergewicht bei den Männchen und bei der höchsten Dosis bei den Weibchen manifestierten. Aufgrund der Leber- und Hautbefunde in der untersten geprüften Dosis von 80 mg/kg Körpergewicht wurde in dieser Studie kein no observed adverse effect level (NOAEL) gefunden (die Untersuchung des Blutes auf Mikrokernbildung ist im Kapitel 7.6.2 dargestellt; NTP, 1992; Melnick et al., 1994 b).

Gruppen von je 50 männlichen und 50 weiblichen Mäusen (B6C3F1, 6 Wochen alt, mittleres Anfangsgewicht der Männchen 23,5 g, der Weibchen 19,2 g) wurden in einer 2-Jahres-Kanzerogenitätsstudie (siehe auch Kapitel 7.7) mit Diethanolamin (> 99 % rein, gelöst in 95 % Ethanol) 103 Wochen lang täglich an den 5 Werktagen/Woche dermal behandelt. Die Tiere erhielten Dosierungen von 0 (Kontrollen), 40, 80 oder 160 mg/kg Körpergewicht. Sie wurden während der gesamten Behandlungszeit einzeln gehalten. Vorzeitig verendete, moribund getötete und alle bis zum Behandlungsende überlebenden Tiere wurden der Autopsie zugeführt und sowohl makroskopisch als auch histopathologisch umfassend untersucht. Klinisch-chemische oder hämatologische Untersuchungen wurden nicht durchgeführt. In allen behandelten Gruppen der Männchen entsprach die Überlebenszeit der Kontrollgruppe, allerdings mit einer Tendenz zur Verkürzung der Überlebenszeit in der höchsten Dosisgruppe. Bei den Weibchen war die Überlebenszeit gegenüber den Kontrollen verkürzt, besonders ausgeprägt in der höchsten Dosisgruppe. Bei den Männchen kam es zu einer Erniedrigung der Körpergewichtsentwicklung bei der höchsten Dosis ab der 77. Behandlungswoche und bei der Dosis von 80 mg/kg Körpergewicht ab der

88. Behandlungswoche. Bei den Weibchen zeigte sich die Erniedrigung der Körpergewichtsentwicklung bei der höchsten Dosis ab der 53. Behandlungswoche und bei den beiden niedrigen Dosierungen ab der 73. Behandlungswoche. Bei der histopathologischen Befundung der Leber wurden neben den in Kapitel 7.7 beschriebenen Adenomen und Karzinomen bei etwa einem Drittel der Männchen in jeder Behandlungsgruppe zytoplasmatische Veränderungen gefunden, die als schwache bis mäßige Vergrößerung von zentrilobulären Hepatozyten und als Veränderungen im Sinn von Zellverschmelzungen, vereinzelt Hepatozyten mit 3 und mehr kleinen Zellkernen charakterisiert wurden. Bei den Weibchen traten diese Effekte nur bei den beiden höchsten Dosierungen auf. In den Nieren aller behandelten Tiere wurden neben den in Kapitel 7.7 dargestellten Adenomen und Hyperplasien keine histopathologisch relevanten Veränderungen gefunden. In der Schilddrüse fielen in allen Dosisgruppen gegenüber der Kontrolle signifikant vermehrt auftretende Hyperplasien der follikulären Zellen auf. Nur bei den Männchen wurden in den beiden höchsten Dosisgruppen zytoplasmatische Veränderungen der den Sekretionsgang auskleidenden Zellen gefunden. Die Haut der behandelten Mäuse war an der Applikationsstelle nur geringfügig geschädigt. Eine minimale bis schwache Hyperkeratose trat dosisabhängig bei bis zu einem Drittel der Tiere der höchsten Dosisgruppe auf. Akanthose und Exsudatbildung wurden nur vereinzelt beobachtet (siehe auch Kapitel 7.7; NTP, 1999 a).

Eine Untersuchung zur inhalativen subchronischen Toxizität und zur Neurotoxizität (siehe auch Kapitel 7.10) von Diethanolamin wurde mit Wistar-Ratten (Chbb:THOM, 7 Wochen alt, mittleres Anfangsgewicht der Männchen 233 g, der Weibchen 184 g) entsprechend der OECD-Prüfrichtlinie Nr. 413 und der EPA-Richtlinien für subchronische Studien sowie entsprechend der EPA-Richtlinien für die Prüfung der Neurotoxizität durchgeführt. Gruppen von je 13 männlichen und 13 weiblichen Ratten wurden an 5 Werktagen/Woche je 6 Stunden täglich mit einem Flüssigkeitsaerosol von Diethanolamin (99,4 % rein), das in einem auf ca. 40 °C erwärmten Generatorsystem erzeugt worden war, in einem Kopf-Nasen-Expositionssystem und in Einzelhaltung 13 Wochen behandelt. Die Bestimmung der Partikelgröße im Aerosol ergab einen mittleren aerodynamischen Durchmesser von 0,6 bis 1,9 µm und 92 bis 95 % lungengängige Partikel. Die eingesetzten Aerosolkonzentrationen betragen 0 (Kontrollen), 15, 150 bzw. 400 mg/m³. Sie wurden während der gesamten Behandlungszeit analytisch ge-

prüft und nur geringfügig über- oder unterschritten. Entsprechend der Richtlinie wurden alle Tiere in Intervallen auf Vergiftungssymptome kontrolliert und gewogen. Ausführliche Untersuchungen auf neurotoxische Effekte wurden an je 10 männlichen und 10 weiblichen Tieren jeder Gruppe einschließlich der Kontrollen nach den Vorschriften der EPA „Functional Observational Battery“ vorgenommen (siehe Kapitel 7.10). Zu Beginn und am Ende der Behandlung wurden die Augen der Tiere der höchsten Dosisgruppe und der Kontrollgruppe mit einem Ophthalmoskop untersucht. Am Ende der Behandlungszeit wurden von je 10 Tieren jeden Geschlechts und jeder Gruppe über Nacht Urin gesammelt und retroorbital Blut vor der Tötung entnommen. Umfangreiche klinisch-chemische und hämatologische Untersuchungen sowie Urinalysen wurden entsprechend der Richtlinien durchgeführt und alle Tiere wurden sezirt und umfassend makroskopisch-pathologisch sowie histopathologisch untersucht. Die zusätzlichen 3 weiblichen und 3 männlichen Tiere jeder Gruppe wurden am Ende der Behandlungszeit mit Soerensen's Phosphatpuffer und Karnovsky-Fixativ perfundiert und anschließend sezirt sowie entsprechend der EPA-Richtlinie neurohistopathologisch untersucht. Alle Tiere überlebten bis zum Ende der Behandlung und zeigten keine substanzbedingten klinischen Symptome. Eine signifikante stoffbedingte Reduktion der Körpergewichtsentwicklung wurde nur bei den männlichen Ratten bei der höchsten Konzentration beobachtet. Bei den mit der mittleren und der höchsten Konzentration behandelten Tieren wurden Plattenepithelmetaplasien und hyperplastische Veränderungen des Larynx- und Tracheaepithels beobachtet, die in Häufigkeit und Schweregrad konzentrationsabhängig waren. Bei wenigen Tieren der niedrigsten Konzentrationsgruppe zeigten sich Plattenepithelmetaplasien nur im Larynx mit wenigen, unter der Schleimhaut liegenden Infiltrationen von Entzündungszellen. Für eine neurotoxische Wirkung von Diethanolamin fanden sich weder funktionelle noch morphologische Hinweise. Bei der höchsten Konzentration trat bei den männlichen und weiblichen Ratten eine schwache normochrome, mikrozytäre Anämie auf. Die Zahl der roten Blutkörperchen, der Hämoglobingehalt des Blutes und der Hämatokritwert sowie das mittlere Erythrozytenvolumen waren signifikant erniedrigt, die Zahl der Leukozyten und auch das Differentialblutbild waren nicht verändert. Bei den Weibchen der beiden höchsten Konzentrationsgruppen waren das absolute und das relative Lebergewicht im Vergleich zur Kontrolle signifikant und dosisabhängig erhöht, bei den Männchen war nur das relative Lebergewicht bei der höchsten Konzentration erhöht. Die Alaninaminotransfera-

se- und die alkalische Phosphatase-Aktivität im Serum waren bei den männlichen Ratten der beiden höchsten Konzentrationsgruppen signifikant und dosisabhängig erhöht, bei den Weibchen traf dies nur für die alkalische Phosphatase-Aktivität zu. Korrelierende histopathologische Veränderungen wurden im Lebergewebe nicht gefunden. Absolutes und relatives Nierengewicht waren bei den Weibchen der beiden höchsten Konzentrationsgruppen signifikant und dosisabhängig erhöht. Bei den Männchen war das relative Nierengewicht ebenfalls bei der höchsten und der mittleren Konzentration signifikant und dosisabhängig erhöht. Bei beiden Geschlechtern wurde in der mittleren und der höchsten Konzentrationsgruppe eine konzentrationsabhängig erhöhte Inzidenz einer leichten Hämaturie diagnostiziert, bei den Männchen auch vermehrt Epithelzellen und Zylinder aus den Nierentubuli. Histopathologisch wurden schwache bis leichte tubuläre Hyperplasien bei einigen Weibchen der höchsten und der mittleren Konzentrationsgruppe gefunden und bei einigen Männchen dieser Gruppen wurde eine schwache intratubuläre Lithiasis (Mineralisation) beobachtet. Bei einigen Weibchen der beiden höchsten Konzentrationsgruppen wurden dosisabhängig Erosionen des Drüsenmagens gesehen. 3 der mit der höchsten Konzentration behandelten Männchen zeigten eine diffuse Hodenatrophie und 4 der Männchen wiesen eine minimale bis leichte Atrophie der Prostata auf, die als behandlungsbedingte Effekte interpretiert wurden. Alle anderen Untersuchungen ergaben keine durch die Behandlung mit Diethanolamin bedingten Veränderungen gegenüber den mitgeführten Kontrollen. Der no observed adverse effect level für die systemische Toxizität lag zwischen 15 und 150 mg/m³. Für die lokale Reizwirkung konnte kein no observed adverse effect level (NOAEL) gefunden werden, da im Larynx der Tiere auch der niedrigsten Konzentrationsgruppe (15 mg/m³) Plattenepithelmetaplasien auftraten (siehe auch Kapitel 7.10; BASF, 1996).

In einer kurzen Zusammenfassung wurde berichtet, dass die Inhalation von 6 ppm Diethanolamin (entsprechend 26 mg/m³) an 5 Tagen/Woche 13 Wochen lang zu einer Senkung der Wachstumsrate, zu einer Erhöhung der Lungen- und Nierengewichte und zu einigen Todesfällen bei männlichen Ratten führte (keine weiteren Angaben; Hartung et al., 1970).

In einer Begasungskammer wurden 3 Beagle-Hunde, 10 Sprague-Dawley-Ratten und 6 Meerschweinchen (Stamm Hartley) gemeinsam über 6 Stunden täglich an den 5 Werktagen der Woche einer Diethanolamin-Konzentration von 0,6 ppm (entsprechend 2,6 mg/m³ Atemluft) ausgesetzt (keine

Angaben zu Geschlecht, Alter und Gewicht der Tiere). Das verwendete Diethanolamin (99 % rein) wurde in einem erwärmten Verdampfungssystem in flüssiger Form mit Luft durchströmt und damit in der angegebenen Konzentration verdampft. In einer weiteren Begasungskammer, die die gleiche Anzahl und Art von Tieren enthielt, wurden diese als Kontrolle nur mit Luft behandelt. Die Behandlung dauerte 9 Wochen (45 Expositionen). Unter der Annahme eines Atemvolumens von 5,2 l/Minute für Hunde und 0,1 l/Minute für Ratten errechneten die Autoren eine tägliche Dosis an Diethanolamin von 0,5 mg/kg Körpergewicht für Hunde und von 0,2 mg/kg Körpergewicht für Ratten. Die dermale Aufnahme bei der Ganzkörperbegasung wurde nicht berücksichtigt. Alle Tiere wurden sorgfältig klinisch beobachtet. Am Ende der Behandlungszeit wurde allen Tieren Blut entnommen. 18 Stunden nach der letzten Behandlung wurden die Tiere getötet und seziiert. Es wurde ein Differentialblutbild erstellt, Hämatokrit und Hämoglobin bestimmt sowie die Zahl der Erythrozyten und Leukozyten. Die Gewichte von Lunge, Leber und Nieren wurden bei allen Tieren bestimmt und eine umfassende histopathologische Untersuchung aller wichtiger Gewebe einschließlich des Zentralnervensystems durchgeführt. Alle Tiere überlebten die Studie und zeigten keine klinischen Anzeichen von Toxizität durch die Behandlung mit Diethanolamin. Die Körpergewichtsentwicklung entsprach der der Kontrolle, ebenso die Daten der hämatologischen Untersuchungen. Bei den Meerschweinchen waren das absolute und das relative Nierengewicht erhöht. Die Hunde zeigten eine leichte Zunahme des relativen Lebergewichtes. Die Sektion erbrachte keine behandlungsbedingten Effekte und die histopathologischen Untersuchungen ergaben keine auf die Diethanolamin-Behandlung zurückzuführenden Befunde. Reizungen der Augen oder des Respirationstraktes wurden nicht beobachtet (Eastman Kodak, 1967 b).

Eine weitere Studie zur inhalativen Toxizität von Diethanolamin wurde über eine Behandlungsdauer von 13 Wochen durchgeführt. In einer Begasungskammer von 3,85 m³ Volumen wurden 2 männliche und 2 weibliche Hunde (Beagle), 10 gerade entwöhnte und 10 erwachsene männliche Ratten, 10 gerade entwöhnte und 10 erwachsene weibliche Ratten sowie 5 männliche und 5 weibliche Meerschweinchen (484 bis 580 g schwer, keine weiteren Angaben zu den Versuchstieren) täglich 24 Stunden 90 Tage lang einem mit Diethanolamin gesättigten Luftstrom ausgesetzt. Zur Erzeugung der mit Diethanolamin gesättigten Luft wurde diese durch erwärmtes flüssiges Diethanolamin in einer Verdampfungsapparatur geleitet und anschließend

mittels Durchleiten durch einen Fiberglasfilter von mitgeführten Partikeln befreit. Die gemessene Diethanolamin-Konzentration betrug im in die Kammer geleiteten Luftstrom 0,26 ppm (entsprechend 1,14 mg/m³). Eine identisch zusammengesetzte Tiergruppe wurde in einer zweiten Begasungskammer als Kontrolle reiner Luft ausgesetzt. Die Begasung wurde nur am Morgen für 30 Minuten zur Fütterung und Käfigsäuberung und am Abend für eine weitere Fütterung unterbrochen. Während der Behandlung wurden alle Zeichen von Toxizität sorgfältig registriert und die Körpergewichtsentwicklung zweimal wöchentlich bestimmt. Vor Beginn und innerhalb der letzten 24 Stunden der Behandlung wurde allen Hunden und Meerschweinchen und 50 % der Ratten Blut entnommen, mit dem hämatologische Untersuchungen durchgeführt wurden (Zahl der Erythrozyten und Leukozyten, Differentialblutbild, Hämoglobingehalt und Hämatokritwert). Wurden Abweichungen von der Kontrolle gefunden, so wurde die gleiche Gruppe von Tieren nach einer Nachbeobachtungszeit von 14 Tagen noch einmal untersucht. Im Urin der gleichen Tiere und mit der gleichen Vorgehensweise wurden Albumin und Glukose bestimmt. Bei den Hunden wurden ophthalmologische Untersuchungen der Cornea einschließlich der Fluoresceinfärbetechnik zu Beginn der Behandlung, nach 5 und 10 Tagen und am Behandlungsende durchgeführt. Alle vorzeitig verendeten sowie alle am Ende der Behandlung und am Ende der Nachbeobachtungszeit getöteten Tiere wurden seziiert und makroskopisch-pathologisch untersucht. Histopathologische Untersuchungen von Lungen, Leber, Nieren, Milz, Geschlechtsorganen, Knochenmark und Gehirn wurden bei je einem weiblichen und einem männlichen Hund, 2 männlichen und 2 weiblichen adulten Ratten, allen gerade entwöhnten Ratten und je 50 % der überlebenden männlichen und weiblichen Meerschweinchen durchgeführt. Da von den Meerschweinchen eine große Anzahl bereits in den ersten beiden Behandlungswochen verendet waren, was die Autoren auf eine schlechte Adaptation an die Begasungskammer und vor allem auf die Fütterungszeiten zurückführten, wurde eine weitere Gruppe von je 5 männlichen und 5 weiblichen Meerschweinchen (326 bis 399 g schwer) nachgesetzt, die während der Begasung Futter und Wasser ad libitum erhielten, sonst aber ganz identisch wie die Hauptgruppe behandelt wurden. Die Diethanolamin-Konzentration in der Atemluft betrug hier 0,31 ppm (entsprechend 1,32 mg/m³). Alle Hunde überlebten die gesamte Behandlungszeit. Bei den Ratten verendeten 2 der adulten Männchen vorzeitig, doch führten die Autoren diese Todesfälle nicht auf die Diethanolamin-Behandlung zurück. Zahlreiche Meerschwein-

chen der zuerst eingesetzten Gruppe starben in den ersten zwei Behandlungswochen, bevor die Begasungsvorrichtung für die Überlebenden geändert wurde und Futter und Wasser den Tieren während der Begasung ständig zur Verfügung standen. In der 9. und 10. Woche verendeten mehrere Tiere an Lungenentzündung. Auch in der nachgesetzten Gruppe verendeten mehrere Tiere an Lungenentzündung. Da vergleichbar viele Todesfälle auch bei den Kontrolltieren auftraten, wurde die hohe Mortalität nicht als durch Diethanolamin verursacht angesehen. Die Körpergewichtsentwicklung war bei allen Tieren vergleichbar der der Kontrollen, mit Ausnahme der Hunde, die am Anfang der Behandlung an Körpergewicht abnahmen, diesen Effekt aber später wieder ausglich, und der männlichen, gerade entwöhnt eingesetzten Ratten, die in ihrer Körpergewichtsentwicklung ab der 8. Behandlungswoche signifikant hinter den Kontrollen zurückblieben. Alle Ratten hatten zu Beginn der Behandlung für mehrere Wochen blutige Nasen, die sich aber später wieder normalisierten. Weitere klinisch-toxische Effekte wurden nicht beobachtet. Die Befunde der hämatologischen Untersuchungen und der Urinalysen unterschieden sich nicht von denen der Kontrolltiere. Die relativen Organgewichte waren bei allen behandelten Tieren gleich denen der Kontrollen, mit Ausnahme der weiblichen Ratten, bei denen die als Adulte eingesetzten Tiere am Ende der Nachbeobachtungszeit und die als gerade entwöhnt eingesetzten Tiere direkt nach der Behandlung signifikant erhöhte relative Lebergewichte zeigten. Bei den histopathologischen Untersuchungen der behandelten Tiere konnten in keinem Fall Veränderungen beobachtet werden, die auf die Behandlung mit Diethanolamin zurückzuführen waren (Hazleton, 1967).

7.6 Gentoxizität

7.6.1 In vitro

Die vorliegenden Befunde zur gentoxischen Wirkung von Diethanolamin in vitro sind in den Tabellen 5 und 6 zusammengefasst.

Tabelle 5. In vitro-Gentoxizitätsteste mit Diethanolamin an Mikroorganismen					
Testsystem	Geprüfter Konzentrationsbereich (µg/Platte) ¹	Metabolisches Aktivierungssystem	Ergebnis		Literatur
			mit metabolischer Aktivierung	ohne metabolische Aktivierung	
Salmonella/Mikrosomen-Test, Salmonella typhimurium TA 100, TA 1535	keine Angaben	S9-Mix aus Clophen A50-induzierter Rattenleber	negativ	negativ	Hedenstedt, 1978
Salmonella/Mikrosomen-Test, Salmonella typhimurium TA 98, TA 100 TA 1535, TA 1537, Präinkubationstest	33 - 3333	S9-Mix aus Aroclor-induzierter Ratten- und Hamsterleber	negativ	negativ	Haworth et al., 1983; NTP, 1999 a
Salmonella/Mikrosomen-Test, Salmonella typhimurium TA 98, TA 100, TA 1535, TA 1537, TA 1538, Standard-Platten-Inkorporationstest	0,2 - 2000 (99,7 % rein)	S9-Mix aus Aroclor-induzierter Rattenleber	negativ	negativ	Dean et al., 1985
Escherichia coli WP2, WP2uvrA, Standard-Platten-Inkorporationstest	0,2 - 2000 (99,7 % rein)	S9-Mix aus Aroclor-induzierter Rattenleber	negativ	negativ	Dean et al., 1985
mitotische Genkonversion, Saccharomyces cerevisiae JD1	keine Angaben (99,7 % rein)	S9-Mix aus Aroclor-induzierter Rattenleber	negativ	negativ	Dean et al., 1985

¹ sofern nicht angegeben, finden sich in den Publikationen keine Angaben zur zytotoxischen Wirkung sowie zur Reinheit und/oder zu eventuellen Verunreinigungen des verwendeten Diethanolamins

Wie Tabelle 5 zeigt, konnte in keinem Fall eine positive Wirkung des Diethanolamins in Untersuchungen an Mikroorganismen nachgewiesen werden. In drei Salmonella/Mikrosomen-Testen, in denen verschiedene Stämme von Salmonella typhimurium eingesetzt wurden und mit und ohne metabolische Aktivierung geprüft wurde, erwies sich der Stoff sowohl im Standard-Platten-Inkorporationstest als auch im Präinkubationstest als nicht mutagen. Eine weitere Untersuchung mit Escherichia coli als Testorganismus verlief ebenfalls mit und ohne metabolische Aktivierung negativ. Auch ein Test auf mitotische Genkonversion an Saccharomyces cerevisiae zeigte ein negatives Ergebnis. Ein mutagenes Potenzial in bakteriologischen Testsystemen liegt damit für Diethanolamin nicht vor.

Tabelle 6. In vitro-Gentoxizitätsteste mit Diethanolamin an Säugerzellen

Testsystem	Geprüfter Konzentrationsbereich (µg/ml) ¹	Metabolisches Aktivierungssystem	Ergebnis		Literatur
			mit metabolischer Aktivierung	ohne metabolische Aktivierung	
Chromosomenaberrationstest, Rattenhepatozyten, RL ₁ , RL ₄ , 100 Metaphasen/Konzentration analysiert	das 0,125- bis 0,5fache der Konzentration, die das Wachstum zu 50 % hemmt	S9-Mix aus Aroclor-induzierter Rattenleber	negativ	negativ	Dean et al., 1985
Chromosomenaberrationstest, Ovarzellen des chinesischen Hamsters (CHO), 100 Metaphasen/Konzentration analysiert	303 - 3010 mit S9-Mix, 101 - 2010 ohne S9-Mix	S9-Mix aus Aroclor-induzierter Rattenleber	leichter Anstieg der Zahl der Aberrationen mit steigender Konzentration	negativ	Loveday et al., 1989
Schwester-Chromatid-Austausch- (SCE) Test, Ovarzellen des chinesischen Hamsters (CHO), 50 Metaphasen/Konzentration analysiert	4352, 2176 oder 1088 (höchste Konzentration war toxisch)	S9-Mix ohne Angabe der Herkunft	negativ	negativ	Sorsa et al., 1988
Schwester-Chromatid-Austausch- (SCE) Test, Ovarzellen des chinesischen Hamsters (CHO), 50 Metaphasen/Konzentration analysiert	150 - 1500	S9-Mix aus Aroclor-induzierter Rattenleber	negativ	negativ	Loveday et al., 1989
L5178Y/TK-Test, Trifluorthymidinresistenz, Maus-Lymphoma-Zellen (L5178Y/TK ^{+/−})	keine Angaben	S9-Mix aus Aroclor-induzierter Rattenleber	negativ	negativ	Myhr et al., 1986

¹ sofern nicht angegeben, finden sich in den Publikationen keine Angaben zur zytotoxischen Wirkung sowie zur Reinheit und/oder zu eventuellen Verunreinigungen des verwendeten Diethanolamins

Auch an Säugerzellen verliefen alle durchgeführten Untersuchungen negativ. Weder an Rattenhepatozyten noch an Ovarzellen des chinesischen Hamsters konnten nach Behandlung mit Diethanolamin Chromosomenaberrationen festgestellt werden. Ein leichter Anstieg der Anzahl von Chromosomenaberrationen nach Behandlung von Ovarzellen mit Zusatz von S9-Mix wurde von den Autoren selbst als nicht ausreichend ausgeprägt angesehen, um relevant zu sein (Loveday et al., 1989). Eine Prüfung auf Schwester-Chromatid-Austausche an Ovarzellen des chinesischen Hamsters und ein Trifluorthymidinresistenz-Test an Maus-Lymphoma-Zellen erbrachten ebenfalls negative Ergebnisse, sodass sich auch bei Untersuchungen an Säugerzellen in vitro kein Hinweis auf ein gentoxisches Potenzial von Diethanolamin ergab.

7.6.2 In vivo

Die Frage, ob Diethanolamin in vivo Einzelstrangbrüche der DNA in Leberzellen hervorrufen kann, wurde an männlichen und weiblichen Wistar-Ratten geprüft. Die 6 bis 8 Wochen alten Tiere wurden teilhepatektomiert und während der Regenerationsphase der Leber mit Thymidin behandelt, das an der Methylgruppe mit Tritium markiert war und in die DNA eingebaut wurde. Nach einer Erholungszeit von mindestens 2 Wochen wurden je 2 weibliche und 2 männliche Tiere oral einmalig mit 910 mg Diethanolamin/kg Körpergewicht (40 % gelöst in Wasser; 99,7 % rein) behandelt. Eine gleiche Anzahl von Tieren als Negativkontrolle (nur Wasser) und eine Positivkontrolle, die 350 bzw. 300 mg Methylmethansulfonat/kg Körpergewicht (20 % gelöst in Wasser) erhielt, wurden mitgeführt. 6 Stunden nach der Applikation wurden die Tiere getötet, die Lebern entnommen und homogenisiert. Mit der Methode der alkalischen Elution wurden die DNA-Bruchstücke von der DNA getrennt und in allen Fraktionen wurde die Radioaktivität gemessen. Diethanolamin zeigte wie die Negativkontrolle ein eindeutig negatives Ergebnis, während Methylmethansulfonat als Positivkontrolle deutliche Einzelstrangbrüche der DNA erzeugte (Shell, 1982).

Im Rahmen einer subchronischen Studie (siehe auch Kapitel 7.5) wurde die Entstehung von Mikrokernen im peripheren Blut von Mäusen untersucht. Gruppen von je 10 männlichen und 10 weiblichen Mäusen (B6C3F1) wurden 13 Wochen lang mit Diethanolamin behandelt, das in Dosierungen von 0 (Kontrollen), 80, 160, 326, 630 oder 1250 mg/kg Körpergewicht täglich außer an den Wochenenden und an Feiertagen auf die Rückenhaut appliziert wurde. Am Ende der Behandlung wurde den Tieren Blut entnommen und in den Ausstrichen nach Fixierung mit absolutem Methanol und Anfärbung die Frequenz an Mikrokernen in 10000 normochromen Erythrozyten bestimmt. Diethanolamin bewirkte mit keiner Dosierung einen Anstieg der Zahl an Mikrokernen (NTP, 1992).

7.7 Kanzerogenität

In einer 2-Jahres-Kanzerogenitätsstudie des National Toxicology Program der USA wurden Gruppen von je 50 männlichen und 50 weiblichen Ratten (F344/N, 6 Wochen alt, mittleres Anfangsgewicht der Männchen 130 g, der Weibchen 105 g) mit Diethanolamin (> 99 % rein, gelöst in 95 % Ethanol)

103 Wochen lang täglich an den 5 Werktagen der Woche dermal behandelt. Die männlichen Tiere erhielten Dosierungen von 0 (Kontrollen), 16, 32 oder 64 mg/kg Körpergewicht und die weiblichen Tiere von 0 (Kontrollen), 8, 16 oder 32 mg/kg Körpergewicht auf die Rückenhaut appliziert. Des Weiteren wurden Gruppen von je 50 männlichen und 50 weiblichen Mäusen (B6C3F1, 6 Wochen alt, mittleres Anfangsgewicht der Männchen 23,5 g, der Weibchen 19,2 g) in gleicher Weise dermal behandelt. Männchen und Weibchen erhielten Dosierungen von 0 (Kontrollen), 40, 80 oder 160 mg/kg Körpergewicht dermal appliziert. Alle Ratten und Mäuse wurden während der gesamten Behandlungszeit einzeln gehalten. Vorzeitig verendete, moribund getötete und alle bis zum Behandlungsende überlebenden Tiere wurden seziiert und sowohl makroskopisch-pathologisch als auch histopathologisch umfassend untersucht. Die behandelten Ratten unterschieden sich in der mittleren Überlebenszeit nicht von den Kontrollen. Auch bei den Körpergewichtsentwicklungen traten keine deutlichen Unterschiede zur Kontrolle auf. Bei den Mäusen zeigten die Männchen die gleichen Überlebenszeiten wie die Kontrollen, bei den Weibchen war die Überlebenszeit dosisabhängig verkürzt, signifikant bei der höchsten Dosis. Männchen und Weibchen waren dosisabhängig in ihrer Körpergewichtsentwicklung gehemmt. Die bei der Sektion und bei den histopathologischen Untersuchungen beobachteten und nicht mit neoplastischen Veränderungen in Zusammenhang stehenden Befunde wurden bereits in Kapitel 7.5 beschrieben. Neoplastische Veränderungen traten bei den männlichen und weiblichen Ratten nur in dem Umfang auf, wie sie auch bei den Kontrollen beobachtet wurden. Bei den männlichen und weiblichen Mäusen wurde in allen Dosisgruppen eine gegenüber den Kontrollen deutlich erhöhte Zahl an Leberkarzinomen und an hepatozellulären Adenomen beobachtet (siehe Tabelle 7). Darüber hinaus waren die Größe und die Anzahl der neoplastischen Veränderungen/Tier bei den behandelten Tieren deutlich größer als bei den Kontrollen.

Tabelle 7. Anzahl der Mäuse/Gruppe mit neoplastischen und nicht neoplastischen Veränderungen der Leber nach 2-jähriger dermalen Behandlung mit Diethanolamin

	Dosierungen (mg/kg Körpergewicht/Tag)			
	0 (Kontrollen)	40	80	160
Männchen				
hepatozelluläre Adenome	31/50 (62 %)	42/50 (84 %)	49/50 (98 %)	45/50 (90 %)
	12/50 (24 %)*	36/50 (72 %)*	47/50 (94 %)*	41/50 (82 %)*
hepatozelluläre Karzinome	12/50 (24 %)	17/50 (34 %)	33/50 (66 %)	34/50 (68 %)
	2/50 (4 %)*	5/50 (10 %)*	14/50 (28 %)*	17/50 (34 %)*
Hepatoblastome	0/50 (0 %)	2/50 (4 %)	8/50 (16 %)	5/50 (10 %)
Lungenmetastasen	3/50	4/50	9/50	7/50
Weibchen				
hepatozelluläre Adenome	32/50 (64 %)	50/50 (100 %)	48/50 (96 %)	48/50 (96 %)
	16/50 (32 %)*	43/50 (86 %)*	46/50 (92 %)*	45/50 (90 %)*
hepatozelluläre Karzinome	5/50 (10 %)	19/50 (38 %)	38/50 (76 %)	42/50 (84 %)
	0/50 (0 %)*	6/50 (12 %)*	21/50 (42 %)*	26/50 (52 %)*
Lungenmetastasen	0/50	3/50	6/50	1/50
* Tiere mit multiplen Adenomen bzw. Karzinomen				

Das Ergebnis der histopathologischen Untersuchungen des neoplastischen Gewebes der Lebern war typisch für die üblicherweise an B6C3F1-Mäusen gemachten Beobachtungen mit dem Bild eines kontinuierlichen Übergangs von Adenomen zu Karzinomen. Letztere hatten oft einen Durchmesser von 1 cm und mehr, während die Adenome im Allgemeinen kleiner und schärfer abgegrenzt waren. Lungenmetastasen wurden in verschiedenen Tieren mit Karzinomen beobachtet, bei den Männchen auch bei den Kontrolltieren. In keinem der anderen Gewebe wurde eine gegenüber den Kontrollen erhöhte Häufigkeit von malignen Tumoren nach Behandlung mit Diethanolamin beobachtet. Männliche Mäuse zeigten einen Trend zur Erhöhung der Anzahl an tubulären Adenomen der Niere mit steigenden Dosierungen. Nach Anfertigung von Stufenschnitten durch die gesamte Niere ergab sich ein dosisabhängiger und signifikanter Anstieg der Zahl an Adenomen und Hyperplasien der Nierentubuli bei den männlichen Mäusen. Die Anzahl an Nierenkarzinomen war gegenüber der Kontrolle nicht erhöht. Verglichen mit den Kontrolltieren wurde bei den weiblichen und männlichen Mäusen ein Anstieg an Hyperplasien der Follikelzellen der Schilddrüse beobachtet. Der Effekt war signifikant und dosisabhängig. Tumoren traten nicht auf. Das National Toxicology Program fasste nach Durchlaufen des Peer Review-Prozesses das Ergebnis der 2-Jahres-Studie wie folgt zusammen: Unter den Bedingungen der Studie wurde kein Beweis (no evidence) für eine kanzerogene Wirkung von Diethanolamin an weiblichen und männlichen

F344/N-Ratten erbracht, aber ein klarer Beweis (clear evidence) einer kanzerogenen Wirkung von Diethanolamin an männlichen und weiblichen B6C3F1-Mäusen. Bestehen blieben Bedenken an der Aussage der Studie, die bei der Bewertung des Peer Review-Komitees angesprochen und von den Herstellern vorgebracht wurden und sich auf die Art der Diethanolamin-Applikation und die Interpretation der an den Mäusen beobachteten Erhöhung der Leberkarzinomhäufigkeit durch den Stoff bezogen. Durch die Gabe von Diethanolamin, gelöst in Ethanol und ohne Abdeckung, könnte eine Mischexposition dermal/oral nicht ausgeschlossen werden. Außerdem habe Ethanol selbst tumorpromovierende/kanzerogene Eigenschaften. Die orale Aufnahme von Diethanolamin könne zudem zur Bildung des als Krebs erzeugend bekannten N-Nitrosodiethanolamins im Magen führen, was durch die nachgewiesene hohe Zahl an Bakterien im eingesetzten Futter und die sehr hohen Dosierungen von Diethanolamin noch unterstützt würde. Auch wurde die hohe Tumorrates der Kontrollmäuse kritisiert. Trotz dieser Einwände bestätigten fast alle Gutachter die Aussage, dass die Studie einen klaren Beweis für die kanzerogene Wirkung von Diethanolamin nach dermalen Applikation an Mäusen erbracht hat (NTP, 1999 a).

Zur Abklärung des Mechanismus der Erzeugung von Lebertumoren durch Diethanolamin in Mäusen wurde eine Untersuchung durchgeführt, bei der Gruppen von 5 bis 6 männlichen B6C3F1-Mäusen (etwa 28 bis 30 g schwer) in verschiedener Weise mit Diethanolamin (99,7 % rein) und teilweise auch zusätzlich mit Natriumnitrit behandelt wurden. In einem ersten Ansatz wurde zwei Gruppen von Tieren eine Dosis von 160 mg/kg Körpergewicht täglich 2 Wochen lang auf die geschorene und enthaarte Rückenhaut appliziert, wobei den Tieren der einen Gruppe das Ablecken des Diethanolamins von der Applikationsstelle möglich war, dies bei den anderen aber durch eine entsprechende Vorrichtung verhindert wurde. Einer dritten Gruppe wurden parallel 160 mg Diethanolamin/kg Körpergewicht in Wasser gelöst täglich mit der Schlundsonde verabreicht. Als Kontrolle diente eine Gruppe von Tieren, die nur am Rücken geschoren und enthaart wurden, aber sonst unbehandelt blieben. Alle Tiere wurden einzeln gehalten und an den Applikationstagen 5 bis 7 und 12 bis 14 wurde der Urin gesammelt. 1 bis 2 Stunden nach der letzten Applikation wurden die Tiere getötet und ihr Blut durch Herzpunktion gewonnen. In einem zweiten Ansatz wurden gleiche Gruppen, Dosierungen und Applikationswege verwendet, nur dass die Tiere zusätzlich über das Trinkwasser etwa 40 mg Natriumnitrit/kg Körper-

gewicht aufnehmen mussten. Ebenfalls 1 bis 2 Stunden nach der letzten Applikation wurden die Tiere getötet und neben dem durch Herzpunktion gewonnenen Blut wurden der Mageninhalt und die Leber entnommen. Im Blut und Urin aller Tiere beider Ansätze wurde die Konzentration von N-Nitrosodiethanolamin gemessen, im zweiten Ansatz auch im Mageninhalt. Ebenfalls im Blut aller Tiere wurden die Aktivitäten der Alaninaminotransferase und der Aspartataminotransferase sowie die Konzentration an Diethanolamin bestimmt. In den Lebern der Tiere des zweiten Ansatzes wurden verschiedene Phospholipide sowie Cholin und Cholinmetaboliten bestimmt. Bei keinem der behandelten Tiere des ersten und zweiten Ansatzes konnte im Blut oder im Urin N-Nitrosodiethanolamin nachgewiesen werden. Auch der Mageninhalt der Tiere des zweiten Ansatzes enthielt kein N-Nitrosodiethanolamin. Die Konzentration von Diethanolamin im Blut, die am Ende der Behandlung gemessen wurde, war abhängig von der Art der Applikation. Sie betrug 7,7 µg/g Blut bei der oralen Applikation, 6,6 µg/g Blut bei der dermalen Applikation mit der Möglichkeit zum Ablecken und 5 µg/g Blut bei der dermalen Applikation mit Ausschluss der Ableckmöglichkeit, entsprechend 65 % der Konzentration nach oraler Applikation. Die behandelten Tiere wiesen keine klinischen Intoxikationserscheinungen auf und die Aktivitäten der Alaninaminotransferase und der Aspartataminotransferase waren bei den behandelten Tieren nicht von den Werten der Kontrolltiere unterschieden. Bei der Analyse der Lebern der Tiere des zweiten Ansatzes wurde gefunden, dass der Gehalt von Cholin, Phosphocholin und Glycerophosphocholin signifikant und abhängig von der Art der Applikation gesenkt war. Die orale Diethanolamin-Gabe hatte die stärkste Wirkung und senkte die Gehalte um 64, 84 bzw. 70 %. Bei der dermalen Applikation mit Verhinderung des Ableckens kam es zu einer Senkung um ca. 50, 70 bzw. 42 %. Die dermale Verabreichung mit der zusätzlichen Möglichkeit des Ableckens war nur geringfügig weniger wirksam als die orale Verabreichung. Die Gehalte der Lebern an Phosphatidylcholin und Phosphatidylethanolamin waren nur geringfügig und nicht signifikant gesenkt (Ausnahme: Phosphatidylethanolamin nach oraler Diethanolamin-Gabe um 20 %). Im Gegensatz dazu war der Gehalt an Sphingomyelinen in den Lebern der behandelten Tiere auf über das Doppelte nach oraler und nach dermalen Applikation mit oraler Aufnahmemöglichkeit im Vergleich zur Kontrolle erhöht. Die dermale Applikation ohne Ableckmöglichkeit führte zu einer Erhöhung des Sphingomyelin-Gehaltes der Leber auf das ca. 1½fache. Die Autoren sahen es damit als erwiesen an, dass bei einer offenen dermalen Applika-

tion, wie sie bei der Kanzerogenitätsstudie des NTP (NTP, 1999 a) angewendet wurde, deutlich mehr Diethanolamin von den Mäusen aufgenommen wurde und somit die Aufnahme zusätzlich auf oralem Weg erfolgte, als wenn eine abgedeckte dermale Applikationsform angewendet worden wäre. N-Nitrosodiethanolamin spielte nach Meinung von Stott et al. bei der Entstehung der Tumoren in der NTP-Studie keine Rolle. Dagegen nahmen die Autoren an, dass die drastische Senkung des Gehaltes an Cholin-haltigen Lipiden in der Leber in ursächlichem Zusammenhang mit dem Auftreten der Tumoren in diesem Organ steht (Stott et al., 2000).

Für die Beurteilung der kanzerogenen Wirkung von Diethanolamin nach dermalen lebenslanger Applikation bei Mäusen wurden vom NTP auch drei Studien herangezogen, in denen in identischer Weise, wie mit dem reinen Diethanolamin, die Kondensationsprodukte von Diethanolamin mit Kokosölsäure, Laurylsäure oder Ölsäure untersucht wurden (siehe Tabelle 8). Alle Versuchsbedingungen, bis auf die eingesetzten Dosierungen der Fettsäurekondensate, waren gleich dem bei NTP (NTP, 1999 a) beschriebenen Prüfverfahren, mit dem Diethanolamin als freies Amin geprüft wurde.

Tabelle 8. Ergebnisse der dermalen 2-Jahres-Studien zur Kanzerogenität von Kondensaten des Diethanolamins mit Fettsäuren im Vergleich zu der von reinem Diethanolamin bei Mäusen				
	Diethanolamin	Kokosölsäurekondensat	Laurylsäurekondensat	Ölsäurekondensat
Reinheit	> 99 %	nicht angegeben	90 %	95 %
Diethanolamin-Gehalt	> 99 %	18,2 %	0,83 %	0,19 %
N-Nitrosodiethanolamin-Gehalt	nicht bestimmbar	219 ppb	3600 ppb	68 ppb
eingesetzte Dosierungen (mg/kg Körpergewicht)	40, 80, 160	100, 200	100, 200	15, 30
Befunde an männlichen Mäusen	erhöhte Zahl von hepatozellulären Adenomen und Karzinomen, erhöhte Zahl an Lungenmetastasen sowie ein Trend zur Erhöhung der Anzahl an Adenomen der Nierentubuli ab der niedrigsten Dosis	erhöhte Zahl von hepatozellulären Adenomen und Karzinomen sowie Erhöhung der Anzahl an Adenomen der Nierentubuli bei der hohen Dosis	keine Effekte	keine Effekte
Befunde an weiblichen Mäusen	erhöhte Zahl von hepatozellulären Adenomen und Karzinomen sowie erhöhte Zahl an Lungenmetastasen ab der niedrigsten Dosis	erhöhte Zahl von hepatozellulären Adenomen und Karzinomen bei beiden Dosierungen	erhöhte Zahl von hepatozellulären Adenomen und Karzinomen bei beiden Dosierungen nur noch als Summe signifikant	keine Effekte

Mit dem Kokosölsäurekondensat und dem Laurylsäurekondensat wurden signifikante Erhöhungen der Anzahl an hepatozellulären Adenomen und Karzinomen gefunden, allerdings nicht in dem Ausmaß, wie nach Gabe des reinen Diethanolamins. Die Autoren führten diesen Effekt auf den in beiden Fettsäurekondensaten vorhandenen Anteil an freiem Diethanolamin zurück und wiesen auf die Tatsache hin, dass das Kokosölsäurekondensat mit dem höchsten Anteil an freiem Diethanolamin die deutlichste Wirkung zeigte, Laurylsäurekondensat mit einem sehr viel kleineren Anteil an freiem Diethanolamin nur noch eine geringere Wirkung hatte und Ölsäurekondensat, das frei von nicht umgesetztem Diethanolamin war, keine Erhöhung der Tumorfrequenz hervorrief (NTP, 1999 a, b, c, 2001). Auch bei diesen Studien gelten die für die Untersuchung mit reinem Diethanolamin beschriebenen Einwände. Besonders die Möglichkeit der oralen Aufnahme eines Teils der aufgetragenen Fettsäurekondensate ist zu bedenken, da diese im Magen in freie Fettsäure und Diethanolamin gespalten werden.

Da bei Diethanolamin eine genotoxische Wirkung nicht nachgewiesen werden konnte, lag die Vermutung nahe, dass die an Mäusen beobachtete kanzerogene Wirkung dieses Stoffes eher über einen nicht genotoxischen Mechanismus hervorgerufen wurde. Zur Stützung dieser Hypothese wurde an Mäusen eine Untersuchung durchgeführt, in welchem Ausmaß die Behandlung mit Diethanolamin Einfluss auf die Zellproliferation im Gewebe der Leber und der Niere hatte, wenn der gleiche Mäusestamm und die gleiche Dosierung wie bei der oben beschriebenen Kanzerogenitätsstudie (NTP, 1999 a) eingesetzt wurde. Dafür erhielten Gruppen von je 10 männlichen Mäusen (B6C3F1, 11 bis 12 Wochen alt und bei Versuchsbeginn 25,1 bis 28,9 g schwer) 160 mg Diethanolamin (99,6 % rein)/kg Körpergewicht gelöst in 96-prozentigem Ethanol täglich an 5 Tagen/Woche 1, 4 oder 13 Wochen lang auf die geschorene Rückenhaut appliziert. Zu jeder Gruppe von behandelten Tieren wurde eine Kontrollgruppe mitgeführt, die nur das reine Lösemittel bei sonst identischer Behandlung erhielt. Eine Woche vor dem Ende der Behandlung wurde allen Tieren eine osmotische Minipumpe subkutan implantiert, die ca. 200 µl einer Lösung von 5-Brom-2'-desoxyuridin (BrdU) enthielt. Diese Tiere wurden in der letzten Woche an allen 7 Tagen mit Diethanolamin behandelt. Futterverbrauch und Körpergewichtsänderungen wurden bei allen Tieren wöchentlich bestimmt. Am Ende der Untersuchung wurde nach der Sektion das Gewicht von Leber und Nieren bestimmt. Mit Hämatoxylin und Eosin angefärbte Schnitte wurden von

Lebergewebe (Lobus dexter lateralis und medialis), von Nierengewebe und von Gewebe des Jejunums, letzteres als positives Kontrollgewebe für die immunhistochemische Bestimmung der Zellproliferation, angefertigt. In dem Leber- und Nierengewebe wurde der Mitoseindex (relative Anzahl an Zellen mit Mitose) bestimmt. Mit immunhistologischen Verfahren wurde weiterhin die Zellproliferation (S-Phase) und die biologisch bedingten Zelluntergänge (Apoptose) in den gleichen Geweben gemessen, indem zum einen ein monoklonaler Antikörper (Anti-BrdU) und zum anderen die Streptavidin-Methode verwendet wurde. Nach Auswertung von jeweils mehr als 1000 Zellen in verschiedenen strukturellen Bereichen des Leber- und Nierengewebes wurde der prozentuale Anteil der Zellen festgestellt, der Bromdesoxyuridin (Zellproliferation) oder Streptavidin (Apoptose) aufgenommen hatte. Außer einem Spontanod in der 13. Behandlungswoche überlebten alle Tiere bis zum Behandlungsende und zeigten außer leichten Erythemen an der Applikationsstelle bei einzelnen Tieren keinerlei klinische Symptome. Auch die Körpergewichtsänderungen, der Futterverbrauch und die Körpergewichte am Versuchsende zeigten keine behandlungsbedingten Abweichungen von den Kontrollen. Das absolute und das relative Gewicht der Nieren waren nach allen Applikationszeiten signifikant erhöht. Absolutes und relatives Lebergewicht waren nach 1 und 4 Wochen Behandlung signifikant erhöht, nach 13 Wochen Behandlung nur noch das relative Lebergewicht. Histopathologische Veränderungen wurden nach 1 und 4 Wochen Behandlung in den Nieren nicht beobachtet und beschränkten sich in der Leber auf eine leichte zytoplasmatische Eosinophilie in der periportalen Zone bei der Hälfte der eingesetzten Mäuse. Auch nach 13 Wochen Behandlung zeigten sich in den Nieren keine behandlungsbedingten histopathologischen Veränderungen. In den Lebern aller mit Diethanolamin behandelten Mäuse zeigte sich eine leichte zytoplasmatische Eosinophilie in der periportalen Zone und bei 4/10 Tieren, die einer 13-wöchigen Behandlung unterzogen worden waren, traten in der zentrilobulären Zone mehrkernige Zellen auf. Bei einem Tier dieser Behandlungsgruppe wurde eine kleine Leberzellnekrose gesehen. Nach allen Behandlungszeiträumen war die Anzahl an Mitosen im Gewebe der Nieren gegenüber den Kontrollen erhöht, nicht aber im Lebergewebe. Die Anzahl der Zellen, die in der jeweils letzten Behandlungswoche Bromdesoxyuridin eingebaut hatten und damit ein Maß für die Zellproliferation war, stieg in Leber und Nieren nach allen Behandlungszeiträumen im Vergleich zu den Kontrollen signifikant an. In der Leber war dieser Effekt auf den zentrilobulären Bereich konzentriert, in

der Niere auf die proximalen Tubuli der Nierenrinde und den äußeren Teil der äußeren Medulla. Die Bestimmung der Apoptose erbrachte weder in der Leber noch in den Nieren unabhängig vom Behandlungszeitraum den Hinweis auf einen Effekt der Diethanolamin-Behandlung. Die anhaltend erhöhte Zellproliferation in Leber und Nieren und die erhöhte Mitoserate in der Niere nach Verabreichung von Diethanolamin unterstützten die Annahme, dass die Tumorbildung in den Lebern und Nieren männlicher Mäuse durch den genannten Stoff über einen nicht gentoxischen Mechanismus erfolgt (BASF, 2001; Mellert et al., 2004).

In einer weiteren Studie an Mäusen wurde der nicht gentoxische Mechanismus der durch Diethanolamin hervorgerufenen kanzerogenen Wirkung untersucht. In früheren Arbeiten war nachgewiesen worden, dass Diethanolamin in die Phospholipide der Leber anstelle von Cholin eingebaut wurde und damit die Biosynthese von Phosphatidylethanolamin und Phosphatidylcholin störte (Barbee und Hartung, 1979 b; Mathews et al., 1995) und dass Diethanolamin in Kulturen von Embryonalzellen des syrischen Hamsters die zelluläre Aufnahme von Cholin und die Synthese von Phosphatidylcholin hemmte sowie in Phospholipide eingebaut wurde, wenn nicht ein hoher Überschuss an Cholin im Kulturmedium vorhanden war (Lehman-McKeeman und Gamsky, 1999, 2000). Da in einer Reihe von Untersuchungen von verschiedenen Autoren nachgewiesen worden ist, dass eine Cholin-freie Ernährung bei Nagetieren hepatokarzinogen oder in Verbindung mit bekannten kanzerogenen Stoffen promovierend auf die Bildung von Lebertumoren wirkt, lag die Vermutung nahe, dass zwischen der beobachteten kanzerogenen Wirkung von Diethanolamin und der durch diesen Stoff hervorgerufenen Beeinflussung des Cholin-Stoffwechsels ein Zusammenhang bestehen könnte. Es wurden daher Gruppen von je 8 männlichen Mäusen (B6C3F1, 6 Wochen alt) entweder 2 Wochen lang mit einer die normale Menge an Cholin enthaltenden (0,25 %) oder einer Cholin-freien Diät gefüttert, anschließend die Lebern entnommen, schockgefroren und der Gehalt an Phosphocholin, Glycerophosphocholin, Cholin, Phosphatidylcholin, S-Adenosylmethionin und S-Adenosylhomocystein bestimmt. Das Körpergewicht und das Lebergewicht der Tiere wurden am Ende der Untersuchung bestimmt. Von mitgeführten Extragruppen von je 4 Tieren wurde Blut für klinisch-chemische Analysen entnommen und die Lebern wurden histopathologisch begutachtet. Parallel dazu wurden Gruppen von je 6 der männlichen B6C3F1-Mäuse mit Diethanolamin in Dosierungen von 10, 20,

40, 80 oder 160 mg/kg Körpergewicht 4 Wochen lang täglich an 5 Tagen/Woche behandelt. Den Tieren wurde das in 95-prozentigem Ethanol gelöste Diethanolamin (99 % rein) auf die geschorene Rückenhaut verabreicht. Als Kontrollen wurden Mäuse mitgeführt, die nur Ethanol erhielten, und Mäuse, die ganz unbehandelt blieben. Zwei weitere Gruppen von je 6 der gleichen Mäuse wurden ebenfalls 4 Wochen lang entweder mit 160 mg Diethanolamin/kg Körpergewicht oder nur mit Ethanol behandelt und nach der Behandlung noch 2 Wochen nachbeobachtet. Alle diese Tiere wurden mit normaler, Cholin-haltiger Diät gefüttert. Am Ende der Behandlungs- bzw. der Nachbeobachtungszeit wurden die Tiere getötet, die Lebern entnommen und die gleichen Analysen an den Lebern, wie bei den mit der Cholin-freien Diät gefütterten Tieren, durchgeführt. Parallel mitbehandelten Tieren wurde Blut für klinisch-chemische Analysen entnommen und ihre Lebern wurden histopathologisch untersucht. Schließlich wurden die obigen Untersuchungen auch noch an einem anderen Mäusestamm (C57BL/6) durchgeführt, um mögliche Unterschiede zwischen den einzelnen Mäusestämmen zu erkennen. Diese zu Versuchsbeginn ebenfalls 6 Wochen alten männlichen Tiere wurden mit 160 mg Diethanolamin/kg Körpergewicht oder mit Ethanol in der gleichen Weise wie oben beschrieben 4 Wochen lang behandelt. Eine unbehandelte Kontrollgruppe wurde mitgeführt. Anschließend wurden auch hier die Lebern entnommen und die Analysen in gleicher Weise wie bei den anderen Mäusen durchgeführt. Die Fütterung der B6C3F1-Mäuse mit Cholin-freier Diät führte im Vergleich zu normal ernährten Tieren zu einem signifikanten Rückgang des Gehaltes an Cholin und seiner Metaboliten in der Leber, wobei der Gehalt an Phosphocholin, der intrazellulären Speicherform des Cholins, am deutlichsten um 75 % abfiel. Am geringsten gesenkt war der Gehalt an Phosphatidylcholin. Die Konzentration an S-Adenosylmethionin in den Lebern war um 20 % erniedrigt, während die S-Adenosylhomocystein-Konzentration anstieg. Das Körpergewicht und das relative Lebergewicht wurden durch die Cholin-freie Diät nicht beeinflusst und es waren keine histopathologischen Veränderungen im Sinne einer Leberverfettung zu beobachten. Deutlich verändert war der Triglycerid-Gehalt im Serum, der unter der Diät um etwa 50 % abfiel. In den Lebern von mit Diethanolamin behandelten Mäusen wurden die gleichen Effekte wie nach Fütterung mit Cholin-freier Diät gefunden. Der Gehalt an Phosphocholin war ab einer Dosis von 20 mg/kg Körpergewicht dosisabhängig und signifikant erniedrigt, in der höchsten Dosis um 50 %. Die Gehalte an Glycerophosphocholin und Cholin waren ab 40 bzw. 80 mg/kg

Körpergewicht dosisabhängig erniedrigt, der Gehalt an Phosphatidylcholin nur bei der höchsten Dosis. Ab einer Dosis von 80 mg/kg Körpergewicht war wie bei den mit Cholin-freier Diät gefütterten Mäusen der S-Adenosylmethionin-Gehalt signifikant gesenkt und der S-Adenosylhomocystein-Gehalt signifikant erhöht. Alle Effekte waren nach einer 14-tägigen behandlungsfreien Nachbeobachtungszeit nicht mehr nachweisbar. Fettlebern wurden auch bei den mit Diethanolamin behandelten Mäusen nicht beobachtet und im Gegensatz zu den mit Cholin-freier Diät gefütterten Tieren war der Triglycerid-Gehalt im Serum nicht erniedrigt. Die gleich behandelten Mäuse des Stammes C57BL/6, die sich von den B6C3F1-Mäusen u. a. durch höhere S-Adenosylmethionin-Gehalte in der Leber unterscheiden, reagierten auf die Diethanolamin-Behandlung mit einer signifikanten Senkung des Phosphocholin-Gehaltes, nicht aber des S-Adenosylmethionin-Gehaltes in der Leber. Keinerlei Unterschiede in den untersuchten Parametern konnten zwischen den mit reinem Ethanol behandelten Mäusen und den unbehandelten Kontrollen festgestellt werden, abgesehen von einer Erniedrigung des Gehaltes an Betain um etwa 20 %. Die Behandlung der Mäuse mit Diethanolamin gelöst in Ethanol führte zu keiner Verstärkung dieses Effektes. Die Autoren kamen zu der Feststellung, dass die Behandlung mit Diethanolamin in gleichen Dosierungen wie in der vom NTP durchgeführten Kanzerogenitätsstudie (NTP, 1999 a) an Mäusen zu biochemischen Veränderungen in den Lebern führte, wie sie auch nach Cholin-freier Ernährung beobachtet wurden, und dass dies als Ursache für die nach solcher Ernährung auftretenden Lebertumoren angesehen werden kann. Diese Wirkung des Diethanolamins war dosisabhängig mit einem no effect level (NOEL) von 10 mg/kg Körpergewicht und spricht mit hoher Wahrscheinlichkeit für einen nicht gentoxischen Mechanismus für die Entstehung der in der Kanzerogenitätsstudie beobachteten Lebertumoren. Die durch die Behandlung mit Ethanol hervorgerufene Erniedrigung des Betain-Gehaltes der Leber, die ebenso wie Veränderungen der Gehalte an Cholin, Cholinmetaboliten, S-Adenosylmethionin und S-Adenosylhomocystein störend in den Methylgruppenstoffwechsel eingreift, könnte zusätzlich die Wirkung des Diethanolamins verstärkt haben (Lehman-McKeeman et al., 2002).

Mit Diethanolamin wurde ein Zelltransformationstest an Embryonalzellen des syrischen Hamsters durchgeführt. Mit Röntgenstrahlen behandelte „Futterzellen“ wurden mit 6×10^4 Zellen/60 mm-Plastikschale ausgesät. Einen Tag später wurden derselben Schale etwa 500 „Zielzellen“ zugefügt.

Jeweils 9 Schalen wurden für jede Konzentration angesetzt. Nach 24 Stunden wurden Diethanolamin-Konzentrationen von 0 (Kontrollen), 25, 50, 100, 200 bzw. 500 µg/ml zugesetzt und die Schalen 8 Tage unter Kulturbedingungen gehalten. Danach wurden die Platten mit Methanol fixiert und mit Giemsa angefärbt. Die Gesamtzahl an Kolonien und die Zahl an transformierten Kolonien/Platte wurden gezählt. Als Positivkontrolle diente 3-Methylcholanthren in Konzentrationen von 0,1, 0,5 bzw. 1 µg/ml. Diethanolamin führte in keinem Fall zur Transformation von Zellen. Ab 100 µg/ml trat eine deutliche, bis zu 500 µg/ml dosisabhängig gesteigerte Zelltoxizität auf, sodass bei der höchsten Konzentration nur noch ca. 40 % Kolonien bezogen auf die Lösemittelkontrolle (0,2 % DMSO) im Vergleich zu 100 % bei der niedrigsten Konzentration gefunden wurden (Inoue et al., 1982). Das Ergebnis erscheint in seiner Relevanz fragwürdig, da bei der Positivkontrolle nur bei der höchsten und mittleren Konzentration jeweils eine transformierte Kolonie/1000 normalen Kolonien beobachtet wurde.

In einer weiteren Untersuchung wurde die Fähigkeit von Diethanolamin zur Erzeugung von Zelltransformationen ebenfalls an Embryonalzellen des syrischen Hamsters geprüft. Jeweils 20 Kulturplatten/Konzentration, auf denen 25 bis 45 der Embryonalzellen zu Kolonien auswuchsen, wurden mit Diethanolamin-Konzentrationen von 0 (Kontrollen), 2500, 3000, 3500, 4000 bzw. 4500 µg/ml Medium für 24 Stunden inkubiert. Nach 6 bis 7 weiteren Tagen ohne Diethanolamin wurden die gebildeten Kolonien mit Methanol fixiert, mit Giemsa angefärbt und im Stereomikroskop auf morphologische Transformationen untersucht. Dieser Test wurde zweimal durchgeführt und die Ergebnisse wurden zusammen ausgewertet, sodass für jede Konzentration 1000 und mehr Kolonien begutachtet wurden. Parallel wurde eine weitere Untersuchung durchgeführt, bei der die Diethanolamin-Konzentrationen von 0 (Kontrollen), 250, 500, 1000, 1500 bzw. 2500 µg/ml Medium über die ganzen 7 Tage des Koloniewachstums auf den Platten belassen wurden. Nach 24 Stunden Einwirkungszeit war die Zahl der transformierten Kolonien bei zwei Konzentrationen (3000 und 4500 µg/ml) signifikant gegenüber der Kontrolle erhöht und bei zwei weiteren Konzentrationen (3500 und 4000 µg/ml) zeigte sich eine deutliche Tendenz. Wirkte Diethanolamin 7 Tage lang auf die Zellen und wachsenden Kolonien ein, so war die Zahl der transformierten Kolonien bei allen Konzentrationen signifikant erhöht (13 bis 18 transformierte Kolonien), abgesehen von der höchsten Konzentration, die sehr stark zytotoxisch wirkte (Kerckaert et al., 1996).

Ausgehend von den Untersuchungen von Kerckaert et al. (1996) wurden Studien durchgeführt, um den molekularen bzw. biochemischen Wirkungsmechanismus der durch Diethanolamin erzeugten Zelltransformationen aufzuklären. Ausgangspunkt der Überlegungen war die nahe strukturelle Verwandtschaft von Diethanolamin zu Cholin und Ethanolamin und der nachgewiesene Einbau von Diethanolamin in die Phospholipide (siehe auch Kapitel 7.1). Es wurde daher an Embryonalzellen des syrischen Hamsters (SHE-Zellen) geprüft, inwieweit Diethanolamin die Phospholipidbiosynthese beeinflusst, ob Diethanolamin in Phospholipide eingebaut wird und inwieweit diese Vorgänge für die Transformation von SHE-Zellen verantwortlich gemacht werden können. Wurden die Zellen in Petrischalen 48 Stunden lang inkubiert, nachdem ihnen jeweils 10 μCi ^{33}P -Phosphorsäure oder 10 μCi ^{14}C -Cholin zugesetzt worden waren und das Inkubationsmedium 0 (Kontrollen) oder 500 μg Diethanolamin (99 % rein) enthielt, so zeigte sich, dass die Anwesenheit von Diethanolamin den Einbau von ^{33}P in die Phosphatidylcholine um 86 % und den Einbau von ^{14}C um 70 % hemmte. Bei der Inkubation von SHE-Zellen in einem Medium, dem ^3H -Cholin (5 $\mu\text{Ci}/\text{ml}$) zugesetzt worden war und das 0 (Kontrollen), 10, 50, 100, 250 oder 500 μg Diethanolamin/ml enthielt, wurde die Cholin-Aufnahme (gemessen als nach 10 Minuten aufgenommene Radioaktivität) ab einer Diethanolamin-Konzentration von 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ deutlich und bei den beiden höchsten Konzentrationen um bis zu 85 % gehemmt. In weiteren Untersuchungen wurden genau die Bedingungen eingehalten, wie bei den Transformationstesten von Kerckaert et al. (1996). Den SHE-Zellen wurden 10 μCi ^{33}P -Phosphorsäure zugesetzt und 0 (Kontrollen), 10, 50, 100, 250 oder 500 μg Diethanolamin/ml sowie teilweise noch ein großer Überschuss an Cholin (30 mM als Chlorid). Nach 7 Tagen Inkubation wurden der Einbau von ^{33}P in die Phosphatidylcholine der Zellen, die Aufnahme von Diethanolamin in die Phospholipidfraktion und der Einfluss der Cholin-Zugabe gemessen. In diesen Untersuchungen wurde der Einbau von ^{33}P in Phosphatidylcholine durch die höchste Diethanolamin-Konzentration um 60 % gehemmt und 12 % des eingesetzten ^{14}C -Diethanolamins wurden nach 7 Tagen in der Phospholipidfraktion der SHE-Zellen gefunden. Die Zugabe von Cholin im Überschuss verhinderte beide Effekte vollständig. Eine signifikante Konzentrationsabhängigkeit konnte für die Hemmung der Phosphatidylcholinsynthese (gemessen als ^{33}P -Einbau) durch Diethanolamin ab einer Konzentration von 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ nachgewiesen werden. Schließlich wurde der von Kerckaert et al. (1996) durchgeführte Zelltransformationstest mit

SHE-Zellen mit und ohne Zugabe von 30 mM Cholin wiederholt. Das Ergebnis von 1996 wurde bestätigt und es wurde nachgewiesen, dass Cholin im Überschuss auch hier die Wirkung des Diethanolamins verhinderte. Die Autoren zogen aus den Befunden den Schluss, dass Diethanolamin die Aufnahme von Cholin in die Zelle hemmte und damit die Verfügbarkeit von Cholin in der Zelle herabsetzte. Zudem wurde Diethanolamin als unnatürlicher Baustein in die Phospholipide aufgenommen. Diese Vorgänge waren kompetitiv, da die Effekte durch einen Überschuss an Cholin aufgehoben wurden. Hierin sahen die Autoren einen plausiblen Mechanismus zur Erklärung der Zelltransformation durch Diethanolamin und vermuteten, dass die kanzerogenen Effekte von Diethanolamin durch einen intrazellulären Cholin-Mangel verursacht sein könnten (Lehman-McKeeman und Gamsky, 2000).

Auch an Ovarialzellen des syrischen Hamsters (CHO-K1) wurde der Einfluss von Diethanolamin auf die Aufnahme von Cholin und die Phospholipidsynthese in den Zellen untersucht. 3×10^5 Zellen/Platte wurden in 3 ml Medium, dem 0 (Kontrollen), 20, 50, 100, 200, 500 oder 1000 μg Diethanolamin (99 % rein)/ml zugesetzt worden waren, 48 Stunden lang inkubiert. Zur Bestimmung der Phospholipidsynthese waren pro Platte 10 μCi ^{33}P -Phosphorsäure zugegeben worden sowie teilweise auch ein Überschuss an Cholin (30 mM als Chlorid). Der Einbau von Diethanolamin in die Phospholipide der Zellen wurde durch Zugabe von 500 μg ^{14}C -Diethanolamin/ml (10 μCi /Platte) zu einer sonst unbehandelten Kultur und 48-stündiger Inkubation gemessen. Am Ende der Inkubationszeit wurden die Phospholipide isoliert und dünnschichtchromatographisch getrennt und es wurde die Radioaktivität in einzelnen Fraktionen und in der Gesamtheit gemessen. Zur Untersuchung des Einflusses von Diethanolamin auf die Cholin-Aufnahme der CHO-Zellen wurden diese über Nacht im Medium inkubiert und am Morgen mit frischem Medium, das 0 bis 500 μg Diethanolamin/ml enthielt und dem 100 μM ^3H -Cholin (5 μCi /Platte) zugesetzt war, weitere 10 Minuten lang gehalten. Danach wurde die Cholin-Aufnahme durch Einbringen der Zellen in eiskalte Kochsalzlösung gestoppt und die von den Zellen aufgenommene Radioaktivität gemessen. Es konnte gezeigt werden, dass Diethanolamin den Einbau von ^{33}P in Phosphatidylcholine dosisabhängig bis zu 76 % hemmte. Dieser Effekt war bereits bei einer Dosis von 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ deutlich erkennbar. Noch deutlicher war die Wirkung von Diethanolamin auf die Cholin-Aufnahme der Zellen, die von allen geprüften Diethanolamin-Konzentrationen stark gehemmt wurde und bei 250

und 500 µg/ml 95 % erreichte. Die gleichzeitige Zugabe von Cholin im Überschuss verhinderte die Hemmung des ³³P-Einbaus in Phosphatidylcholine durch Diethanolamin vollständig. ¹⁴C-Diethanolamin wurde während der 48-stündigen Inkubation zu etwa 20 % in Phospholipide der Zellen eingebaut und erschien bei der Aufarbeitung vorwiegend in der Phosphatidylethanolaminfraktion. Diese Befunde zeigten, dass Diethanolamin reversibel und kompetitiv die Synthese der Phosphatidylcholine in der Zelle hemmte, indem es die Aufnahme von Cholin in die Zelle blockierte (Lehman-McKeeman und Gamsky, 1999).

Diethanolamin wurde zusätzlich in einem Kurzzeittest zur Prüfung kanzerogener Eigenschaften unter Verwendung transgener Mäuse untersucht. Eingesetzt wurde der Stamm TG.AC, der ein mutiertes v-Ha-ras-Gen trug. Dieser Stamm entwickelt innerhalb weniger Wochen benigne Papillome der Haut nach der dermalen Applikation von Tumorpromotoren, Initiatoren oder nach einer tiefen Verletzung der Haut, die in Hautkrebs übergehen können. Spontane Papillombildung wird kaum oder gar nicht gesehen. Für die Prüfung von Diethanolamin wurden Gruppen von 10 bis 15 Weibchen 10 bis 12 Wochen alter TG.AC-Mäuse verwendet, die mit 20 mg Diethanolamin/Tier, mit 200 µl Ethanol/Tier (Lösemittelkontrolle) oder mit 1,25 µg 12-O-Tetradekanoylphorbol-13-acetat/Tier (Positivkontrolle) an der geschorenen Rückenhaut täglich an 5 Tagen/Woche über 20 Wochen behandelt wurden. Am Ende der Behandlung zeigten die mit Diethanolamin und die mit Ethanol behandelten Tiere keine Papillome (keine Angabe zur Positivkontrolle; Tennant et al., 1995).

Für die Frage der kanzerogenen Wirkung von Diethanolamin ist es von Bedeutung, dass die N-Nitroso-Verbindung dieses Stoffes, das N-Nitrosodiethanolamin, in Untersuchungen an Ratten nachweislich Krebs erzeugende Eigenschaften hatte, wie mehrfach belegt wurde (Preussmann et al., 1982; Berger et al., 1990). Auch gentoxische Eigenschaften des N-Nitrosodiethanolamins wurden in vitro an Leberzellen von Ratten, Hamstern und Schweinen durch deutliche Vermehrung der Einzelstrangbrüche in der DNA nach Behandlung mit dem Stoff nachgewiesen (Pool et al., 1990). N-Nitrosodiethanolamin wird im Magen aus Diethanolamin und Nitrit gebildet. Letzteres kann mit der Nahrung aufgenommen werden oder durch Reduktion aus Nitrat entstehen. Nach einmaliger dermalen Applikation von Diethanolamin an Ratten, die gleichzeitig Natriumnitrit im Trinkwasser verabreicht erhielten, schieden die Tiere N-Nitrosodiethanolamin mit dem Urin

aus. Männliche Sprague-Dawley-Ratten (300 ± 50 g schwer) erhielten 6 Tage lang eine Lösung von 2000 ppm Natriumnitrit (entsprechend 2 g/l) in Wasser als einziges Trinkwasser angeboten. Am 6. Tag wurde unverdünntes Diethanolamin als einmalige Applikation in Mengen von 100 (9 Tiere), 200 (9 Tiere), 300 (26 Tiere) bzw. 400 mg/Tier (16/Tiere) auf die geschorene Rückenhaut aufgetragen. Die Natriumnitrit-Gabe wurde weitere 5 Tage fortgesetzt, während derer der jeweilige 24-Stunden-Urin gesammelt und auf N-Nitrosodiethanolamin untersucht wurde. Als Kontrollgruppen wurden 21 Tiere mitgeführt, die kein Diethanolamin erhielten, und 16 Tiere, die zwar 200 bis 300 mg Diethanolamin erhielten, aber nicht mit Natriumnitrit im Trinkwasser behandelt wurden. Im Urin dieser Kontrollgruppen war kein N-Nitrosodiethanolamin nachweisbar. In allen anderen Tieren konnte N-Nitrosodiethanolamin im Urin in stark schwankenden Mengen bis zu einer Gesamtmenge von 150 µg bei einem Tier, das mit 300 mg Diethanolamin behandelt worden war, nachgewiesen werden. Die Autoren sahen diesen Befund als Beweis dafür an, dass das N-Nitrosodiethanolamin im Körper aus resorbiertem und in den Speichel oder Magensaft abgegebenem Diethanolamin gebildet wird (Preussmann et al., 1981).

7.8 Reproduktionstoxizität

Eine Embryotoxizitäts-/Teratogenitätsstudie wurde an Ratten (CD-Sprague-Dawley) durchgeführt. Gruppen von 7 bis 11 weiblichen Tieren, die 12 bis 14 Wochen alt und trächtig waren, wurden von Tag 6 bis 15 der Trächtigkeit mit in Wasser gelöstem und mit Salzsäure neutralisiertem Diethanolamin (99,8 % rein) täglich in Dosierungen von 0 (Kontrollen), 50, 200, 500, 800 oder 1200 mg/kg Körpergewicht per Schlundsonde behandelt. Alle überlebenden Tiere wurden am Tag 20 der Trächtigkeit getötet und schnittentbunden. Bestimmt wurden das Körpergewicht, die Zahlen der Implantationen, der Resorptionen, der lebenden und der toten Feten sowie das Uterusgewicht. Alle Tiere der 3 höheren Dosisgruppen (500, 800 und 1200 mg/kg Körpergewicht) verendeten innerhalb weniger Tage nach Beginn der Behandlung oder mussten moribund getötet werden. In der mit 200 mg Diethanolamin/kg Körpergewicht behandelten Gruppe lagen die Körpergewichte der Muttertiere unterhalb der der Kontrollen und bei einem Tier war der gesamte Wurf resorbiert. Alle anderen Muttertiere dieser und der niedrigsten Dosisgruppe zeigten sonst keinerlei Effekte der Diethanol-

amin-Behandlung. Auch embryotoxische oder teratogene Effekte waren nicht nachzuweisen (EHRT, 1990).

In einer weiteren ausführlichen Prüfung auf die reproduktionstoxische Wirkung von Diethanolamin wurden Gruppen von je 12 trächtigen weiblichen Ratten (Sprague-Dawley, ca. 250 g schwer) von Tag 6 bis 19 der Trächtigkeit einmal täglich mit Diethanolamin (98 % rein) gelöst in Wasser und mit Salzsäure neutralisiert mit der Schlundsonde behandelt. Es wurden Dosierungen von 0 (Kontrollen), 50, 125, 200, 250 oder 300 mg Diethanolamin/kg Körpergewicht eingesetzt. Während der Trächtigkeit und der Laktationsperiode wurden die Futter- und die Wasseraufnahme sowie das Körpergewicht der Muttertiere in Abständen bestimmt. Am 21. Tag nach der Geburt der Jungtiere wurden die Muttertiere getötet, Leber- und Nierengewichte bestimmt und die Zahl der Implantationsstellen im Uterus ermittelt, um die Postimplantationsverluste errechnen zu können. Es wurden die Zahlen der lebenden und der toten Tiere/Muttertier ermittelt und alle extern erfassbaren Missbildungen registriert. Das Körpergewicht der lebenden Jungtiere wurde direkt nach der Geburt und 4, 7, 14 und 21 Tage danach bestimmt. 7 Tage nach der Geburt wurden die Würfe auf maximal 8 Tiere (optimal 4 männliche und 4 weibliche) reduziert und die übrigen Tiere seziert und makromorphologisch befundet. Alle überlebenden Jungtiere wurden am Tag 21 nach der Geburt ebenfalls seziert und makropathologisch begutachtet. Alle Muttertiere der höchsten Dosisgruppe verloren nach Beginn der Behandlung deutlich an Körpergewicht, 2 verendeten am 6. Behandlungstag, die anderen wurden am 9. Behandlungstag getötet und damit aus der Untersuchung ausgeschieden. In der mit 250 mg Diethanolamin/kg Körpergewicht behandelten Gruppe starben 2 Tiere am Trächtigkeitstag 15 bzw. 21. Das Körpergewicht sowie die Körpergewichtsentwicklung waren in dieser Gruppe während und auch nach der Behandlung deutlich vermindert. In der 200 mg/kg Körpergewicht-Gruppe kam es zu den gleichen Effekten in abgeschwächter Form. Ein Tier starb am 22. Tag der Trächtigkeit und Körpergewichte und Körpergewichtsentwicklung waren, wenn auch in geringerem Ausmaß, vermindert. In den beiden niedrigsten Dosisgruppen (50 und 125 mg/kg Körpergewicht) wurden bei den Muttertieren keine Todesfälle oder Körpergewichtsveränderungen im Vergleich zu den Kontrollen beobachtet. Die relative Futteraufnahme der Muttertiere war in den beiden hohen Dosierungen zeitweise und nicht dosisabhängig erniedrigt und die relative Wasseraufnahme war in der 250 und in der 125

mg/kg Körpergewicht-Gruppe einige Tage während der Behandlung reduziert. Bei der Sektion zeigten die Muttertiere aller Gruppen keine behandlungsbedingten Befunde. Die relativen und die absoluten Lebergewichte waren nicht beeinflusst. Bei den absoluten Nierengewichten kam es zu einer signifikanten und dosisabhängigen Erhöhung ab einer Dosis von 125 mg/kg Körpergewicht. Postimplantationsverluste traten vermehrt ab einer Dosis von 200 mg/kg Körpergewicht auf und die Mortalität der Jungtiere bis zum 4. Tag nach der Geburt war ab einer Dosis von 125 mg/kg Körpergewicht erhöht. Das Körpergewicht der Jungtiere war ab einer Dosis von 200 mg/kg Körpergewicht reduziert. Ab dem 5. Tag post partum traten bei den Jungtieren keine Todesfälle mehr auf. Bei den 7 oder 21 Tage nach der Geburt getöteten Jungtieren wurden keine behandlungsbedingten morphologischen Anomalien oder Organdefekte gefunden. Mit der vorstehend beschriebenen Studie wurde der no observed adverse effect level (NOAEL) für die maternale Toxizität und die Reproduktionstoxizität von Diethanolamin an Raten mit jeweils 50 mg/kg Körpergewicht bestimmt (RTI, 1999).

In einem Screening auf reproduktionstoxische Effekte nach Chernoff und Kavlock wurde einer Gruppe von 50 zum ersten Mal trächtigen, 6 bis 8 Wochen alten CD-1-Mäusen vom 6. bis 15. Tag der Trächtigkeit Diethanolamin in Wasser gelöst täglich mit der Schlundsonde verabreicht. Es wurde die in Vorversuchen bestimmte Letaldosis 10 (LD_{10}) von 450 mg/kg Körpergewicht eingesetzt, die in 10 ml Wasser/kg Körpergewicht verabreicht wurde. Eine Kontrollgruppe von 50 trächtigen Mäusen wurde parallel nur mit Wasser behandelt. Bestimmt wurden das Körpergewicht der Muttertiere zu Beginn der Diethanolamin-Behandlung bis zu 3 Tagen nach der Geburt der Jungen, die unter der Behandlung bei den Muttertieren auftretenden klinischen Zeichen von Toxizität, die Anzahl der lebend und die der tot geborenen Jungtiere, deren Gewicht am Tag der Geburt und 3 Tage danach sowie die Anzahl der Jungtiere, die die ersten 3 Tage ihres Lebens nicht überlebten. Bei den Muttertieren traten weder in der Kontrolle noch nach Behandlung mit Diethanolamin Intoxikationserscheinungen oder Todesfälle auf. Während der Behandlungsperiode und bis zum Tag der Geburt der Jungen entsprach die Körpergewichtsentwicklung der behandelten Muttertiere der der Kontrolltiere. Direkt nach der Geburt war ihr Gewicht gegenüber den Kontrollen erhöht, am dritten Tag nach der Geburt erniedrigt (30,3 g zu 32,2 g bzw. 34,5 g zu 32,4 g). Die Zahl der Muttertiere, die unter den Bedingungen der Studie lebende Junge zur Welt brachten, die Zahl

der Muttertiere mit toten Würfen sowie die Anzahl der Jungtiere/Wurf waren in der Kontrollgruppe und in der behandelten Gruppe gleich. Am dritten Tag nach der Geburt waren aber aus der behandelten Gruppe deutlich mehr Jungtiere verendet als bei den Kontrollen. Die Überlebensrate in der Diethanolamin-Gruppe betrug 77 %, die der Kontrollgruppe 95 %. Das Gewicht der lebenden Neugeborenen am Tag der Geburt war in der behandelten Gruppe und in der Kontrollgruppe gleich. Das Gewicht der lebenden Jungtiere 3 Tage nach der Geburt war in der behandelten Gruppe signifikant niedriger als in der Kontrollgruppe. Die Erniedrigung der Zahl an lebenden Nachkommen und der Gewichtsentwicklung der überlebenden Jungtiere sahen die Autoren als Hinweis auf eine reproduktionstoxische Wirkung von Diethanolamin an (EHRT, 1986).

Gruppen von je 25 trächtigen weiblichen Ratten (Sprague-Dawley, CD) wurden in einer Embryotoxizitäts-/Teratogenitätsstudie vom 6. bis 15. Tag der Trächtigkeit täglich mit Diethanolamin (99,5 bis 99,9 % rein) dermal behandelt. Die Tiere erhielten den Stoff in Wasser gelöst jeweils für 6 Stunden unter einem Okklusivverband auf die geschorene Rückenhaut appliziert. Es wurden Dosierungen von 0 (Kontrollen), 150, 500 oder 1500 mg/kg Körpergewicht jeweils in 4 ml Wasser/kg Körpergewicht verwendet. Körpergewichtsentwicklung, Futterverbrauch und Wirkung des Diethanolamins auf die Haut an der Applikationsstelle wurden laufend beobachtet. Am 21. Tag der Trächtigkeit wurde den Tieren für hämatologische Untersuchungen retroorbital Blut entnommen. Anschließend wurden sie sezirt und makromorphologisch befundet. Die Lebern, Uteri und Nieren der Muttertiere wurden gewogen und die Geschlechts- und Reproduktionsorgane makroskopisch begutachtet. Lebende und tote Feten sowie Resorptionen wurden gezählt. Alle lebenden Feten wurden gewogen und auf externe Veränderungen oder Missbildungen untersucht. Etwa die Hälfte der lebenden Feten wurde auf Abnormalitäten der Eingeweide und auf Deformationen des Kopfes untersucht. Die andere Hälfte wurde nach Anfärben mit Alizarinrot S auf Skelettmissbildungen oder -veränderungen untersucht. Während der Studie kam es in keiner der Gruppen zu Todesfällen. Die Haut der behandelten Tiere war dosisabhängig am Applikationsort geschädigt. Bei der höchsten Dosis kam es zu Verkrustungen, Nekrosen und Hautblutungen, bei den niedrigeren Dosierungen wurden in abnehmender Intensität Verkrustungen beobachtet. Bis auf wenige Tiere, die nicht trächtig geworden waren (2 in der Kontrolle, ein Tier in der 150 mg/kg Körpergewicht-Gruppe

und 3 in der höchsten Dosisgruppe) durchliefen alle Tiere eine normale Trächtigkeit. Die Körpergewichtsentwicklung und der Futterverbrauch der Muttertiere waren während der Behandlung mit Diethanolamin in den unteren Dosisgruppen nicht beeinflusst. Nur bei der höchsten Dosis kam es zu einer signifikanten Erniedrigung der Körpergewichtsentwicklung während und nach der Behandlung. In allen Dosisgruppen wurde eine behandlungsbedingte Anämie beobachtet, die in der höchsten Dosisgruppe in Bezug auf eine erniedrigte Erythrozytenzahl, einen erniedrigten Hämatokritwert, einen erniedrigten Hämoglobingehalt sowie ein erniedrigtes Erythrozytenvolumen mit erniedrigtem Hämoglobingehalt der Einzelerythrozyten signifikant war, jedoch als Trend bis in die niedrigste Dosisgruppe zu beobachten war. Ein entsprechender Trend war auch in Bezug auf eine Erhöhung der Leukozytenzahl zu beobachten, die auch nur in der obersten Dosisgruppe statistisch signifikant war. Bei der Sektion der Muttertiere wurden keine behandlungsbedingten Unterschiede zur Kontrolle gefunden. Die Gewichte von Uterus und Leber waren nicht beeinflusst. Das Nierengewicht war bei den beiden höchsten Dosierungen signifikant erhöht und zeigte bei der niedrigsten Dosierung einen Trend zur Erhöhung. Kein Effekt wurde auf die Zahl der lebenden und die der toten Feten, ihre Geschlechtsverteilung und die Zahl der Resorptionen beobachtet. Die Untersuchung der Feten ergab keine Hinweise auf eine embryotoxische Wirkung oder auf durch Diethanolamin verursachte Missbildungen. Diethanolamin hatte keinen Einfluss auf die fetalen Körpergewichte und bewirkte keine externen Missbildungen oder Eingeweideveränderungen. In der höchsten Dosisgruppe kam es zu einer leichten Verzögerung der fetalen Entwicklung, die sich als Retardierung der Ossifikation der Schädeldecke, des axialen Skeletts und der distalen Glieder manifestierte. Die Autoren kamen zu dem Schluss, dass sich aus den vorliegenden Befunden ein no observable effect level für die maternale Toxizität von Diethanolamin nicht ableiten ließ und dass der no observable effect level (NOEL) für die Reproduktionstoxizität 500 mg/kg Körpergewicht betrug (Union Carbide, 1992; Marty et al., 1999).

Eine Dosisfindungsstudie zur Durchführung einer Prüfung auf entwicklungstoxische Wirkungen von Diethanolamin nach dermalen Verabreichung an Kaninchen wurde mit Gruppen von je 8 trächtigen weißen Neuseelandkaninchen (5,5 bis 6 Monate alt, 2,9 bis 3,9 kg schwer) durchgeführt. Die Tiere wurden vom 6. bis 18. Tag der Trächtigkeit täglich 6 Stunden unter einem Okklusivverband auf der geschorenen Rückenhaut mit Diethanol-

amin (99,7 % rein) in den Dosierungen von 0 (Kontrollen), 250, 500, 1000 bzw. 2000 mg/kg Körpergewicht behandelt. Die höchste Dosis wurde unverdünnt verabreicht, die anderen Dosierungen wurden so mit Wasser verdünnt, dass jeweils 2 ml/kg Körpergewicht aufgetragen wurden. Nach 6 Stunden Einwirkungszeit wurde der Verband entfernt und die Applikationsstelle vorsichtig abgewischt. Am Tag nach der letzten Applikation (Tag 19 der Trächtigkeit) wurde den Tieren für hämatologische Untersuchungen Blut aus der Ohrarterie entnommen. Anschließend wurden sie sezziert und makromorphologisch befundet. Leber, Niere und Uterus wurden gewogen und, soweit erforderlich, histopathologisch untersucht. Schnitte von behandelte und gesunder Haut wurden ebenfalls für histopathologische Untersuchungen gewonnen. Lokalisation und Anzahl der lebenden und toten Feten sowie der Resorptionen wurden bestimmt. Die Uteri von Tieren, die als nicht trüchtig erschienen, wurden nach Anfärbung mit Ammoniumsulfid auf frühe Resorptionen untersucht. Alle 8 Tiere der höchsten Dosisgruppe wurden am 3. bis 5. Behandlungstag getötet, da sie großflächige Nekrosen an der Behandlungsstelle entwickelt hatten. Auch aus den 1000 und 500 mg/kg Körpergewicht-Gruppen wurden 6 bzw. 2 Tiere wegen schwerer Hautnekrosen am 5. bis 7. Behandlungstag getötet. Zur Auswertung am Ende der Untersuchung standen 8 Tiere der Kontrollgruppe, 8 Tiere der niedrigsten Dosisgruppe, 6 Tiere der 500 mg/kg Körpergewicht-Gruppe und 2 Tiere der 1000 mg/kg Körpergewicht-Gruppe zur Verfügung. Von diesen Tieren waren je eines der niedrigsten und der höchsten und 2 der mittleren Dosisgruppe nicht trüchtig. Alle anderen trugen lebensfähige Feten. Klinische Zeichen von Toxizität wurden nur an der Applikationsstelle dosisabhängig in allen Dosisgruppen, ausgenommen der niedrigsten, beobachtet. Nekrosen, Ekzeme und Hautbläschen standen im Vordergrund und erreichten noch bei einer Dosis von 500 mg/kg Körpergewicht bei einigen Tieren ein erhebliches Ausmaß. Behandlungsbedingte Effekte auf das Körpergewicht, den Futterverbrauch oder die hämatologischen Untersuchungsparameter konnten nicht festgestellt werden. Auch bei der Autopsie wurden keine behandlungsbedingten Effekte beobachtet. Die relativen und die absoluten Lebergewichte waren bei allen behandelten Tieren am Ende der Behandlung dosisabhängig erhöht. Das relative Nierengewicht war bei den Tieren der höchsten und der mittleren Dosisgruppe erhöht. Keinen Effekt zeigte die Diethanolamin-Behandlung auf das Uterusgewicht verglichen mit der Kontrollgruppe. Ebenfalls ohne Effekte war die Behandlung auf alle untersuchten Reproduktionsparameter. Wegen der starken Hautef-

fekte haben die Autoren für den Hauptversuch Dosierungen unter 500 mg/kg Körpergewicht empfohlen (Union Carbide, 1993 a).

Für die Hauptuntersuchung zur Prüfung der Embryotoxizität/Teratogenität von Diethanolamin bei dermalen Verabreichung an weiße Neuseeland-Kaninchen wurden Gruppen von je 15 trächtigen Weibchen (5,5 bis 6 Monate alt, 2,7 bis 4,3 kg schwer) eingesetzt. Die Tiere wurden vom 6. bis 18. Tag der Trächtigkeit täglich 6 Stunden mit Diethanolamin (99,9 % rein, gelöst in Wasser) in Dosierungen von 0 (Wasserkontrolle), 35, 100 bzw. 350 mg/kg Körpergewicht unter einem Okklusivverband an der geschorenen Rückenhaut behandelt. Das Behandlungsvolumen betrug jeweils 2 ml/kg Körpergewicht. Nach der jeweils 6-stündigen Einwirkungszeit wurde der Verband entfernt und die Applikationsstelle vorsichtig abgewischt. Am 29. Tag der Trächtigkeit wurde den überlebenden Muttertieren für hämatologische Untersuchungen Blut aus der Ohrarterie entnommen. Anschließend wurden sie seziiert und makromorphologisch befundet. Uterus, Leber und Nieren wurden gewogen. Alle lebenden und toten Feten sowie die Resorptionen und die Corpora lutea wurden gezählt. Die Uteri von Tieren, die nicht als trächtig erschienen, wurden nach Anfärbung mit Ammoniumsulfid auf frühe Resorptionen untersucht. Die aus dem Uterus entnommenen Feten wurden gewogen, ihr Geschlecht bestimmt und sie wurden äußerlich auf Veränderungen oder Missbildungen untersucht. Alle lebenden Feten wurden seziiert, makromorphologisch befundet, die Hälfte dekapitiert und auf Deformationen des Kopfes nach Fixierung in Bouin-Lösung untersucht. Alle Feten wurden nach Anfärbung mit Alizarinrot S auf Veränderungen oder Missbildungen am Skelett untersucht. Während der Studie kam es zu keinen Todesfällen bei den Muttertieren. 3 Weibchen der Kontrollgruppe und je ein Weibchen jeder Dosisgruppe waren nicht trächtig und ein Weibchen der 100 mg/kg Körpergewicht-Gruppe trug nur eine frühe Resorption. Ein Weibchen der höchsten Dosisgruppe hatte am 27. Tag der Trächtigkeit eine Fehlgeburt. Klinische Zeichen einer toxischen Wirkung der Behandlung mit Diethanolamin wurden nur in der höchsten Dosisgruppe an der Applikationsstelle beobachtet. Hier wies die Haut ab dem 5. Behandlungstag kaum wahrnehmbare bis schwere Erytheme und ab dem 6. Behandlungstag Ekzeme, Verkrustungen und Nekrosen auf, die sich bis zum Ende der Studie nicht zurückbildeten. Keine behandlungsbedingten Effekte wurden auf das Körpergewicht oder die Körpergewichtsentwicklung der Muttertiere, beim Futtermittelverbrauch sowie bei den Daten aus den hämatologischen Untersu-

chungen beobachtet. Die Sektion der Muttertiere zeigte ebenfalls keine behandlungsbedingten Effekte, abgesehen von einer Verfärbung der Nieren bei einigen Tieren der höchsten Dosisgruppe. In dieser Gruppe waren auch das absolute und das relative Lebergewicht sowie das relative Nierengewicht gegenüber den Kontrollen leicht erhöht. Die Uterusgewichte aller behandelten Muttertiere unterschieden sich nicht von den Kontrollen. Zwischen den behandelten Tieren aller Gruppen und den Tieren der Kontrollgruppe traten keine Unterschiede in den Zahlen der Corpora lutea, der lebenden und der toten Feten, der Implantationen/Wurf, dem prozentualen Präimplantationsverlust und dem Verhältnis von männlichen zu weiblichen Feten auf. Die Untersuchung der Feten erbrachte weder auf das Skelett noch auf die inneren Organe bezogen behandlungsbedingte Effekte. Der no observed effect level (NOEL) für maternale Toxizität betrug in dieser Studie 100 mg/kg Körpergewicht/Tag, der NOEL für die Entwicklungstoxizität lag bei der obersten geprüften Dosierung von 350 mg/kg Körpergewicht/Tag (Union Carbide, 1993 b; Marty et al., 1999).

In einer Konzentrationsfindungsstudie für eine Untersuchung zur pränatalen Inhalationstoxizität von Diethanolamin entsprechend der OECD-Prüfrichtlinie Nr. 414 wurden Gruppen von je 10 trächtigen Ratten (Wistar/Chbb:THOM, 10 bis 15 Wochen alt, mittleres Anfangsgewicht ca. 200 g) vom 6. bis 15. Tag der Trächtigkeit täglich 6 Stunden mit Diethanolamin (> 98 % rein) inhalativ behandelt. Die Diethanolamin-Konzentrationen in dem Kopf-Nasen-Inhalationssystem betrugen 0 (Kontrollen), 100, 200 bzw. 400 mg/m³ und wurden durch Druckluftversprühen des Stoffes und kontrollierte Luftzumischung erzeugt. Der mittlere Partikeldurchmesser im Aerosol lag zwischen 0,6 und 1,2 µm. Die Muttertiere wurden vor der Behandlungsperiode einmal täglich und an den Behandlungstagen dreimal täglich beobachtet und die Körpergewichte alle 3 Tage bestimmt. Am 16. Tag der Trächtigkeit wurde allen Tieren zur Durchführung hämatologischer und klinisch-chemischer Untersuchungen und zur Bestimmung der Gerinnungsgeschwindigkeit retroorbital Blut entnommen. Die Tiere wurden dann seziiert, pathologisch-anatomisch beurteilt und die Gewichte von Lungen, Leber und Nieren bestimmt. Der Uterus wurde gewogen und die Anzahl der Corpora lutea, der Implantate und der Frühresorptionen bestimmt. Die Feten wurden entnommen und pathologisch-anatomisch beurteilt. Das Gewicht der Feten und der Plazenten wurde bestimmt. Während der gesamten Untersuchung wurden bei den behandelten Muttertieren keine klini-

schen Zeichen von Toxizität beobachtet. Todesfälle traten nicht auf. Die Körpergewichtsentwicklung der behandelten Tiere war nicht von den Kontrollen unterschieden. Die absoluten und die relativen Lebergewichte waren bei den Tieren der höchsten Konzentrationsgruppe signifikant erhöht. Alle anderen Organgewichte einschließlich der Uterusgewichte waren bei den behandelten Tieren nicht von den Kontrollen unterschieden. Bei den an den behandelten Muttertieren untersuchten Reproduktionsparametern wurden keine behandlungsbedingten Effekte gefunden. Die Untersuchung der Feten ergab keinen Hinweis auf eine Wirkung der Diethanolamin-Behandlung. Die klinisch-chemischen Untersuchungen zeigten einen signifikanten Anstieg der Natrium- und der Kreatinin-Konzentration sowie eine konzentrationsabhängige Erniedrigung der Triglycerid-Konzentration bei der höchsten und der mittleren Konzentrationsgruppe. Alle anderen durchgeführten Untersuchungen ergaben keine Hinweise auf eine Wirkung von Diethanolamin in dieser Konzentrationsfindungsstudie (BASF, 1991).

Die Hauptstudie zur Prüfung der pränatalen Inhalationstoxizität von Diethanolamin an Ratten entsprechend der OECD-Prüfrichtlinie Nr. 414 wurde mit Gruppen von je 25 weiblichen Wistar-Ratten (Chbb:THOM, zu Beginn der Studie 68 bis 70 Tage alt und etwa 214 g schwer) durchgeführt. Alle Tiere wurden nach einer Eingewöhnungszeit einzeln verpaart und die Befruchtung durch Spermiennachweis im Vaginalabstrich kontrolliert. Vom 6. bis 15. Tag der Trächtigkeit wurden die Tiere täglich 6 Stunden lang in einem Kopf-Nasen-Inhalationssystem gegenüber Konzentrationen von 0 (Kontrollen), 10, 50 bzw. 200 mg/m³ Luft, die durch Versprühen des Stoffes mit Druckluft und kontrolliertes Zumischen von Luft erzeugt wurden, exponiert. Der Partikeldurchmesser im Aerosol betrug weniger als 1,2 µm. Die Muttertiere wurden vor der Behandlungsperiode einmal täglich und an den Behandlungstagen dreimal täglich hinsichtlich klinischer Befunde beobachtet und die Körpergewichte alle 3 Tage bestimmt. Am 20. Tag der Trächtigkeit wurden die Muttertiere getötet, seziiert und pathologisch-anatomisch beurteilt. Der Uterus und die Ovarien wurden entnommen, das Uterusgewicht, die Zahl der Corpora lutea sowie die Zahl und die Verteilung der Implantationen bestimmt und die lebenden und die toten Feten gezählt. Die Feten wurden entnommen, gewogen, äußerlich auf behandlungsbedingte Befunde untersucht und ihr Geschlecht wurde bestimmt. Dann wurde eine Hälfte der Feten in Alkohol und die andere Hälfte in Bouin-Lösung fixiert. Letztere wurde auf Befunde an den Organen untersucht. Die in Alkohol fixierten Fe-

ten wurden zur Darstellung der Skelette angefärbt und auf Missbildungen, Veränderungen und verzögerte Entwicklung untersucht. Während der gesamten Studie traten keine Todesfälle bei den Muttertieren auf. Die Körpergewichtsentwicklung war in den behandelten Gruppen nicht unterschieden von der Kontrollgruppe. Klinische Zeichen von Toxizität wurden nur bei der höchsten Konzentration als blutiger Vaginalausfluss bei 8 der 21 trächtigen Tiere am Tag 14 p.c. beobachtet. Bei der Sektion der Muttertiere wurden keine pathologisch-anatomischen Befunde erhoben, die auf die Diethanolamin-Behandlung zurückgeführt werden konnten. Es bestanden keine statistisch signifikanten Unterschiede zur mitgeführten Studienkontrolle sowie auch zu historischen Kontrolldaten hinsichtlich Konzeptionsrate, mittlerer Anzahl von Corpora lutea und Implantationsstellen, Prä- und Postimplantationsverlusten, Resorptionen und lebenden Feten. Bei den Feten bewirkte die Behandlung mit Diethanolamin weder Veränderungen in der Geschlechtsverteilung oder im Gewicht noch bei der äußerlichen Befundung. Bei der Begutachtung der Organe der Feten wurden keine behandlungsbedingten Missbildungen gefunden. Die über alle behandelten Gruppen und die Kontrollen verteilten einzelnen Befunde wurden von den Autoren als zufällig angesehen. Bei der Befundung der Skelette der Feten wurden einige Missbildungen und Retardierungen bei allen Konzentrationen und in der Kontrolle beobachtet, die aufgrund ihrer Anzahl und Verteilung in den Gruppen nicht als biologisch relevant angesehen wurden. Nur eine signifikante Zunahme der Anzahl an zervikalen Rippen in der höchsten Konzentrationsgruppe wurde als behandlungsbedingt angesehen. Die Autoren diskutierten diesen Befund als embryotoxischen Effekt und nicht als Ausdruck einer teratogenen Wirkung von Diethanolamin. Der no observed adverse effect level (NOAEL) für die maternale und die fetale Toxizität lag damit bei 50 mg/m³ und für die teratogene Wirkung bei der höchsten geprüften Konzentration von 200 mg/m³ (BASF, 1993 b).

In einer Reihe von subakuten und subchronischen Untersuchungen an Ratten und Mäusen wurde auch die Wirkung von Diethanolamin auf die weiblichen und männlichen Geschlechtsorgane untersucht (siehe auch Kapitel 7.2 und 7.5): Bei den weiblichen Tieren ergaben sich dabei keine Effekte auf die Geschlechtsorgane und den Zyklus.

Bei männlichen Ratten, die 32 Tage mit einem Futter ernährt wurden, dem 0,1 oder 0,01 % Diethanolamin zugesetzt worden waren, wurden am Behandlungsende keine Unterschiede im Hodengewicht oder bei den histopa-

thologischen Untersuchungen der Testes beobachtet (Eastman Kodak, 1967 a). Auch die 10fach höhere Konzentration von 1 % Diethanolamin war hier wirkungslos (siehe auch Kapitel 7.2; Eastman Kodak, 1968).

Gruppen von je 5 männlichen, 6 Wochen alten F344/N-Ratten, die im Trinkwasser Diethanolamin in Dosierungen von 0 (Kontrollen), 77, 162, 319, 622 bzw. 1016 mg/kg Körpergewicht täglich 14 Tage lang verabreicht erhielten, wurden u. a. auch auf mögliche Schädigung der Geschlechtsorgane am Ende der Behandlung untersucht. Bei allen Tieren der höchsten Dosisgruppe zeigte sich eine schwache bis deutliche Degeneration der Hodenkanälchen (Tubuli seminiferi) mit Verkleinerung der Tubuli und Abnahme der Zahl der männlichen Keimzellen. Zudem trat eine große Zahl von degenerierten Zellen im Lumen der Nebenhodenkanälchen auf. Parallel in gleicher Weise an B6C3F1-Mäusen durchgeführte Untersuchungen, bei denen die Tiere 0 (Kontrollen), 110, 205, 415, 909 oder 1362 mg Diethanolamin/kg Körpergewicht täglich im Trinkwasser erhielten, zeigten keinerlei Effekte des Stoffes auf die Geschlechtsorgane der Männchen (siehe auch Kapitel 7.2; NTP, 1992).

In einer weiteren Studie, in der Gruppen von je 10 6 Wochen alten F344/N-Ratten 13 Wochen lang mit Diethanolamin im Trinkwasser in Dosierungen von 0 (Kontrollen), 25, 48, 97, 202 bzw. 436 mg/kg Körpergewicht täglich behandelt wurden, bestätigte sich der obige Befund der 14-Tage-Dosisfindungsstudie. Ab einer Dosis von 97 mg/kg Körpergewicht war das Hodengewicht am Ende der Behandlung signifikant und dosisabhängig vermindert bis auf 36 % der Kontrolle bei der höchsten Dosis. Im gleichen Sinn sank das Nebenhodengewicht bis auf 30 % der Kontrolle. Morphologisch waren die Zahl der männlichen Keimzellen sowie die Größe der Nebenhodentubuli reduziert. Im Nebenhoden waren die Zahl der Spermien sowie die prozentuale Beweglichkeit dieser Spermien stark reduziert. Bei allen Tieren der höchsten Dosis und bei 3 Tieren der zweithöchsten Dosis wurde eine Hodendegeneration diagnostiziert. Parallel in der gleichen Weise untersuchte männliche B6C3F1-Mäuse, die 13 Wochen lang tägliche Dosierungen von 0 (Kontrollen), 104, 178, 422, 807 oder 1674 mg Diethanolamin/kg Körpergewicht oral verabreicht bekommen hatten, zeigten keinerlei Effekte auf das Hodengewicht und die Zahl und Motilität der Spermien (siehe auch Kapitel 7.5; NTP, 1992).

Wurden Gruppen von je 5 männlichen, 6 Wochen alten F344/N-Ratten mit Diethanolamin in 95 % Ethanol gelöst täglich außer an den Wochenenden dermal behandelt, so zeigten sich bei der höchsten Dosis von 2000 mg/kg Körpergewicht, ohne Abdeckung auf die geschorene Rückenhaut aufgetragen, nach 16 Tagen die gleichen degenerativen Veränderungen in Hoden und Nebenhoden wie bei den über 14 Tage oral behandelten Ratten. Diese sehr hohe Dosis führte allerdings auch schon zu mehreren Todesfällen. Niedrigere Dosierungen von 1000, 500, 250 oder 125 mg/kg Körpergewicht hatten keine Wirkung auf Hoden und Nebenhoden. Auch hier wurden bei der parallel in gleicher Weise durchgeführten Untersuchung an männlichen B6C3F1-Mäusen, die mit bis zu 2500 mg Diethanolamin/kg Körpergewicht dermal behandelt worden waren, keinerlei Effekte des Stoffes auf die Geschlechtsorgane beobachtet (siehe auch Kapitel 7.2; NTP, 1992).

Weiterhin wurden Gruppen von je 10 männlichen, 7 Wochen alten F344/N-Ratten über 13 Wochen täglich außer an den Wochenenden mit Diethanolamin in 95 % Ethanol gelöst dermal behandelt. Dosierungen von 0 (Kontrollen), 32, 63, 125, 250 bzw. 500 mg/kg Körpergewicht wurden auf die Rückenhaut aufgetragen und nicht abgedeckt. Am Ende der Behandlungszeit war bei den Tieren der höchsten Dosisgruppe das Hodengewicht erniedrigt. Effekte an den Spermien wurden nicht beobachtet. Die Tiere der anderen Dosisgruppen waren in Bezug auf die Geschlechtsorgane ohne Befund. Auch hier wurden bei der parallel in gleicher Weise durchgeführten Untersuchung an männlichen B6C3F1-Mäusen, die bis zu 1250 mg Diethanolamin täglich außer an den Wochenenden über 13 Wochen auf die Rückenhaut appliziert bekamen, keinerlei Effekte des Stoffes auf die Geschlechtsorgane beobachtet (siehe auch Kapitel 7.5; NTP, 1992).

Bei einer Untersuchung zur subchronischen Inhalationstoxizität und zur Neurotoxizität von Diethanolamin an Wistar-Ratten wurden Gruppen von je 13 männlichen, 7 Wochen alten Tieren mit einem Flüssigkeitsaerosol an den 5 Werktagen/Woche je 6 Stunden täglich behandelt. Die eingesetzten Aerosolkonzentrationen betragen 0 (Kontrollen), 15, 150 bzw. 400 mg/m³. Am Ende der Behandlungszeit von 13 Wochen wurden in der Gruppe, die mit der höchsten Konzentration behandelt worden war, bei 3 Tieren eine diffuse Hodenatrophie und bei 4 Tieren eine minimale bis leichte Atrophie der Prostata beobachtet, die als behandlungsbedingt angesehen wurden (siehe auch Kapitel 7.5 und 7.10; BASF, 1996).

7.9 Wirkungen auf das Immunsystem

In einer Dosisfindungsstudie zur Bestimmung von Wirkungen des Diethanolamins auf das Immunsystem wurden junge weibliche Mäuse (B6C3F1, 4 bis 6 Wochen alt, ca. 20 g schwer) eingesetzt. Zunächst wurden Gruppen von je 4 Tieren an 14 aufeinander folgenden Tagen mit Diethanolamin (99,8 % rein) in wässriger Lösung in Dosierungen von 0 (Kontrollen), 100, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1000, 1250 oder 1500 mg/kg Körpergewicht täglich mit der Schlundsonde behandelt. Am 1. und 8. Behandlungstag wurde das Körpergewicht der Tiere bestimmt, 24 Stunden nach der letzten Behandlung wurden die Tiere noch einmal gewogen, danach getötet, seziiert und makroskopisch-pathologisch begutachtet. Die Gewichte von Thymus, Lungen, Leber, Milz und Nieren mit Nebennieren wurden ermittelt und hämatologische Standarduntersuchungen mit retroorbital entnommenem Blut durchgeführt einschließlich der Differenzierung der Leukozyten und Retikulozyten. Als Maß für die Wirkung auf das Immunsystem wurde die Antikörper bildende Zellreaktion des Immunglobulins IgM aus der Milz (AFC) gegenüber dem T-Zellen-abhängigen Antigen von Schafererythrozyten eingesetzt. Die Mäuse erhielten am 11. Behandlungstag 2×10^8 Schafererythrozyten intravenös verabreicht. Nach der Tötung wurden Milzzellsuspensionen hergestellt und diese mit Meerschweinchenkomplement, Schafererythrozyten und warmem Agar vermischt. Nach 3 Stunden Inkubation bei 37 °C zeigten die durch die Auflösung der Schafererythrozyten entstandenen Flecken die Zahl der AFC an, da jeder einzelne Fleck von einer einzelnen Antikörper bildenden Zelle hervorgerufen wurde. Alle Tiere, die Diethanolamin-Dosierungen bis zu 800 mg/kg Körpergewicht erhalten hatten, überlebten bis zum Ende der Studie und zeigten keine offensichtlichen Zeichen von Toxizität. Von den mit 900 mg Diethanolamin/kg Körpergewicht behandelten Tieren verendeten 50 % bis zum Versuchsende und die Mäuse der noch höheren Dosisgruppen verendeten alle, sodass für die vorgenannten Untersuchungen nur die Tiere herangezogen wurden, die mit Dosierungen zwischen 100 und 900 mg/kg Körpergewicht behandelt worden waren. Veränderungen des Körpergewichtes oder der Körpergewichtsentwicklung wurden bei diesen Tieren im Vergleich zu den nur mit Wasser behandelten Kontrollen bis zum Ende der Studie nicht beobachtet. Bei der Sektion traten keine auffälligen Befunde auf. Das Lebergewicht war dosisabhängig bis zu 78,2 % in der mit 900 mg/kg Körpergewicht behandelten Gruppe erhöht und das Thymusgewicht war dosisabhängig bis zu 54,8 % gegenüber den

Kontrollen vermindert. Die hämatologischen Untersuchungen ergaben, dass ab einer Dosis von 300 mg/kg Körpergewicht die Zahl der Erythrozyten, die Gehalt an Hämoglobin und der Hämatokritwert dosisabhängig und signifikant erniedrigt waren und dass ab einer Dosis von 700 mg/kg Körpergewicht die Zahl der Retikulozyten sehr stark und dosisabhängig bis zu 73,8 % in der höchsten Dosisgruppe abgefallen war. Nicht beeinflusst im Vergleich zu den Kontrollen war die Zahl der Leukozyten. Diethanolamin bewirkte eine signifikante Erniedrigung der IgM Antikörper bildenden Zellreaktion ab einer Dosis von 300 mg/kg Körpergewicht, die bis 900 mg/kg Körpergewicht nicht mehr verstärkt wurde und bei den einzelnen Dosierungen zwischen 38,2 und 74 % betrug. In einer nachgesetzten Untersuchung, bei der die Mäuse mit niedrigeren Diethanolamin-Dosierungen von 0 (Kontrollen), 50, 100, 125, 150, 200, 250 oder 300 mg/kg Körpergewicht behandelt wurden, ergab sich auch bei der höchsten Dosis keine Erniedrigung der immunologischen Reaktion, sodass die Autoren davon ausgingen, dass der no effect level in diesem Dosisbereich lag. Weiterhin wurde als Teil der Dosisfindungsstudie eine in vitro-Untersuchung der Antikörperreaktion gegenüber Schaferythrozyten mit Milzzellen der Maus durchgeführt. Einzelzellsuspensionen der Milzzellen wurden mit Diethanolamin in Konzentrationen von 10^{-10} bis 10^{-4} M oder nur mit Wasser als Kontrollen versetzt und unter Zugabe von Erythrozyten des Schafes bei 37 °C inkubiert. Am 5. Tag danach wurde die Zahl der IgM Antikörper bildenden Zellen und die Zahl der lebensfähigen Milzzellen bestimmt. Diethanolamin hatte keinen Einfluss auf die Lebensfähigkeit der Milzzellen, erniedrigte aber ab einer Konzentration von 10^{-8} M die IgM Antikörper bildende Reaktion signifikant und dosisabhängig. Bei der Konzentration von 10^{-8} M wurde die Immunreaktion um 17,7 % gehemmt, bei 10^{-4} M um 60,4 %. Weiterhin wurde in einer dritten Untersuchung im Rahmen dieser Dosisfindungsstudie der zytotoxische T-Lymphozyten-Test (CTL) durchgeführt, der die endgültige Differenzierung der T-Zellen zu den zytotoxischen T-Lymphozyten (Killerzellen) misst. Dafür wurden erneut Gruppen von je 4 weiblichen jungen Mäusen in der gleichen Weise wie für den AFC-Test mit Diethanolamin in den dort verwendeten Dosierungen behandelt, nicht jedoch mit Schaferythrozyten. Auch diese Tiere wurden 24 Stunden nach der letzten Behandlung am 15. Tag getötet. Die erhobenen Ergebnisse der allgemeinen Toxizitätsparameter entsprachen denen der ersten Untersuchung. Für die immunologische Testung wurden Einzelzellsuspensionen von Milzzellen der behandelten und der Kontrollmäuse hergestellt und 5 Tage lang bei 37 °C

unter Zusatz von mit Mitomycin C behandelten P815-Mastozytomzellen inkubiert. Das Verhältnis zwischen den zur Reaktion zu bringenden Milzzellen und den allogenen P815-Zellen betrug 50 : 1. Danach wurden die Milzzellen isoliert und unter Verwendung von ⁵¹Cr-markierten P815-Zellen nach 4-stündiger Inkubation mit Verhältnissen von 25 : 1 bis 0,75 : 1 die gebildeten zytotoxischen T-Lymphozyten bestimmt. Die Behandlung der Mäuse mit Diethanolamin führte zu einer dosisabhängig verminderten Kapazität der Milzzellen, toxische T-Lymphozyten zu erzeugen, die allerdings erst ab einer Dosis von 900 mg/kg Körpergewicht signifikant war. Zusammenfassend ergab sich, dass Diethanolamin eine deutliche Wirkung auf das Immunsystem von Mäusen ausübte, jedoch in Dosierungen, die auch erheblich allgemein toxische Wirkungen hatten (Immunotoxicology Program, 1992 a).

Eine umfassende Studie zur Immuntoxizität von Diethanolamin wurde ebenfalls an weiblichen Mäusen (B6C3F1, 4 bis 6 Wochen alt, mittleres Anfangsgewicht 21,7 g) durchgeführt. Die Mäuse wurden 14 Tage lang in Gruppen von je 8 Tieren/Dosis und Untersuchungszeitpunkt mit Dosierungen von 0 (Kontrolle), 100, 300 oder 600 mg Diethanolamin/kg Körpergewicht, gelöst in Wasser, täglich mit der Schlundsonde behandelt. 24 Stunden nach der letzten Behandlung wurden die Tiere getötet. In zahlreichen Einzeluntersuchungen wurden eine größere Anzahl von immunologischen Parametern bestimmt sowie Daten zur allgemein toxischen Wirkung erhoben. Neben der Bestimmung der Körpergewichte und der Organgewichte von Leber, Milz, Lungen, Thymus, Nieren und je Tier eines repräsentativen mesenterialen Lymphknotens wurden auch hämatologische und klinisch-chemische Untersuchungen durchgeführt. Zusätzlich wurde mit Gruppen von 11 bis 12 Mäusen und gleicher Diethanolamin-Behandlung die Resistenz der Tiere gegen *Listeria monocytogenes* oder *Streptococcus pneumoniae* sowie der Immunabwehr gegen B16F10-Melanomzellen geprüft. Dazu wurden die Mäuse 24 Stunden nach der letzten Diethanolamin-Behandlung mit einem der Bakterienstämme oder mit den Melanomzellen behandelt. *Listeria monocytogenes* wurde in drei verschiedenen Zellzahlen intravenös verabreicht und die Erkrankungshäufigkeit der behandelten Tiere wurden 14 Tage lang beobachtet. *Streptococcus pneumoniae* wurde intraperitoneal ebenfalls in drei verschiedenen Zellzahlen Mäusen verabreicht und die Erkrankungshäufigkeit 7 Tage lang beobachtet. 12 Tage nach Verabreichung von 3×10^5 Melanomzellen wurden die Mäuse mit ¹²⁵UdR behandelt und 24 Stunden später getötet. Gemessen wurden die Zahl der Knötchen und

die Radioaktivität in den Lungen. Methodik und Ergebnisse der immunologischen Untersuchungen sind in Tabelle 9 zusammengefasst.

Anfang Tabelle 9

Tabelle 9. Ergebnisse von immunologischen Untersuchungen an weiblichen Mäusen nach 14-tägiger oraler Behandlung mit 100, 300 oder 600 mg Diethanolamin/kg Körpergewicht (Immunotoxicology Program, 1992 b)	
Untersuchungsmethoden	Ergebnisse
einen Tag nach der letzten Diethanolamin-Applikation wurde den Tieren die Milz unter Narkose entnommen, eine Milzzellsuspension hergestellt und die Anzahl an B(Ig ⁺)-Lymphozyten und T-Lymphozyten einschließlich Ty1,2 ⁺ , CD ⁴⁺ CD ⁸⁻ , CD ⁴⁻ CD ⁸⁺ und CD ⁴⁺ CD ⁸⁺ bestimmt (keine weiteren Angaben zur Bestimmungsmethode)	die Ig ⁺ -Lymphozyten waren dosisabhängig erhöht, in der höchsten Dosis signifikant um 30 %, CD ⁴⁺ CD ⁸⁻ -Lymphozyten zeigten eine dosisabhängige Abnahme, die in der höchsten Dosis mit 18 % signifikant war; die CD ⁴⁻ CD ⁸⁻ - und die CD ⁴⁺ CD ⁸⁺ -Lymphozyten waren in ihrer Anzahl durch die Diethanolamin-Behandlung nicht beeinflusst
an Tag 11 der Diethanolamin-Behandlung (hier als Ausnahme mit 300, 600 oder 800 mg/kg Körpergewicht) wurden die Tiere mit 2 x 10 ⁸ Schaferthrombozyten intravenös behandelt und 4 Tage später die Wirkung auf die Antikörper bildende Zellreaktion des Immunglobulins IgM aus der Milz (AFC) gegenüber dem T-Zellen-abhängigen Antigen von Schaferthrombozyten bestimmt (weitere Angaben zur Bestimmungsmethode siehe die vorstehende Arbeit der gleichen Autoren)	das Milzgewicht war nur in der niedrigsten Dosisgruppe von 300 mg/kg Körpergewicht um 14 % signifikant erniedrigt, in den höheren Dosisgruppen blieb es unbeeinflusst; die Gesamtzahl der Milzzellen war dosisunabhängig in allen Dosisgruppen um 15 bis 19 % erniedrigt; die Antikörper bildende Zellreaktion des Immunglobulins IgM war dosisabhängig und signifikant in allen Dosisgruppen erniedrigt, wenn auf die Gesamtzahl der Milzzellen bezogen wurde (40, 58 bzw. 64 %), und in der mittleren und der höchsten Dosisgruppe, wenn auf die Aktivität/Milzszelle bezogen wurde (48 bzw. 58 %)
einen Tag nach der letzten Diethanolamin-Applikation wurde den Tieren die Milz entnommen und eine Milzzellsuspension hergestellt; nach 3-tägiger Inkubation wurde die Wirkung der Mitogene Concanavalin A und Lipopolysaccharid aus Salmonella typhosa 901 auf die Proliferation der Milzzellen bestimmt, indem nach 2 Tagen ³ H-Thymidin zugesetzt und am Ende die eingebaute Radioaktivität gemessen wurde (keine weiteren methodischen Angaben)	die Behandlung mit Diethanolamin zeigte keinerlei Effekte bei dieser Untersuchung verglichen mit den mitgeführten Kontrollen
einen Tag nach der letzten Diethanolamin-Applikation wurde den Tieren die Milz entnommen, eine Milzzellsuspension hergestellt und diese dann gemeinsam mit Milzzellen von DBA/2-Mäusen, die mit Mitomycin C (40 µg/ml) behandelt worden waren, 5 Tage lang inkubiert; gemessen wurde die Reaktion der allogenen Milzzellen der DBA/2-Mäuse (4 x 10 ⁵ Zellen/Suspension) auf die Proliferationsfähigkeit der T-Lymphozyten von Milzzellen der mit Diethanolamin behandelten Mäuse (1 x 10 ⁵ Zellen/Suspension), indem die proliferierenden Zellen durch Zugabe von ³ H-Thymidin 18 bis 24 Stunden vor Versuchsende markiert wurden (keine weiteren methodischen Angaben)	es wurden keine signifikanten Effekte im Vergleich zu den mitgeführten Kontrollen beobachtet; bei der höchsten Diethanolamin-Dosis trat eine nicht signifikante Erniedrigung der Proliferation um 33 % auf

Tabelle 9. Ergebnisse von immunologischen Untersuchungen an weiblichen Mäusen nach 14-tägiger oraler Behandlung mit 100, 300 oder 600 mg Diethanolamin/kg Körpergewicht (Immunotoxicology Program, 1992 b)

Untersuchungsmethoden	Ergebnisse
einen Tag nach der letzten Diethanolamin-Behandlung wurde den Tieren die Milz entnommen und eine Milzzellsuspension hergestellt; diese wurde unter Zusatz von mit Mitomycin C behandelten allogenen P815-Mastozytomzellen im Verhältnis 50 : 1 5 Tage lang inkubiert; für den anschließenden Zytotoxizitäts-T-Lymphozytentest (CLT) wurden die Milzzellen isoliert und unter Verwendung von ⁵¹ Cr-markierten P815-Zellen nach 4-stündiger Inkubation im Verhältnis 25 : 1 die zytotoxischen T-Lymphozyten bestimmt	in allen Dosisgruppen war die Fähigkeit zur Bildung von zytotoxischen T-Lymphozyten (Killerzellen) durch die Diethanolamin-Behandlung gleichmäßig um 10 bis 14 % verglichen mit den Kontrollen abgesenkt
einen Tag nach der letzten Diethanolamin-Behandlung wurde den Tieren die Milz entnommen, eine Milzzellsuspension hergestellt und 24 Stunden später die Aktivität der natürlichen Killerzellen unter Verwendung von ⁵¹ Cr-markierten YAC-1-Tumorzellen als Zielzellen gemessen, indem das freigesetzte ⁵¹ Cr bestimmt wurde (keine weiteren methodischen Angaben)	nur in der höchsten Dosisgruppe kam es bei einem Verhältnis von Milzzellen zu Tumorzellen wie 25 : 1 zu einer signifikanten Erniedrigung der Aktivität der natürlichen Killerzellen um 20 % verglichen mit der mitgeführten Kontrolle
am Ende der Diethanolamin-Behandlung wurden den Tieren Makrophagen aus der Peritonealflüssigkeit entnommen und auf Kulturplatten zum Anhalten gebracht; nach 2 Stunden wurden die Zellen teilweise mit Zusatz von gamma-Interferon und Lipopolysacchariden oder ohne diesen Zusatz für weitere 4 Stunden bei 37 °C inkubiert; nach Wechsel des Mediums wurden die Makrophagen mit B16F10-Zielzellen, die im Verhältnis 10 : 1 zugesetzt worden waren, weiter inkubiert; die Platten wurden dann abgewaschen, angefärbt und in ELISA ausgewertete (keine weiteren methodischen Angaben)	nur in der höchsten Dosisgruppe und ohne Zusatz von gamma-Interferon und Lipopolysaccharid zur Stimulierung der Makrophagenaktivität kam es zu einer Erniedrigung der Zytotoxizität der Makrophagen gegenüber den Melanomzellen B16F10 verglichen mit den gleich behandelten Kontrollen; in den anderen Dosisgruppen ohne Stimulierung und in allen Dosisgruppen mit Stimulierung der Makrophagen wurden keine durch die Behandlung mit Diethanolamin hervorgerufenen signifikanten Effekte beobachtet
einen Tag nach der letzten Diethanolamin-Applikation wurden die Tiere getötet und die am Peritoneum anhaftenden Zellen durch Auswaschen der Bauchhöhle mit Heparin-haltigem Puffer gewonnen; bestimmt wurden die Gesamtzahl und das zahlenmäßige Verhältnis der verschiedenen Zelltypen zueinander	bei den Tieren der mittleren Dosisgruppe war die Gesamtzahl der zu gewinnenden Zellen signifikant erniedrigt; bei den Lymphozyten, den Neutrophilen, den Monozyten, den Eosinophilen sowie den Mastzellen bestand weder in der Gesamtzahl noch im zahlenmäßigen Verhältnis zueinander ein signifikanter Unterschied gegenüber den Kontrollen

Ende Tabelle 9

Ein Einfluss von Diethanolamin auf das Körpergewicht oder die Körpergewichtsentwicklung der behandelten Tiere wurde nicht festgestellt. Lediglich in der höchsten Dosisgruppe nahmen die Tiere in der ersten Behandlungswoche schneller zu als die Kontrolltiere, was sich jedoch in der zweiten Behandlungswoche ausglich. Das Lebergewicht war in den beiden hohen Dosisgruppen dosisabhängig bis zu maximal 43 % erhöht. Bei allen anderen Organgewichten einschließlich der von Thymus und Milz wurden keine behandlungsbedingten Abweichungen gefunden. Die Sektionen der Mäuse

ergaben keine pathologischen Befunde. Die Zahl der Erythrozyten war bei den behandelten Mäusen dosisabhängig und in der höchsten Dosis signifikant erniedrigt. Der Hämoglobingehalt des Blutes, der Hämatokritwert und die Anzahl der Retikulozyten waren ebenfalls dosisabhängig erniedrigt, in den beiden oberen Dosisgruppen signifikant. Alle anderen hämatologischen Parameter wie auch die klinisch-chemischen Befundungen wurden durch die Diethanolamin-Behandlung nicht beeinflusst. Die durch *Listeria monocytogenes* bedingte Mortalität wurde durch die Vorbehandlung mit Diethanolamin nicht beeinflusst, wohl aber die Mortalität nach Gabe von *Streptococcus pneumoniae*, die in der höchsten Dosisgruppe deutlich um 73 % erhöht war, was für eine verminderte Resistenz der Tiere gegenüber diesem Bakterium sprach. Auch die Resistenz der Mäuse gegen die Melanomzellen war erniedrigt. Nach einer Vorbehandlung mit 300 mg Diethanolamin/kg Körpergewicht wurden 161 % mehr Radioaktivität in den Lungen gefunden als bei den Kontrolltieren. Die Autoren kamen zu dem Schluss, dass es sich bei Diethanolamin um einen immuntoxischen Stoff handeln könnte. Ein no effect level konnte nicht angegeben werden (Immunotoxicology Program, 1992 b).

7.10 Neurotoxizität

Im Rahmen einer subchronischen Studie wurden Gruppen von je 10 männlichen und 10 weiblichen Ratten 13 Wochen lang täglich mit Dosierungen von 0 (Kontrollen), 25, 48, 97, 202 bzw. 436 mg Diethanolamin/kg Körpergewicht (Männchen) oder mit 0 (Kontrollen), 14, 32, 57, 124 bzw. 242 mg Diethanolamin/kg Körpergewicht (Weibchen) über das Trinkwasser behandelt (berechnet aus dem tatsächlichen Trinkwasserverbrauch der Tiere, ihrem Körpergewicht und den eingesetzten Diethanolamin-Konzentrationen im Trinkwasser). Während der Untersuchung starben 2 Männchen der höchsten Dosisgruppe und ein Weibchen der niedrigsten Dosisgruppe. Die Körpergewichtsentwicklung war bei den Männchen ab einer Dosis von 48 mg/kg Körpergewicht dosisabhängig stark vermindert, sodass das Körpergewicht der Tiere in der höchsten Dosisgruppe am Ende der Behandlung um 44 % hinter den Kontrollen zurückblieb. Bei den Weibchen war die retardierte Körpergewichtsentwicklung ab einer Dosis von 124 mg/kg Körpergewicht mit einem um 16 % geringeren Endgewicht gegenüber den Kontrollen und einem um 25 % verringerten Endgewicht bei der höchsten Do-

sis ebenfalls deutlich ausgeprägt, aber nicht so stark wie bei den Männchen. In den beiden höchsten Dosisgruppen traten bei beiden Geschlechtern als klinische Zeichen von Toxizität Tremor, Abmagerung, abnorme Körperhaltung und struppiges Fell auf. Neben anderen Befunden identifizierten die Autoren auch das Gehirn und das Rückenmark als Zielorte der toxischen Wirkung von Diethanolamin. Im Rahmen der histopathologischen Untersuchungen stellten sie bei den Tieren der beiden höchsten Dosisgruppen bei beiden Geschlechtern eine dosisabhängige Demyelinisierung in der Medulla oblongata und im Rückenmark fest, die als minimal bis leicht eingestuft wurde und bei den Männchen etwas stärker ausgeprägt war als bei den Weibchen. Dazu deutlich korrelierende klinische Symptome konnten nicht beobachtet werden (siehe auch Kapitel 7.5; NTP, 1992).

Zu ähnlichen Ergebnissen gelangte man auch in einer Untersuchung, in der Gruppen von je 10 männlichen und 10 weiblichen Ratten 13 Wochen lang täglich (außer an den Wochenenden und an Feiertagen) mit Dosierungen von 0 (Kontrollen), 32, 63, 125, 250 bzw. 500 mg Diethanolamin/kg Körpergewicht, auf die geschorene Rückenhaul ohne Abdeckung aufgetragen, behandelt wurden. In der Gruppe mit der höchsten Dosis starb ein Männchen in der 9. Behandlungswoche und 2 Weibchen mussten in der 10. Behandlungswoche moribund getötet werden. Die Körpergewichtsentwicklung war bei den Männchen in den beiden höchsten Dosisgruppen deutlich dosisabhängig erniedrigt, sodass nur 86 bzw. 69 % der Körpergewichte der Kontrolltiere am Behandlungsende erreicht wurden. Bei den Weibchen trat dieser Effekt in abgemilderter Form auf. Sie erreichten in den beiden höchsten Dosisgruppen 90 bzw. 79 % der Körpergewichte der Kontrollen. Klinische Zeichen von Toxizität wurden nur bei den Tieren der drei hohen Dosisgruppen an der Applikationsstelle als Reizung und Verkrustung der Haut beobachtet. Bei den histopathologischen Untersuchungen wurde bei allen Männchen und Weibchen der höchsten Dosisgruppe sowie bei 7/10 Weibchen der 250 mg/kg Körpergewicht-Gruppe eine minimale Demyelinisierung in der Medulla oblongata diagnostiziert, die die Autoren als eindeutig behandlungsbedingt ansahen. Am Rückenmark traten keine Veränderungen auf. Auf Neurotoxizität hinweisende klinische Symptome wurden nicht beobachtet (siehe auch Kapitel 7.5; NTP, 1992).

Von amerikanischen Veterinären aus Florida wurde berichtet, dass während der Jahre 1980 und 1981 bei Hunden und Katzen, die mit einem Flohabwehrmittel „FLEE“ behandelt worden waren, Fälle von neuromuskulären

schem Syndrom auftraten. Die neuromuskulären Störungen waren durch Tremor, Steifheit der Hinterläufe, Ataxie, Paresen und Lähmungen gekennzeichnet. Insgesamt wurde über 39 Fälle bei Hunden und 12 Fälle bei Katzen berichtet mit einer Mortalitätsrate von 41 %. Das Flohabwehrmittel wurde täglich mit dem Futter in einer Dosis von 44 mg/kg Körpergewicht verabreicht. Analytisch wurde es als eine 53-prozentige wässrige Lösung von Diethanolamin identifiziert, was einer täglichen Diethanolamin-Gabe von 23 mg/kg Körpergewicht entsprach. Die Applikation führte in 2 Tagen bis 28 Monaten (Mittelwert 5 Monate) zu den neurologischen Erscheinungen. Wurde der Stoff abgesetzt, kam es in den meisten Fällen zur Erholung. Der Fall eines Hundes, der 2 bis 3 Monate lang mit „FLEE“ behandelt worden war, wurde ausführlich berichtet. Er starb 9 Tage nach Einlieferung in die Klinik und wurde sezziert. Neben einer vergrößerten Leber mit periportal hydroskopischer Degeneration der Hepatozyten wurden bei der makroskopischen und histopathologischen Begutachtung Veränderungen am Gehirn und dem Halswirbel Rückenmark mit Spongiose der Corona radiata im Gehirn und des Rückenmarks beobachtet. Gewebenekrosen wurden nicht gesehen (Sundlof und Mayhew, 1983).

In einer Dosisfindungsstudie zu einer 90-Tage-Untersuchung mit Diethanolamin wurden die behandelten Tiere auch ausführlich auf neurotoxische Effekte untersucht. Gruppen von je 10 männlichen und 10 weiblichen Wistar-Ratten wurden täglich 6 Stunden an 5 Tagen/Woche 14 Tage lang mit einem Flüssigkeitsaerosol von Diethanolamin in einem Kopf-Nasen-Inhalationssystem behandelt. Als Aerosolkonzentrationen wurden 100, 200 bzw. 400 mg Diethanolamin/m³ eingesetzt sowie reine Luft für eine Kontrollgruppe. Neben anderen klinischen, makroskopischen und histopathologischen Untersuchungen wurden alle Tiere ausführlich auf neurotoxikologische Effekte der Diethanolamin-Behandlung entsprechend der „Functional Observational Battery“ und der Prüfrichtlinie „Neuropathology“ der EPA untersucht. Neben den klinischen Beobachtungen beinhaltete das auch, dass am Ende der Behandlungszeit je 3 weibliche und 3 männliche Tiere jeder Gruppe durch Perfusion mit Soerensen's Phosphatpuffer getötet und mit Karnovsky-Fixativ behandelt wurden. In Epoxyharz eingebettet und histopathologisch untersucht wurden der Nervus ischiadicus, der Nervus tibialis und der Nervus suralis im Quer- und Längsschnitt. In Paraffin eingebettet und ebenfalls histopathologisch untersucht wurden Querschnitte verschiedener Teile des Gehirns und Quer- und Längsschnitte von Teilen des Rü-

ckenmarks. In keiner der Untersuchungen wurden behandlungsbedingte Abweichungen von den an den Kontrolltieren erhobenen Befunden beobachtet, die einen Hinweis auf eine neurotoxische Wirkung von Diethanolamin ergeben hätten (siehe auch Kapitel 7.2; BASF, 1993 a).

Der Hauptversuch über 90 Tage wurde mit der identischen Methodik durchgeführt, nur dass hier Gruppen von je 13 männlichen und 13 weiblichen Wistar-Ratten verwendet und Konzentrationen von 0 (Kontrollen), 15, 150 bzw. 400 mg/m³ eingesetzt wurden sowie 13 Wochen lang behandelt wurde. Auch in dieser Untersuchung konnten keinerlei neurotoxische Wirkungen von Diethanolamin festgestellt werden (siehe auch Kapitel 7.5; BASF, 1996).

7.11 Sonstige Wirkungen

Die Einwirkung von Diethanolamin als Analoges zu dem natürlichen Zellbaustein Ethanolamin auf die Bildung von Phospholipiden wurde untersucht. Männliche Ratten (Stamm Sherman oder Wistar, Ausgangsgewicht 100 bis 110 g) wurden 7 oder 12 Tage lang mit einer Niedrig-Protein-Diät (5 % Kasein) gefüttert, die entweder 5 oder 32 % Fett enthielt. Am Ende der Behandlung wurde den Tieren intraperitoneal eine Lösung von Natriumhydrogenphosphat injiziert, die radioaktiv mit ³²P markiert war (2 bis 4 µCi). 6 Stunden später wurden die Tiere getötet, die Lebern herausgenommen und die Lipide aus den Lebern extrahiert. Ein Teil des Extraktes wurde auf Radioaktivität, ein weiterer Teil auf den Phosphor-Gehalt untersucht. In einem dritten Teil wurden durch Behandlung mit Magnesiumoxid die nicht Cholin enthaltenden von den Cholin enthaltenden Phospholipiden getrennt und ebenfalls auf Radioaktivität und Phosphor-Gehalt untersucht. Es wurden jeweils Gruppen von 2 bis 7 Tieren eingesetzt. An diesem Modell wurde eine Reihe von Untersuchungen mit Diethanolamin im Vergleich zu mit Ethanolamin oder zu nicht weiter behandelten Tieren durchgeführt. Die Stoffe wurden 5 Minuten vor der Natriumhydrogenphosphat-Injektion mit der Schlundsonde verabreicht (50 mg Ethanolamin oder 100 mg Diethanolamin/Tier in 1 ml Wasser) oder die eingesetzte Diät wurde mit 0,5 % Diethanolamin oder Ethanolamin versetzt. Teilweise wurden den mit Diethanolamin-haltiger Diät gefütterten Tieren auch noch zusätzlich 5 Minuten vor der Natriumhydrogenphosphat-Injektion 100 mg Diethanolamin in 1 ml Wasser/Tier oral verabreicht. Es zeigte sich, dass die Gesamtradioaktivität und die spezifische Radioaktivität in den Phospholipiden der Lebern von

Ratten, die eine einmalige hohe Gabe von Diethanolamin oder Ethanolamin erhalten hatten, gegenüber den Kontrollen stark anstiegen, was auf eine erhöhte Phospholipidsynthese auch durch Diethanolamin hinwies. Wurde Diethanolamin dagegen über 7 oder 12 Tage mit der Diät gegeben, so nahm die spezifische Radioaktivität der Phospholipide deutlich um bis zu 50 % ab, was auf eine Hemmung der Phospholipidbiosynthese hinwies. Die Auftrennung und Analyse der gesamten Phospholipide in diesen Untersuchungen zeigten, dass im ersten Fall die Synthese von Cholin-haltigen und nicht Cholin-haltigen Phospholipiden in gleichem Maß stimuliert war, im zweiten Fall aber die Hemmung der Synthese im Wesentlichen die Cholin-haltigen Phospholipide betraf, während die nicht Cholin-haltigen Phospholipide in ihrer Radioaktivität kaum verändert und in der spezifischen Radioaktivität nur geringfügig vermindert waren. Durch chemische Analyse der Phospholipide der Lebern der behandelten Tiere wurde nachgewiesen, dass die Tiere, die eine Diethanolamin-haltige Diät erhalten hatten, deutlich mehr gesamte Phospholipide und nicht Cholin-haltige Phospholipide bei einem gleichbleibenden Gehalt an Cholin-haltigen Phospholipiden in den Lebern aufwiesen. Ethanolamin zeigte die oben beschriebenen Effekte nicht. Die Autoren schlossen aus ihren Befunden, dass Diethanolamin anstelle von Ethanolamin in Phospholipide eingebaut werden kann und dass die entstehenden unphysiologischen Phospholipide langsamer als die natürlichen abgebaut werden und daher in der Leber akkumulieren (Artom et al., 1949).

In weiterführenden Untersuchungen wurden junge, männliche Ratten (40 g Anfangsgewicht) 7 bis 10 Tage lang mit einer proteinarmeren Diät (8 % Kasein) gefüttert und ausschließlich diesem Futter 0,5 % Diethanolamin zugesetzt, das mit Salzsäure neutralisiert worden war. Die Tiere wurden dann weitere 5, 7 oder 9 Tage mit der Diethanolamin-haltigen Diät gefüttert. Als Kontrollen dienten Tiere, die kein Diethanolamin im Futter erhielten. Teilweise wurde dem Futter dieser Kontrollen auch 0,5 % Cholinchlorid oder 0,5 % mit Salzsäure neutralisiertes Ethanolamin zugesetzt. Am Ende der Behandlungszeit wurden die Tiere getötet und die Lebern entnommen. Aus diesen wurden die Lipide extrahiert, ihre Menge und ihr Phosphor- und Cholin-Gehalt analysiert sowie die Phospholipide isoliert und durch Chromatographie in Fraktionen aufgetrennt. Zusätzlich wurde männlichen Ratten, die mit Normaldiät gehalten worden waren und 100 bis 150 g Gewicht erreicht hatten, intramuskulär ^{14}C -markiertes Diethanolamin oder Ethanolamin (8 μCi , 8 μmol in 1 ml) appliziert und Gruppen von 3 bis 6 Tieren wur-

den nach 45 Minuten, 1,5, 3, 6 oder 16 Stunden getötet. Aus den Lebern dieser Tiere wurden die Lipide extrahiert und die enthaltene Radioaktivität wurde ohne und mit weiterer Fraktionierung gemessen. In Übereinstimmung mit den vorstehend beschriebenen Befunden (Artom et al., 1949) war der Gehalt an nicht Cholin enthaltenden Phospholipiden in den Lebern der mit Diethanolamin behandelten Tiere gegenüber den Kontrollen deutlich erhöht (124 mg : 67 mg/gesamte Leber) und der Gehalt an Cholin enthaltenden Phospholipiden deutlich erniedrigt (46 mg : 57 mg/gesamte Leber). Wurde der Diät statt Diethanolamin Cholin zugesetzt, so kehrte sich der Effekt um; nicht Cholin-haltige Phospholipide wurden in der Leber in geringerer Menge als bei den Kontrollen gefunden (36 mg : 67 mg/gesamte Leber) und Cholin-haltige Phospholipide in größerer Menge (88 mg : 57 mg/gesamte Leber). In beiden Fällen war der Gehalt von Neutralfett in den Lebern der behandelten Tiere signifikant gesenkt. Bei den Kurzzeituntersuchungen, bei denen ¹⁴C-Diethanolamin oder ¹⁴C-Ethanolamin intramuskulär appliziert und die Tiere kurz darauf getötet wurden, konnte die höchste Radioaktivität in den Lipiden der Lebern zwischen 3 und 6 Stunden nach der Behandlung gemessen werden. In jedem Fall war jedoch die durch Diethanolamin eingebrachte Radioaktivität jeweils um mehr als eine Zehnerpotenz geringer als die durch Ethanolamin eingebrachte. Dadurch wurde gezeigt, dass nach einmaliger Applikation von Diethanolamin der Einbau dieses Stoffes in die Phospholipide wesentlich geringer war als nach längerfristiger Behandlung, was damit erklärt werden könnte, dass Diethanolamin enthaltende Phospholipide langsamer abgebaut wurden als die natürlichen und sich dadurch in der Leber ansammelten (Artom et al., 1958).

In einer weiteren Studie wurden weiße Mäuse mit 12,4 mg Diethanolamin (vermutlich pro Tier) täglich intraperitoneal 3 oder 6 Tage lang behandelt. In dem Homogenat aus den Lebern der Tiere wurde nach Extraktion in der Kälte die alkalische Phosphatase-Aktivität mit Natriumglycerinphosphat als Substrat bestimmt. Gemessen wurde die innerhalb einer Stunde Inkubation bei pH 8,8 entstehende freie Phosphorsäure. In mehreren Untersuchungen kam es unabhängig von der Dauer der Diethanolamin-Behandlung zu einem signifikanten Anstieg der alkalischen Phosphatase-Aktivität. Histopathologische Befunde der Lebern von 3 Tage mit Diethanolamin behandelten Mäusen bestätigten den Befund. Auch hier zeigte sich eine deutliche Zunahme der Aktivität der alkalischen Phosphatase. Dabei hatte es den Anschein, als ob Phosphatase bevorzugt in den Zellkernen gebildet

wurde. Die Zellkerne der Hepatozyten vergrößerten sich, kleine und mittelgroße Kerne verschwanden und große Kerne traten in größerer Menge auf. Die Autoren sahen ihre Befunde als Bestätigung dafür, dass Diethanolamin auf die Leber von Mäusen im Wesentlichen über eine Veränderung der Zusammensetzung der Phospholipide in den Zellkernen wirksam wurde (Annau und Manginelli, 1950).

Die Wirkung von Diethanolamin auf den Lipidstoffwechsel der Leber- und der Nierenzellen von Ratten wurde *in vivo* und *in vitro* unter Verwendung von radioaktiv markiertem Ethanolamin, Cholin und Diethanolamin untersucht. Eingesetzt wurden männliche adulte Sprague-Dawley-Ratten. Die *in vitro*-Untersuchungen wurden an dem Homogenat der Lebern dieser Tiere durchgeführt, aus dem durch Kühlzentrifugation mit 1000 g ein Überstand gewonnen wurde. Als Maß für die Phospholipidsynthese wurde der Einbau von ^3H -Ethanolamin oder ^3H -Cholin in Phosphatidylethanolamin bzw. -cholin verwendet. Auch der Einbau von ^{14}C -Diethanolamin als unnatürlicher Baustein wurde bestimmt. Als Substrat wurde Diolein verwendet, das mit jeweils einem der radioaktiv markierten Stoffe und dem Homogenatüberstand unter Zusatz von steigenden Mengen an nicht markiertem Diethanolamin in einem Inkubationsmedium für eine Stunde bei 37 °C inkubiert wurde. Dann wurde die Reaktion durch Zugabe von Chloroform und Methanol 2 : 1 gestoppt, die Phospholipide wurden aus dem Reaktionsgemisch extrahiert und die in ihnen auftretende Radioaktivität wurde gemessen. Innerhalb einer Stunde erfolgte der Einbau des jeweiligen markierten Stoffes in linearer Form. Die Konzentration an markiertem Ethanolamin oder Cholin wurde zwischen 25 und 200 μM variiert mit einer spezifischen Radioaktivität von 1 $\mu\text{Ci}/50 \text{ nmol}$. Nicht markiertes Diethanolamin wurde in Konzentrationen von 0 (Kontrollen), 100, 300, 1000 oder 3000 μM zugesetzt, markiertes Diethanolamin in Konzentrationen von 5 bis 20 mM mit einer spezifischen Radioaktivität von 0,05 $\mu\text{Ci}/\mu\text{mol}$. Die Ergebnisse wurden in Lineweaver-Burk-Diagrammen dargestellt. Es zeigte sich, dass die Synthese von Phosphatidylcholin dosisabhängig und kompetitiv durch Diethanolamin gehemmt wurde. Die Synthese von Phosphatidylethanolamin wurde ebenfalls dosisabhängig, aber nicht nur kompetitiv und nicht in dem Ausmaß wie bei der Cholin-Verbindung durch Diethanolamin gehemmt. Der Einbau von Diethanolamin selbst in Phospholipide konnte ebenfalls gezeigt werden. Im Lineweaver-Burk-Diagramm wurden dafür eine K_m (Substratkonzentration bei halb maximaler Reaktionsgeschwindigkeit) von 11,6 mM und eine V_{max}

(Maximalgeschwindigkeit der Enzymreaktion) von 21,0 nmol/mg Protein in einer Stunde ermittelt. Damit erwies sich Diethanolamin als deutlich weniger effektives Substrat für die gemessene Enzymreaktion als Cholin oder Ethanolamin, für die zwei Zehnerpotenzen kleinere K_m -Werte von 75,5 bzw. 53,5 μM bestimmt wurden. In in vitro-Untersuchungen wurden in einem ersten Ansatz zweimal 3 Gruppen von je 4 Tieren über 1, 2 oder 3 Wochen mit Trinkwasser behandelt, dem 2 mg Diethanolamin/ml (entsprechend einer täglichen Dosis von 320 mg/kg Körpergewicht) zugesetzt worden waren. Eine gleiche Zahl von nicht behandelten Kontrolltieren wurde mitgeführt. Am jeweiligen Ende dieser Behandlung wurden 5 μCi Ethanolamin (spezifische Radioaktivität 3,8 Ci/nmol) oder 5 μCi Cholin (spezifische Radioaktivität 4,2 Ci/nmol) unverdünnt intraperitoneal jedem Tier verabreicht. Die Tiere wurden 6 Stunden später getötet, Lebern und Nieren entnommen, die Phospholipide extrahiert und im Extrakt die Radioaktivität gemessen. Es zeigte sich, dass Diethanolamin, über einen Zeitraum von mehreren Wochen verabreicht, den Einbau von ^3H -Ethanolamin und von ^3H -Cholin in die Phospholipide der Leber und der Niere sehr deutlich hemmte. Am ausgeprägtesten war die Hemmung des Ethanolamin-Einbaus in der Leber, die bereits nach einer Woche 73 % erreichte. Die Hemmung des Cholin-Einbaus in der Leber setzte langsamer ein, erreichte aber nach 2 Wochen auch 53 %, nach 3 Wochen 59 %. In der Niere wurde der Einbau von Ethanolamin und Cholin in die Phospholipide ebenfalls durch die mehrfache Gabe von Diethanolamin gehemmt, jedoch nicht in dem Ausmaß wie in der Leber. Nach 3 Wochen Diethanolamin-Behandlung wurde für den Ethanolamin-Einbau eine Hemmung von 53 % und für den Cholin-Einbau eine Hemmung von 29 % nachgewiesen. In einem zweiten Ansatz der in vivo-Untersuchungen wurde die Abbaukinetik der Phospholipid-derivate von Ethanolamin, Cholin und Diethanolamin untersucht. 2 Gruppen von je 32 Ratten erhielten eine einmalige intraperitoneale Applikation von 250 mg Diethanolamin/kg Körpergewicht, dem 10 μCi ^{14}C -Diethanolamin zugesetzt worden waren. Einer Gruppe wurden zusätzlich 6 μCi ^3H -Ethanolamin, der anderen 5 μCi ^3H -Cholin intraperitoneal appliziert. Aus diesen beiden Gruppen wurden nach 6 Stunden, 1, 2, 4, 5, 6, 7 oder 9 Tagen jeweils 4 Tiere getötet, Lebern und Nieren entnommen und wie oben beschrieben auf die verbliebene Radioaktivität untersucht, wobei ^{14}C und ^3H getrennt gemessen wurden. Die 6 Stunden nach der Applikation gemessenen Daten wurden mit Kontrollen verglichen, die nur das radioaktiv markierte Ethanolamin oder Cholin, aber kein Diethanolamin appliziert erhalten

hatten. Dabei zeigte es sich, dass Diethanolamin bei einer einmaligen Gabe in vivo den Einbau von Ethanolamin oder Cholin in die Phospholipide der Leber nicht hemmte und in der Niere sogar einen Anstieg besonders des Ethanolamin-Einbaus bewirkte. Der Einbau insgesamt, gemessen 24 Stunden nach der Verabreichung der Stoffe, betrug für Ethanolamin 20 % der verabreichten Dosis in der Leber und 2,7 % in der Niere. Cholin wurde zu 7 % der verabreichten Dosis in der Leber in Phospholipide eingebaut und zu 0,8 % in der Niere. Deutlich weniger wurde Diethanolamin eingebaut: 2 % in der Leber und 0,2 % in der Niere. Auch die Halbwertszeiten für den Abbau der radioaktiv markierten Stoffe aus den Phospholipiden unterschieden sich für die beiden natürlichen Bausteine von Diethanolamin deutlich. Während sie in der Leber für Ethanolamin 1,6 Tage und für Cholin 1,7 Tage betragen, dauerte es für Diethanolamin 3,5 Tage, bis 50 % der Anfangsradioaktivität aus der Leber wieder ausgeschieden waren. Das gleiche Bild zeigte sich in der Niere, wo die entsprechenden Werte 2,3 Tage für Ethanolamin, 2,1 Tage für Cholin und 4,2 Tage für Diethanolamin betragen. Zusammenfassend ergeben die Befunde, dass Diethanolamin in Phospholipide eingebaut wird und aus den entstehenden Verbindungen langsamer wieder abgebaut wird als Cholin oder Ethanolamin aus ihren Phospholipiden. Zudem hemmt die wiederholte Gabe von Diethanolamin die Synthese von Ethanolamin- und Cholinphospholipiden, sodass es zu einer Anreicherung von Phospholipiden mit dem unnatürlichen Baustein Diethanolamin kommen muss. Da Phospholipide spezifische Funktionen im Zellmetabolismus besonders als Bestandteil von Membranen ausüben, kann es dadurch zu toxischen Störungen in den Zellen kommen (Barbee und Hartung, 1979 b).

Untersucht wurde auch die Wirkung von Diethanolamin auf die Aktivität von an der Biosynthese von Phosphatidylcholin beteiligten Enzymen. Weibliche Sprague-Dawley-Ratten (60 bis 80 Tage alt, 140 bis 180 g schwer) wurden in 3 Gruppen eingeteilt und wie folgt behandelt: Die erste Gruppe erhielt an 3 aufeinander folgenden Tagen je eine intraperitoneale Applikation von 0,5 mmol Diethanolamin/180 g Körpergewicht (entsprechend 290 mg/kg Körpergewicht) verabreicht. Die zweite Gruppe wurde ebenfalls an 3 aufeinander folgenden Tagen täglich mit 1 mmol Diethanolamin/170 g Körpergewicht (entsprechend 580 mg/kg Körpergewicht) oral behandelt. Für beide Gruppen wurde das Diethanolamin in physiologischer Kochsalzlösung gelöst und es wurden Kontrollgruppen mitgeführt, die nur mit dem Lösemittel

behandelt wurden. Die dritte Gruppe wurde eine Woche lang mit einer flüssigen Aminosäure-Diät gefüttert, die kein Cholin, Methionin, Vitamin B12 oder Folsäure enthielt, aber mit 1 % Diethanolamin versetzt war. Auch hier wurde eine Kontrolle mitgeführt, die eine gleiche Diät ohne Diethanolamin erhielt. Am Ende der Behandlung wurden alle Tiere getötet, die Lebern entnommen, homogenisiert und die Mikrosomenfraktion des Homogenats isoliert. In dieser Fraktion wurden die Phosphatidylethanolamin-Methyltransferase, die Phosphatidylmonoethylethanolamin-Methyltransferase, die Phosphatidylmethylethanolamin-Methyltransferase und die Cholinphosphotransferase als spezifische Aktivität in pmol gebildetes Phosphatidylcholin pro Minute und pro mg Mikrosomenprotein bestimmt. Die Gesamtaktivität des Mikrosomenproteins der Lebern wurde ebenfalls angegeben. Bei den 6 behandelten Tieren der ersten Gruppe, die Diethanolamin 3 Tage lang intraperitoneal appliziert erhalten hatten, wurde in den Lebermikrosomen eine signifikant verminderte Aktivität an Cholinphosphotransferase und eine signifikant erhöhte Aktivität an Phosphatidylethanolamin-Methyltransferase verglichen mit den Werten von 4 Kontrolltieren gefunden. Die Aktivität der Phosphatidylmethylethanolamin-Methyltransferase war unbeeinflusst. Die gleichen Effekte wurden mit den Lebermikrosomen der 8 Tiere der zweiten Gruppe, die 3 Tage lang oral mit Diethanolamin behandelt worden waren, gefunden (6 Kontrolltiere). Hier war allerdings auch die spezifische Aktivität der Phosphatidylmethylethanolamin-Methyltransferase signifikant erhöht, während diese Aktivität in der gesamten Lebermikrosomenfraktion nicht signifikant erhöht war. Die Tiere der dritten Gruppe, die 7 Tage lang mit der Mangeldiät gefüttert wurden, der Diethanolamin zugesetzt worden war, zeigten in der Mikrosomenfraktion ihrer Lebern eine signifikante Abnahme der Aktivität der Phosphatidylethanolamin-Methyltransferase und der Phosphatidylmonomethylethanolamin-Methyltransferase sowie eine signifikante Abnahme der Gesamtaktivität der Phosphatidylmethylethanolamin-Methyltransferase ohne einen Effekt auf die spezifische Aktivität dieses Enzyms. Gemessen wurden die Mikrosomen aus Lebern von 3 Tieren verglichen mit 3 Kontrolltieren, die nur die Diät ohne Diethanolamin erhalten hatten. Aus den Ergebnissen in Gruppe 1 und 2 wurde abgeleitet, dass Diethanolamin die Biosynthese von Phosphatidylcholin beeinflusste. Der wichtigste Stoffwechselweg mit Hilfe der Cholinphosphotransferase wurde gehemmt. Der zweite, weniger bedeutende Stoffwechselweg über die Methyltransferasen wurde stimuliert. Bei den Tieren, die mit der Diethanolamin-haltigen Diät gefüttert wurden, kehrten sich die Effekte um, was die

Autoren auf den verstärkten Einbau von Diethanolamin anstelle von Ethanolamin zurückführten (Hoffman et al., 1983).

Auch die Wirkung von Diethanolamin auf mikrosomale Arzneimittel abbauende Enzyme wurde an Ratten untersucht. Ausgewachsene, männliche Sprague-Dawley-Ratten wurden intraperitoneal einmalig mit 1000 mg Diethanolamin/kg Körpergewicht oder an 5 aufeinander folgenden Tagen mit 250, 500 oder 750 mg Diethanolamin/kg Körpergewicht oder 14 Tage lang täglich mit 100 mg Diethanolamin/kg Körpergewicht behandelt. In allen Fällen wurden unbehandelte Kontrollen mitgeführt. 24 Stunden nach der letzten Applikation wurde ein Teil der Tiere getötet, weitere Tiere wurden für eine Erholungsphase von 14 Tagen und für die Bestimmung der Hexobarbital-Schlafzeit belassen. Im 13000 g-Überstand des Leberhomogenates wurden die Hydroxylierung von Acetanilid und die N-Demethylierung von Aminopyrin bestimmt (keine weiteren Angaben zur Methodik). Nach einer einmaligen Diethanolamin-Applikation von 1000 mg/kg Körpergewicht trat eine Hemmung der beiden Enzyme erst verzögert auf. 5 Applikationen mit Diethanolamin bewirkten bei einer Dosis von 250 mg/kg Körpergewicht eine Hemmung der Hydroxylierung um 35 %, bei 500 mg/kg Körpergewicht um 61 % und bei 750 mg/kg Körpergewicht um 64 % verglichen mit den Werten der Kontrolltiere. Die N-Demethylierung wurde bei den gleichen Dosierungen zu 55, 80 und 84 % gehemmt. Die Hexobarbital-Schlafzeit war bei den Tieren deutlich verlängert. Die Verlängerung betrug 55, 169 und 222 % der Kontrollen. 14 Tage lang mit 100 mg Diethanolamin/kg Körpergewicht täglich behandelte Tiere zeigten eine Hemmung der Hydroxylierung um 52 % und der N-Demethylierung um 68 % verglichen mit den Werten der Kontrolltiere. Diese Hemmung bildete sich nur sehr langsam zurück. Nach 14 weiteren Tagen ohne Diethanolamin-Behandlung waren beide Enzyme noch zu 50 % gehemmt. In einem normalen in vitro-System führte die Zugabe von Diethanolamin im Gegensatz zur in vivo entfalteten Wirkung zu keiner Hemmung der Hydroxylierung oder N-Demethylierung (keine weiteren Angaben). Diese Daten wiesen darauf hin, dass Diethanolamin seine hemmende Wirkung auf den Leberstoffwechsel über einen indirekten Mechanismus ausübte (Foster et al., 1971; Foster, 1972).

Weitere Studien über den Mechanismus der Hemmung von Aktivitäten mikrosomaler Enzyme der Leber durch Diethanolamin zeigten, dass eine signifikante Korrelation zwischen der dosisabhängigen Enzymhemmung und dem Abfall des Gehaltes an Zytochrom P-450 in den Mikrosomen der Le-

ber bestand. Der mikrosomale Zytochrom b5-Gehalt und der Gehalt an Protohäm waren ebenfalls vermindert, was auf eine Abnahme der Hämsynthese hinwies und die durch Diethanolamin hervorgerufene Anämie erklären könnte. Teilweise konnte die Hemmung der mikrosomalen Arzneimittel abbauenden Enzyme durch die Zugabe von Phosphatidylcholin in vitro zu dem Messansatz aus Lebermikrosomen von mit Diethanolamin vorbehandelten Ratten aufgehoben werden. Dieser Befund wies darauf hin, dass Diethanolamin die für das Funktionieren der Enzymsysteme notwendigen Phospholipide unphysiologisch verändern könnte. Schließlich konnte noch nachgewiesen werden, dass die durch Phenobarbital bewirkte Induktion mikrosomaler Enzyme der Leber wie auch der Anstieg des Zytochrom P-450-Gehaltes und der Aktivität der NADPH-Zytochrom-c-Reduktase durch Diethanolamin blockiert wurde, wenn dieses gleichzeitig mit dem Phenobarbital an Ratten verabreicht wurde (Foster, 1972).

Ebenfalls untersucht wurde die Wirkung von Diethanolamin in vitro auf isolierte Rattenhepatozyten. Verwendet wurden die Lebern von männlichen Sprague-Dawley-Ratten (190 bis 325 g schwer). Die Hepatozyten wurden durch Perfusion der gesamten Lebern mit Collagenase gewonnen. Die Hepatozyten wurden jeweils mit Diethanolamin-Konzentrationen von 0,1, 1 oder 10 mM (entsprechend 1,05, 10,5 oder 105 µg/ml) 2 oder 5 Stunden lang bei 37 °C inkubiert. Anschließend wurden in den Inkubationsansätzen die Zellzahl und die Zahl der vorhandenen intakten Zellen mit Trypanblau bestimmt sowie die während der Inkubationszeit aus den Hepatozyten ausgetretene Aktivität der Enzyme Aspartataminotransferase und Laktatdehydrogenase gemessen. Außerdem wurden die Fähigkeit der Hepatozyten zur Bildung von Harnstoff und die in den Zellen vorliegende Adenosintriphosphat-Menge festgestellt. Bei den 2 Stunden in Gegenwart von Diethanolamin inkubierten Hepatozyten zeigte sich bei keiner der Konzentrationen verglichen mit den unbehandelten Kontrollen eine Abnahme des Prozentsatzes an intakten Zellen oder eine vermehrte Freisetzung von Aspartataminotransferase. Die höchste Diethanolamin-Konzentration führte zu einer signifikanten Erhöhung der in das Medium übergegangenen Laktatdehydrogenase-Aktivität. Wurden die Hepatozyten 5 Stunden lang in Gegenwart von Diethanolamin inkubiert, so war die Abgabe von Aspartataminotransferase und Laktatdehydrogenase aus den Zellen an das Medium dosisabhängig erhöht. Die Fähigkeit der Hepatozyten zur Bildung von Harnstoff und die in den Zellen vorliegende Adenosintriphosphat-Menge

waren dosisabhängig erniedrigt. Die Zahl der intakten Zellen wurde hier nicht bestimmt. Die Autoren sahen diese Befunde als Beweis für eine zytotoxische Wirkung von Diethanolamin in vitro an (Story et al., 1983).

8 Erfahrungen beim Menschen

In einer Testreihe zum Vergleich verschiedener Patch-Testsysteme zur Bestimmung der hautreizenden Wirkung am Menschen wurde auch Diethanolamin (99 % rein) untersucht. Der Stoff wurde unverdünnt in den 4 Testsystemen „Webril“, „Hill Top“, „Finn“ und „Van der Bend“ eingesetzt, die 15 Probanden gleichzeitig auf den oberen Außenarm für 4 Stunden appliziert wurden. Die visuelle Bewertung erfolgte direkt danach sowie nach 1, 24, 48 und 72 Stunden. Diethanolamin zeigte keinen deutlichen Unterschied in den 4 Testsystemen und hatte nur eine niedrige Reaktivität. Ödeme und Erytheme wurden, wenn überhaupt, nur in sehr leichter Form gefunden. Bei einem Probanden trat 4 Tage nach der Behandlung ein deutlicher Effekt auf (keine weiteren Angaben; York et al., 1995).

In einer Serie von nahezu 200 Kontroll-Patch-Testen an Ekzempatienten wurden mit 1- und 5-prozentigen Lösungen von Diethanolamin ausschließlich negative Ergebnisse erhalten (keine weiteren Angaben; Crow et al., 1968).

An 32 gegen Ethylendiamin sensitiven Patienten wurden Patch-Teste zur Bestimmung der hautsensibilisierenden Wirkung mit einer Reihe von strukturverwandten Chemikalien und auch mit Diethanolamin durchgeführt. Eine 1-prozentige Lösung von Diethanolamin erzeugte bei einem Patienten eine positive Reaktion (keine weiteren Angaben; Balato et al., 1986).

Es wurde von 3 Fällen berichtet, bei denen Metallarbeiter eine Allergie gegen Alkanolaminborate als Inhaltsstoffe von Schneidölen entwickelten. Alle 3 Patienten wurden im Patch-Test auch gegen Diethanolamin geprüft. Eine 1-prozentige Lösung des Diethanolamins in Puffer war in allen Fällen wirkungslos (keine weiteren Angaben; Bruze et al., 1995).

17 Metallarbeiter mit einem kontaktallergischen Handekzem wurden mit dem geschlossenen Epikutantest unter anderem auf eine allergische Reaktion gegenüber Diethanolamin geprüft. 2 dieser Patienten reagierten positiv gegen Diethanolamin-Kondensat mit Kokosölsäure. Der Nachweis einer berufsbedingten Exposition gegenüber diesen Stoffen konnte nicht erbracht werden (Koch, 1996).

Bei 295 Patienten, die in einer oder zwei Epikutantestreihen für die Metall verarbeitende Industrie getestet und vom Informationsverbund Dermatologischer Kliniken (IVDK) vom Januar 1990 bis März 1991 erfasst wurden, traten in 3 Fällen eindeutige allergische Wirkungen gegen eine 2 %-Lösung von Diethanolamin in Vaseline auf. Zusätzlich wurden in 21 Fällen fragliche Reaktionen beobachtet, die nicht eindeutig auf eine allergische Reaktion zurückgeführt werden konnten. Geprüft wurde auch das Kondensat von Kokosölsäure mit Diethanolamin, das noch erhebliche Mengen an freiem Diethanolamin enthielt (18,2 %, siehe Tabelle 8). Dieser Stoff erzeugte in 0,5-prozentiger Lösung in Vaseline in einem Fall eine positive und in 13 Fällen eine fragliche Reaktion (Uter et al., 1993).

Bei einer weiteren Erhebung des IVDK vom April 1991 bis Dezember 1993 wurden 1104 Patienten erfasst, die ebenfalls mit der Testreihe „Metallverarbeitung“ auf eine allergische Wirkung von Diethanolamin (2 % in Vaseline) geprüft worden waren. Von diesen Patienten zeigten 18 eine positive Reaktion und 28 eine fragliche. Das Kondensat von Kokosölsäure und Diethanolamin zeigte 6 positive und 12 fragliche Reaktionen (Uter et al., 1996).

Im Zeitraum von 1992 bis 1999 erfasste der IVDK 4339 Patienten, die auf eine Kontaktallergie gegen Diethanolamin getestet worden waren. 73 dieser Patienten (1,7 %) reagierten positiv. Betrachtete man nur die Patienten, die in Metallberufen tätig waren, so reagierten von 2053 Personen des Gesamtkollektives 60 (= 2,9 %) positiv und engte man noch weiter auf die Metallarbeiter ein, die eine spanende Tätigkeit ausübten und damit in direkten Kontakt zu Kühlschmierstoffen kamen, so bestand dieses Kollektiv noch aus 353 Personen, von denen 35 (= 10 %) positiv reagierten. Aus diesen Zahlen war ein eindeutiger Trend zu erkennen, der bei steigender Möglichkeit zur Exposition gegenüber Diethanolamin auch eine steigende Häufigkeit an Allergien zeigte. Es konnte daraus geschlossen werden, dass Diethanolamin bei entsprechender Exposition eine kontaktallergene Wirkung an der Haut des Menschen entfalten kann (IVDK, 2000).

Ein 54 Jahre alter Mann, der täglichen Umgang mit Schneidöl hatte, entwickelte nach 6 Wochen eine Dermatitis der beiden Hände und Unterarme. In Patch-Testen wurde festgestellt, dass er gegen Mono-, Di- und Triethanolamin, Schneidöl, Quecksilberchlorid, Benzoylperoxid und Phenylquecksilberacetat sensibilisiert war. Diethanolamin ergab ein positives Ergebnis mit einer Konzentration von 0,1 % in Wasser. Ein 4 Wochen später wiederhol-

ter Patch-Test ergab bei einer Diethanolamin-Konzentration von 0,05 % in Wasser keine Reaktion, bei 1 und 2 % in Vaseline eine deutliche Reaktion. Nach den Angaben der Hersteller enthielt das Schneidöl kein Diethanolamin. Die Autoren wiesen auf die Möglichkeit einer Kreuzreaktion und die mögliche Verunreinigung der Mono- und Triethanolamin-Bestandteile durch Diethanolamin hin (keine weiteren Angaben; Blum und Lischka, 1997).

Es wurde von einem 47 Jahre alten atopischen Mann berichtet, der über 24 Jahre beruflich mit Kühlschmiermitteln beim Metallschleifen in Berührung gekommen war und eine Kontaktdermatitis der Hände und der Unterarme sowie des Gesichtes entwickelt hatte. Bei einer Patch-Testung zeigte er allergische Reaktionen gegen eine Reihe von Inhaltsstoffen des Kühlschmiermittels, so auch gegen Diethanolamin (keine weiteren Angaben; Owen et al., 2000).

Es wurde von einem Fall von beruflich bedingtem Asthma berichtet, dessen Auslösung auf Diethanolamin zurückgeführt wurde. Ein 39-jähriger Metallarbeiter, der mit verschiedenen Diethanolamin-haltigen Schneidölen Umgang hatte, zeigte entsprechende mit seiner Arbeit zusammenhängende Symptome. Die Diagnose wurde durch einen Kammer-Provokationstest bestätigt, der mit den erwärmten Schneidölen durchgeführt wurde, angepasst an die Bedingungen am Arbeitsplatz. Der Provokationstest wurde mit zwei verschiedenen Konzentrationen von Diethanolamin, die beide unterhalb der im Arbeitsbereich geltenden Grenzwerte lagen, in gleicher Weise durchgeführt. Wie bei den Schneidölen zeigte sich auch hier eine verzögerte asthmatische Reaktion, die dosisabhängig in ihrer Stärke war (keine weiteren Angaben; Piipari et al., 1996, 1998).

In einer Literaturstudie, in der die Geruchsschwellenwerte von 214 Industriechemikalien in der Luft und in Wasser zusammengestellt wurden, betrug der Wert für Diethanolamin in der Luft 0,27 ppm und in Wasser 22000 ppm (keine weiteren Angaben; Amoore und Hautala, 1983).

Für die Frage der kanzerogenen Wirkung von Diethanolamin beim Menschen ist es von Bedeutung, dass die N-Nitroso-Verbindung dieses Stoffes, das N-Nitrosodiethanolamin, in Untersuchungen an Ratten nachweislich Krebs erzeugende Eigenschaften hatte, wie mehrfach belegt wurde (Preussmann et al., 1982; Berger et al., 1990). Berücksichtigt werden muss die Tatsache, dass vom Körper aufgenommenes Diethanolamin im Magen

in Gegenwart von Nitrat oder Nitrit zu N-Nitrosodiethanolamin umgesetzt wird. Interessanterweise wurde in neuerer Zeit in einem Gerichtsverfahren der Zusammenhang zwischen der Exposition gegenüber N-Nitrosodiethanolamin und der Entstehung von bösartigem Krebs beim Menschen anerkannt. Ein Dreher, der bei seiner Tätigkeit einem Kühlschmierstoff ausgesetzt war, der 18 % Natriumnitrit und ca. 20 % Triethanolamin enthielt, verstarb im Alter von 34 Jahren an Dickdarmkrebs. In seinem Urin war N-Nitrosodiethanolamin nachgewiesen worden, das als Ursache für die Erkrankung angesehen wurde (Lißner und Schoof, 1999; Schoof, 1999). Die TRGS 615 „Verwendungsbeschränkungen für Korrosionsschutzmittel, bei deren Einsatz N-Nitrosamine auftreten können“ regelt u. a. den Einsatz von Diethanolamin in Korrosionsschutzmitteln, um die Bildung von N-Nitrosodiethanolamin zu verhindern (TRGS 615, 2003).

9 Einstufungen und Grenzwerte

Die Senatskommission zur Prüfung gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe der Deutschen Forschungsgemeinschaft (MAK-Kommission) hat Diethanolamin in der MAK- und BAT-Werte-Liste 2003 in die Kategorie 3A der Krebs erzeugenden Arbeitsstoffe „Stoffe, die wegen erwiesener oder möglicher krebserzeugender Wirkung Anlass zur Besorgnis geben, aber aufgrund unzureichender Informationen nicht endgültig beurteilt werden können. Die Einstufung ist vorläufig. Stoffe, bei denen die Voraussetzungen erfüllt wären, sind der Kategorie 4 oder 5 zuzuordnen. Für die Stoffe liegen jedoch keine hinreichenden Informationen vor, um einen MAK- oder BAT-Wert abzuleiten.“ eingestuft. Sie hat den Stoff wegen seiner sensibilisierenden Wirkung an der Haut mit „Sh“ gekennzeichnet und wegen der Gefahr der Hautresorption mit „H“ markiert (DFG, 2003; Greim, 2003).

Als Grenzwert für Diethanolamin am Arbeitsplatz (TLV-Wert) wurden in den USA 2 mg/m³ angegeben (ACGIH, 2002).

10 Arbeitsmedizinische Empfehlungen

Allgemeine arbeitsmedizinische Vorsorgeuntersuchungen in Anlehnung an die BG-Vorschrift „Arbeitsmedizinische Vorsorge“ (BGV A4, bisherige VBG 100) unter Beachtung von G 24 (Hauterkrankungen) der berufsgenossenschaftlichen Grundsätze für arbeitsmedizinische Vorsorgeuntersuchungen.

Literatur

ACGIH (American Conference of Governmental Industrial Hygienists)
Threshold limit values (TLV) for chemical substances and physical agents
Cincinnati, Ohio (2002)

Amoore, J.E., Hautala, E.

Odor as an aid to chemical safety: odor thresholds compared with threshold limit values and volatilities for 214 industrial chemicals in air and water dilution
J. Appl. Toxicol., 3, 272 - 290 (1983)

Annau, E., Manginelli, A.

Alkaline phosphatase activity and nuclear changes in the liver induced by diethanolamine
Nature, 166, 816 - 817 (1950)

Annau, E., Manginelli, A., Roth, A.

Biochemical and biological effects of diethanolamine
Nature, 166, 815 - 816 (1950)

Anonym

Ethanolamines

Am. Ind. Hyg. Assoc. J., 29, 312 - 315 (1968)

Anonym

Final report on the safety assessment of triethanolamine, diethanolamine, and monoethanolamine
J. Am. Coll. Toxicol., 2, 183 - 235 (1983)

Artom, C., Cornatzer, W.E., Crowder, M.

The action of an analogue of ethanolamine (diethanolamine) on the formation of liver phospholipides
J. Biol. Chem., 180, 495 - 503 (1949)

Artom, C., Lofland, H.B., Oates, J.A.

In vivo incorporation of diethanolamine into liver lipides
J. Biol. Chem., 233, 833 - 837 (1958)

Balato, N., Cusano, F., Lembo, G., Ayala, F.

Ethylenediamine dermatitis

Contact Dermatitis, 15, 263 - 265 (1986)

Barbee, S.J., Hartung, R.

Subacute toxicity of diethanolamine: alteration of mitochondrial function
Toxicol. Appl. Pharmacol., 37, 122 (1976)

Barbee, S.J., Hartung, R.

Diethanolamine-induced alteration of hepatic mitochondrial function and structure
Toxicol. Appl. Pharmacol., 47, 431 - 440 (1979 a)

Barbee, S.J., Hartung, R.

The effect of diethanolamine on hepatic and renal phospholipid metabolism in the rat
Toxicol. Appl. Pharmacol., 47, 421 - 430 (1979 b)

BASF AG, Gewerbehygienisch-Pharmakologisches Institut
Bericht über die orientierende Prüfung der Hautreizwirkung von Mono-, Di- und Tri-
aethanolamin
unveröffentlichter Bericht (1956)

BASF AG, Gewerbehygienisch-Pharmakologisches Institut
Diaethanolamin - Ergebnis der gewebetoxikologischen Vorprüfung
unveröffentlichter Bericht (1966)

BASF AG, Gewerbehygienisch-Pharmakologisches Institut
Bericht über die Prüfung der akuten Haut- und Schleimhautreizwirkung von Mono-, Di-
und Triäthanolamin
unveröffentlichter Bericht (1967)

BASF AG, Abteilung Toxikologie
Brief-Report - Range-finding study on the prenatal inhalation toxicity of Diethanolamin in
pregnant rats
unveröffentlichter Bericht, Projekt Nr. 11R0233/90011 (1991)
im Auftrag der Berufsgenossenschaft der chemischen Industrie

BASF AG, Abteilung Toxikologie
Study on the inhalation toxicity including neurotoxicological examinations of Diethanol-
amin as a liquid aerosol in rats, 14-day test
unveröffentlichter Bericht, Projekt-Nr. 36I0233/90009 (1993 a)
im Auftrag der Berufsgenossenschaft der chemischen Industrie

BASF AG, Abteilung Toxikologie
Study of the prenatal toxicity of Diethanolamin in rats after inhalation
unveröffentlichter Bericht, Projekt-Nr. 31R0233/90010 (1993 b)
im Auftrag der Berufsgenossenschaft der chemischen Industrie

BASF AG, Abteilung Toxikologie
Diethanolamin - Subchronic inhalation toxicity and neurotoxicity study in Wistar rats, 90-
day liquid aerosol exposure
unveröffentlichter Bericht, Projekt-Nr. 50I0075/93011 (1996)
im Auftrag der Berufsgenossenschaft der chemischen Industrie

BASF AG
Sicherheitsdatenblatt gemäß 91/155/EWG Diethanolamin rein (2000)

BASF AG, Experimental of Toxicology and Ecology
Diethanolamine - S-phase response study in liver and kidney of male B6C3F1 mice,
dermal administration for 1, 4 and 13 weeks
unveröffentlichter Bericht, Projekt-Nr. 99C0299/99041 (2001)
im Auftrag des CMA Alkanolamine Panel

Berger, M.R., Schmähl, D., Edler, L.
Implications of the carcinogenic hazard of low doses of three hepatocarcinogenic
N-nitrosamines
Jpn. J. Cancer Res., 81, 598 - 606 (1990)

Blum, A., Lischka, G.
Allergic contact dermatitis from mono-, di- and triethanolamine
Contact Dermatitis, 36, 166 (1997)

- Blum, K., Huizenga, C.G., Ryback, R.S., Johnson, D.K., Geller, I.
Toxicity of diethanolamine in mice
Toxicol. Appl. Pharmacol., 22, 175 - 185 (1972)
- Bruze, M., Hradil, E., Eriksohn, I.L., Gruvberger, B., Widström, L.
Occupational allergic contact dermatitis from alkanolamineborates in metalworking fluids
Contact Dermatitis, 32, 24 - 27 (1995)
- BUA (Beratergremium für umweltrelevante Altstoffe)
BUA-Stoffbericht 158 (Kurzbericht) Diethanolamin
S. Hirzel Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft (1994)
- Burdock, G.A.
Some toxic effects of diethanolamine in the neonatal rat
Diss. Abstr. Int., B41, 4078 (1981)
- Burdock, G.A., Masten, L.W.
Diethanolamine induced changes in the neonatal rat
Toxicol. Appl. Pharmacol., 48, A30 (1979)
- Carpenter, C.P., Smyth, H.F., jr.
Chemical burns of the rabbit cornea
Am J. Ophthalmol., 29, 1363 - 1372 (1946)
- Condea Chemie GmbH
Produktinformation Diethanolamin (1998)
- Crow, K.D., Harman, R.R.M., Holden, H.
Amine flux sensitization dermatitis in electricity cable jointers
Br. J. Derm., 80, 701 - 710 (1968)
- Dean, B.J., Brooks, T.M., Hodson-Walker, G., Hutson, D.H.
Genetic toxicology testing of 41 industrial chemicals
Mutat. Res., 153, 57 - 77 (1985)
- De Jong, W.H., Tentij, M., Spiekstra, S.W., Vandebriel, R.J., Van Loveren, H.
Determination of the sensitising activity of the rubber contact sensitizers TMTD, ZDMC, MBT and DEA in a modified local lymph node assay and the effect of sodium dodecyl sulfate pretreatment on local lymph node responses
Toxicology, 176, 123 - 134 (2002)
- DFG (Deutsche Forschungsgemeinschaft), Senatskommission zur Prüfung gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe
Toxikologisch-arbeitsmedizinische Begründung von MAK-Werten, Gesundheitsschädliche Arbeitsstoffe, Diethanolamin
VCH Verlagsgesellschaft mbH, Weinheim (1981)
- DFG (Deutsche Forschungsgemeinschaft, Senatskommission zur Prüfung gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe)
MAK- und BAT-Werte Liste 2003
Wiley-VCH Verlag GmbH, Weinheim (2003)

Dow Chemical Company, Toxicology Research Laboratory
Diethanolamine: pharmacokinetics in Sprague-Dawley rats following dermal or intravenous administration
unveröffentlichter Bericht, Project HET K-000724-002 (-003) (1995)

Dutertre-Catella, H., Lich, N.P., Huyen, V.N., Truhaut, R., Shechter, E.
Etude comparative de l'agressivité cutanée et oculaire des éthanolamines (mono, di, tri et poly)
Arch. Mal. Prof., 43, 455 - 460 (1982)

Eastman Kodak Company, Toxicology Laboratory
Ethanolamine, diethanolamine and methylaminoethanol - a dietary feeding study
Bericht (1967 a)
NTIS/OTS 0516742

Eastman Kodak Company, Toxicology Laboratory
Subacute inhalation toxicity of diethanolamine and Bimat Inbibant (485K)
Bericht (1967 b)
NTIS/OTS 0516742

Eastman Kodak Company, Toxicology Laboratory
Diethanolamine - a thirty day dietary feeding study
Bericht (1968)
NTIS/OTS 0516742

Eastman Kodak Company, Health Safety and Human Factors Laboratory
Diethanolamine - toxicity and health hazard summary
Zusammenfassung, ACC-No. 901598 (1982)
NTIS/OTS 0516742

Edens, M.R., Lochary, J.F.
Alkanolamines from olefin oxides and ammonia
in: Kroschwitz, J.I., Howe-Grant, M. (eds.)
Kirk-Othmer encyclopedia of chemical technology
4th ed., vol. 2, p.1 - 26
John Wiley and Sons, New York (1991)

EHRT (Environmental Health Research & Testing, Inc.), Cincinnati, Ohio
Screening of priority chemicals for reproductive hazards - monoethanolamine, diethanolamine, triethanolamine
unveröffentlichter Bericht, Project No. ETOX-85-1002 (1986)
im Auftrag des National Institute for Occupational Safety and Health (NIOSH)

EHRT (Environmental Health Research & Testing, Inc.), Lexington, Kentucky
Range finding studies: developmental toxicity diethanolamine when administered via gavage in CD Sprague-Dawley rats
unveröffentlichter Bericht, Study No. NTP-89-RF/DT-002 (1990)
im Auftrag des National Institute of Environmental Health Sciences

Foster, G.V.
Studies of the acute and subacute toxicologic responses to diethanolamin in the rat
Diss. Abstr. Int., B32, 6549-B (1972)

- Foster, G.V., jr., Hartung, R., Cornish, H.H.
Inhibition of hepatic microsomal enzymes by N-substituted ethanolamines
Toxicol. Appl. Pharmacol., 19, 386 - 387 (1971)
- Greim, H. (Hrsg.)
Gesundheitsschädliche Arbeitsstoffe, Toxikologisch-arbeitsmedizinische Begründungen
von MAK-Werten (Maximale Arbeitsplatzkonzentrationen)
Wiley-VCH Verlag GmbH, Weinheim (2003)
- Grice, H.C., Barth, M.L., Cornish, H.H., Foster, G.V., Gray, R.H.
Correlation between serum enzymes, isozyme patterns and histologically detectable or-
gan damage
Fd. Cosmet. Toxicol., 9, 847 - 855 (1971)
- GSRI (Gulf South Research Institute)
Subchronic test of diethanolamine (C55174) in B6C3F1 mice and Fischer 344 rats
unveröffentlichter Bericht, Project No. 410-798 (1980)
- Hartung, R., Rigas, L.K., Cornish, H.H.
Acute and chronic toxicity of diethanolamine
Toxicol. Appl. Pharmacol., 17, 308 (1970)
- Haworth, S., Lawlor, T., Mortelmans, K., Speck, W., Zeiger, E.
Salmonella mutagenicity test results for 250 chemicals
Environ. Mutagen., 5, Suppl. 1, 3 - 142 (1983)
- Hazleton Laboratories Incorporated, Falls Church, Virginia
Laboratory tests to determine effect of inhalation of two ethanolamines - diethanolamine,
methyldiethanolamine, formulation 485K
Bericht (1967)
NTIS/OTS 0516742
- Hedenstedt, A.
Mutagenicity screening of industrial chemicals: seven aliphatic amines and one amide
tested in the Salmonella/microsomal assay
Mutat. Res., 53, 198 - 199 (1978)
- Hoffman, D.R., Haning, J.A., Cornatzer, W.E.
Effects of diethanolamine on phosphatidylcholine biosynthetic enzymes of rat liver mi-
crosomes
Int. J. Biochem., 15, 367 - 371 (1983)
- Hruban, Z., Swift, H., Slesers, A.
Effect of triparanol and diethanolamine on the fine structure of hepatocytes and pan-
creatic acinar cells
Lab. Invest, 14, 1652 - 1672 (1965)
- ICI (Imperial Chemical Industries PLC), Central Toxicology Laboratory
Diethanolamine: skin irritation study
unveröffentlichter Bericht, Report No. CTL/T/2330 (1985)

Immunotoxicology Program, Medical College of Virginia, Virginia Commonwealth University, Richmond, USA

Dose range-finding study for immunological evaluation of diethanolamine in female B6C3F1 mice

Bericht, Protocol No. RF-DEA-14-1-PO (1992 a)

im Auftrag des National Institute of Environmental Health Sciences

Immunotoxicology Program, Medical College of Virginia, Virginia Commonwealth University, Richmond, USA

Immunotoxicity of diethanolamine in female B6C3F1 mice

Bericht, Protocol No. DEA-14-1-PO (1992 b)

im Auftrag des National Institute of Environmental Health Sciences

Inoue, K., Sunakawa, T., Okamoto, K., Tanaka, Y.

Mutagenicity tests and in vitro transformation assays on triethanolamine

Mutat. Res., 101, 305 - 313 (1982)

INRS

2,2'-Iminodiéthanol

Cahiers de notes documentaires n° 143, 2^e trimestre (1991)

IVDK (Informationsverbund Dermatologischer Kliniken)

schriftliche Mitteilung an die Berufsgenossenschaft der chemischen Industrie vom 26.10.2000

Izmerov, N.F., Sanotsky, I.V., Sidorov, K.K.

Toxicometric parameters of industrial toxic chemicals under single exposure, p. 49 (englische Übersetzung aus dem Russischen)

Centre of International Projects, GKNT, Moscow (1982)

Kerckaert, G.A., Brauninger, R., LeBoeuf, R.A., Isfort, R.J.

Use of the Syrian hamster embryo cell transformation assay for carcinogenicity prediction of chemical currently being tested by the National Toxicology Program in rodent bioassays

Environ. Health Perspect., 104 (Suppl. 5), 1075 - 1084 (1996)

Kharchenko, T.F., Ivanova, T.P.

Hygienic evaluation of some bonding materials and chemical substances applied to skin (englische Übersetzung aus dem Russischen)

Gig. Tr. Prof. Zabol., 7, 63 - 64 (1980)

Koch, R.

Zur Toxikologie verschiedener Theophyllinverbindungen und -derivate sowie einiger Lösungsvermittler

Arzneimittelforschung, 4, 649 - 654 (1954)

Koch, P.

Kontaktallergien bei Metallarbeitern - Berufliche und allergologische Relevanz der Epikutantestung bei 17 Patienten

Dermatosen, 44, 62 - 67 (1996)

- Korsrud, G.O., Grice, H.G., Goodman, T.K., Knipfel, J.E., McLaughlan, J.M.
Sensitivity of several serum enzymes for the detection of thioacetamide-, dimethylnitrosamine- and diethanolamine-induced liver damage in rats
Toxicol. Appl. Pharmacol., 26, 299 - 313 (1973)
- Lehman-McKeeman, L.D., Gamsky, E.A.
Diethanolamine inhibits choline uptake and phosphatidylcholine synthesis in Chinese hamster ovary cells
Biochem. Biophys. Res. Commun., 262, 600 - 604 (1999)
- Lehman-McKeeman, L.D., Gamsky, E.A.
Choline supplementation inhibits diethanolamine-induced morphological transformation in Syrian hamster embryo cells: evidence for a carcinogenic mechanism
Toxicol. Sci., 55, 303 - 310 (2000)
- Lehman-McKeeman, L.D., Gamsky, E.A., Hicks, S.M., Vassallo, J.D., Mar, M.H., Zeisel, S.H.
Diethanolamine induces hepatic choline deficiency in mice
Toxicol. Sci., 67, 38 - 45 (2002)
- Lide, D.R., Frederikse, H.P.R. (eds.)
CRC handbook of chemistry and physics
77th ed., p. 3-159
CRC Press, Boca Raton, New York, London, Tokyo (1997)
- Lißner, L., Schoof, C.
Produkthaftung des Herstellers von Gefahrstoffen am Beispiel der Kühlschmiermittel
Arbeitsrecht im Betrieb, Heft 6, 334 - 339 (1999)
- Loveday, K.S., Lugo, M.H., Resnick, M.A., Anderson, B.E., Zeiger, E.
Chromosome aberration and sister chromatid exchange tests in Chinese hamster ovary cells in vitro: II. Results with 20 chemicals
Environ. Mol. Mutagen., 13, 60 - 94 (1989)
- Marty, M.S., Neeper-Bradley, T.L., Neptun, D.A., Carney, E.W.
Developmental toxicity of diethanolamine applied cutaneously to CD rats and New Zealand white rabbits
Reg. Toxicol. Pharmacol., 30, 169 - 181 (1999)
- Mathews, J.M., Garner, C.E., Matthews, H.B.
Metabolism, bioaccumulation, and incorporation of diethanolamine into phospholipids
Chem. Res. Toxicol., 8, 625 - 633 (1995)
- Mathews, J.M., Garner, C.E., Black, S.L., Matthews, H.B.
Diethanolamine absorption, metabolism and disposition in rat and mouse following oral, intravenous and dermal administration
Xenobiotica, 27, 733 - 746 (1997)
- Mellert, W., Kaufmann, W., Rossbacher, R., van Ravenzwaay, B.
Investigations on cell proliferation in B6C3F₁ mouse liver by diethanolamine
Food Chem. Toxicol., 42, 127 - 134 (2004)
- Mellon Institute of Industrial Research, University of Pittsburgh
The acute and subacute toxicity of mono-, di- and triethanolamine
Report 13-67 (1950)
NTIS/OTS 0516797

Mellon Institute of Industrial Research, University of Pittsburgh
Pharmacological screening of di-ethanolamine
Report 17-68 (1954)
NTIS/OTS 0516797

Melnick, R.L., Mahler, J., Bucher, J.R., Thompson, M., Hejtmancik, M., Ryan, M.J., Mezza, L.E.

Toxicity of diethanolamine. 1. Drinking water and topical application exposure in F344 rats

J. Appl. Toxicol., 14, 1 - 9 (1994 a)

Melnick, R.L., Mahler, J., Bucher, J.R., Hejtmancik, M., Singer, A., Persing, R.L.

Toxicity of diethanolamine. 2. Drinking water and topical application exposure in B6C3F1 mice

J. Appl. Toxicol. 14, 11 - 19 (1994 b)

Mendrala, A.L., Waechter, J.M., Jr., Bormett, G.A., Bartels, M.J., Stott, W.T.

The pharmacokinetics of diethanolamine in Sprague-Dawley rats following intravenous administration

Food Chem. Toxicol., 39, 931 - 939 (2001)

Myhr, B.C., Bowers, L.R., Caspary, W.J.

Results from the testing of coded chemicals in the L5178Y TK^{+/+} mouse lymphoma mutagenesis assay

Environ. Mutagen., 8 (Suppl. 6), 58 (1986)

National Association of Printing Ink Research Institute

Raw material data handbook, vol. 1: Organic solvents, p. 24

Francis McDonald Sinclair Memorial Laboratory, Lehigh University, Bethlehem, USA (1974)

zitiert in: RTECS (1995)

NTP (National Toxicology Program)

Technical report on toxicity studies of diethanolamine (CAS No. 111-42-2) administered topically and in drinking water to F344/N rats and B6C3F1 mice

Toxicity Report Series No. 20, NIH Publication No. 92-3343 (1992)

NTP (National Toxicology Program)

Technical report on toxicology and carcinogenesis studies of diethanolamine (CAS No. 111-42-2) in F344/N rats and B6C3F1 mice (dermal studies)

Toxicity Report Series No. 478, NIH Publication No. 99-3968 (1999 a)

NTP (National Toxicology Program)

Technical report on toxicology and carcinogenesis studies of lauric acid diethanolamine condensate (CAS No. 120-40-1) in F344/N rats and B6C3F1 mice (dermal studies)

Toxicity Report Series No. 480, NIH Publication No. 99-3970 (1999 b)

NTP (National Toxicology Program)

Technical report on toxicology and carcinogenesis studies of oleic acid diethanolamine condensate (CAS No. 93-83-4) in F344/N rats and B6C3F1 mice (dermal studies)

Toxicity Report Series No. 481, NIH Publication No. 99-3971 (1999 c)

NTP (National Toxicology Program)

Technical report on the toxicology and carcinogenesis studies of coconut oil acid diethanolamine condensate (CAS No. 68603-42-9) in F344/N rats and B6C3F1 mice (dermal studies)

Technical Report Series No. 479, NIH Publication No. 01-3969 (2001)

O'Neil, M.J., Smith, A., Heckelman, P.E. (eds.)

The Merck index

13th ed.

Merck & Co., Inc., Whitehouse Station, New Jersey (2001)

Owen, C.M., August, P.J., Beck, M.H.

Contact allergy to oak moss resin in a soluble oil

Contact Dermatitis, 43, 112 (2000)

Piipari, R., Tuppurainen, M., Tuomi, T., Mäntylä, L., Keskinen, H.

Diethanolamine-induced occupational asthma

Allergy, 51 (Suppl. 32), 84 (1996)

Piipari, R., Tuppurainen, M., Tuomi, T., Mäntylä, L., Henriks-Eckerman, M.L., Keskinen, H., Nordman, H.

Diethanolamine-induced occupational asthma, a case report

Clin. Exp. Allergy, 28, 358 - 362 (1998)

Pool, B.L., Brendler, S.Y., Liegibel, U.M., Tompa, A., Schmezer, P.

Employment of adult mammalian primary cells in toxicology: in vivo and in vitro genotoxic effects of environmentally significant N-nitrosodialkylamines in cells of the liver, lung, and kidney

Environ. Mol. Mutagen., 15, 24 - 35 (1990)

Preussmann, R., Spiegelhalder, B., Eisenbrand, G., Würtele, G., Hofmann, I.

Urinary excretion of N-nitrosodiethanolamine in rats following its epicutaneous and intratracheal administration and its formation in vivo following skin application of diethanolamine

Cancer Lett., 13, 227 - 231 (1981)

Preussmann, R., Habs, M., Habs, H., Schmähl, D.

Carcinogenicity of N-nitrosodiethanolamine in rats at five different dose levels

Cancer Res., 42, 5167 - 5171 (1982)

RCC (Research & Consulting Company AG)

Contact hypersensitivity to Diethanolamin, rein in albino guinea pigs, maximization-test unveröffentlicher Bericht, RCC Project 264903 (1990)

im Auftrag der Berufsgenossenschaft der chemischen Industrie

RTECS (Registry of Toxic Effects of Chemical Substances)

Ethanol, 2,2'-iminodi-, RTECS Number KL2975000

Produced by National Institute of Occupational Safety and Health (NIOSH) (1995)

RTI (Research Triangle Institute), North Carolina
Absorption and disposition of diethanolamine (DEA) in rats and mice after oral, dermal, and intravenous administration
Bericht, RTI/3662/00-12P (1991)
im Auftrag des National Institute of Environmental Health Sciences

RTI (Research Triangle Institute), North Carolina
Developmental toxicity screen for diethanolamine (CAS-No. 111-42-2) administered by gavage to Sprague-Dawley (CD[®]) rats on gestational days 6 through 19: evaluation of dams and pups through postnatal day 21
Bericht, NTP Study No. TER-96-001 (1999)
im Auftrag des National Institute of Environmental Health Sciences

Schoof, C.
Haftung des Herstellers eines fehlerhaften Kühlschmiermittels für Gesundheitsschäden
Arbeitsrecht im Betrieb, Heft 6, 355 - 359 (1999)

Shell Oil Company, Toxicology Laboratory
Studies on the effects of diethanolamine on the integrity of rat liver DNA in vivo
Group Research Report SBGR.81.228 (1982)
NTIS/OTS 0520408

Smyth, H.F., jr., Carpenter, C.P., Weil, C.S.
Range-finding toxicity data: list IV
Arch. Ind. Hyg. Occup. Med., 4, 119 - 122 (1951)

Smyth, H.F., jr., Weil, C.S., West, J.S., Carpenter, C.P.
An exploration of joint toxic action. II. Equitoxic versus equivolume mixtures
Toxicol. Appl. Pharmacol., 17, 498 - 503 (1970)

Sorsa, M., Pyy, L., Salomaa, S., Nylund, L., Yager, J.W.
Biological and environmental monitoring of occupational exposure to cyclophosphamide in industry and hospitals
Mutat. Res., 204, 465 - 479 (1988)

Story, D.L., Gee, S.J., Tyson, C.A., Gould, D.H.
Response of isolated hepatocytes to organic and inorganic cytotoxins
J. Toxicol. Environ. Health, 11, 483 - 501 (1983)

Stott, W.T., Bartels, M.J., Brzak, K.A., Mar, M.H., Markham, D.A., Thornton, C.M., Zeisel, S.H.
Potential mechanisms of tumorigenic action of diethanolamine in mice
Toxicology Lett., 114, 67 - 75 (2000)

Sun, J.D., Beskitt, J.L., Tallant, M.J., Frantz, S.W.
In vitro skin penetration of monoethanolamine and diethanolamine using excised skin from rats, mice, rabbits, and humans
J. Toxicol. Cut. Ocular Toxicol., 15, 131 - 146 (1996)

Sundlof, S.F., Mayhew, I.G.
A neuroparalytic syndrome associated with an oral flea repellent containing diethanolamine
Vet. Hum. Toxicol., 25, 247 - 249 (1983)

Tennant, R.W., French, J.E., Spalding, J.W.
Identifying chemical carcinogens and assessing potential risk in short-term bioassays using transgenic mouse models
Environ. Health Perspect., 103, 942 - 950 (1995)

TRGS 615 (Technische Regeln für Gefahrstoffe)
Verwendungsbeschränkungen für Korrosionsschutzmittel, bei deren Einsatz N-Nitrosamine auftreten können
Bundesarbeitsblatt, Heft 9, 42 - 47 (2003)

Union Carbide Corporation, Chemicals Division
Booklet F-41175 A.I. „Ethanolamines“ (1966)
zitiert in: DFG (1981)

Union Carbide, Bushy Run Research Center
Definitive developmental toxicity evaluation of diethanolamine (DEA) administered cutaneously to CD[®] (Sprague-Dawley) rats
Project ID 54-563 (1992)
im Auftrag der Chemical Manufacturers Association, Alkanolamines Panel
NTIS/OTS 0538422

Union Carbide, Bushy Run Research Center
Diethanolamine (DEA): developmental toxicity range-finding study of cutaneous administration to New Zealand white rabbits
unveröffentlichter Bericht, Project ID 91N0108 (1993 a)
im Auftrag der Chemical Manufacturers Association, Alkanolamines Panel

Union Carbide, Bushy Run Research Center
Diethanolamine (DEA): developmental toxicity study of cutaneous administration to New Zealand white rabbits
unveröffentlichter Bericht, Project ID 91N0136 (1993 b)
im Auftrag der Chemical Manufacturers Association, Alkanolamines Panel

Uter W., Schaller, S., Bahmer, F.A., Brasch, J., Diepgen, T.L., Enders, F., Frosch, P.J., Fuchs, T., Henseler, T., Müller, S., Peters, K.P., Przybilla, B., Schaller, J., Schnuch, A., Schulze-Dirks, A., Stary, A.
Contact allergy in metal workers: a one-year analysis based on data collected by the „Information Network of Dermatological Clinics“ (IVDK) in Germany
Dermatosen, 41, 220 - 227 (1993)

Uter, W., Geiger, J., Ippen, H.
Aktuelle Sensibilisierungshäufigkeiten bei der DKG-Testreihe „Metallverarbeitung“
Dermatosen, 44, 34 - 36 (1996)

Wahlberg, J.E., Boman, A.
Alkanolamines - sensitizing capacity, cross reactivity and review of patch test reactivity
Dermatosen, 44, 222 - 224 (1996)

York, M., Basketter, D.A., Cuthbert, J.A., Neilson, L.
Skin irritation testing in man for hazard assessment - evaluation of four patch systems
Hum. Exp. Toxicol., 24, 729 - 734 (1995)