

**DEPARTAMENTO DEL TRABAJO Y RECURSOS
HUMANOS
OFICINA DE SEGURIDAD Y SALUD EN EL
TRABAJO
(OSHO)**

**EXPOSICIÓN OCUPACIONAL A
CLORURO DE METILENO**

Federal Register Vol. 62 No. 7, Friday, January 10, 1997/Rules and Regulations

Registro Federal Vol. 62 Núm.7, viernes, 10 de enero de 1997/Reglas y Reglamentos

Departamento del Trabajo

Administración de Seguridad y Salud Ocupacional

29 CFR Partes 1910, 1915 y 1926

RIN 1218-AA98

Exposición Ocupacional a Cloruro de Metileno

Agencia: Administración de Seguridad y Salud Ocupacional (OSHA) Departamento del Trabajo.

Acción: Regla final.

Sumario: La Administración de Seguridad y Salud Ocupacional (OSHA) por lo presente enmienda sus reglamentaciones existentes sobre la exposición de los empleados a cloruro de metileno (CM), (también conocido como bicloruro de metileno, biclorometano o DCM). OSHA ha determinado, basado sobre datos animales y humanos, que los límites de exposición permisible actuales (PELs), permiten la exposición de los empleados a riesgos significativos de daño material a la salud. OSHA está reduciendo la exposición de promedio de tiempo ponderado (TWA), de ocho horas de 500 partes de CM por millón de partes de aire a 25 ppm. OSHA también está eliminando la concentración de límite de techo existente de 1,000 ppm y reduciendo el límite de exposición a corto término de 2,000 ppm medido durante cinco minutos en cualquier período de dos horas), a 125 ppm, medido como un TWA de 15 minutos. Además, la Agencia está estableciendo un "nivel de acción" de 12.5 ppm, medido como un TWA de ocho horas. La regla final también contiene disposiciones para el control de exposición, equipo de protección personal, monitoreo de exposición de los empleados, adiestramiento, vigilancia médica, comunicación de riesgos, áreas reglamentadas y archivo de expedientes. Juntas, estas disposiciones reducirán significativamente el riesgo significativo a la extensión factible. Esta norma aplica a todos los empleados en la industria general, astilleros y construcción. Los pequeños patronos, para propósitos de la Regulatory Flexibility Act, 5 U.S.C. 601, están definidos como firmas con menos de 20 empleados. La norma final evitará un estimado de 31 muertes por cáncer por año y un estimado de tres muertes por año debidas a efectos al sistema nervioso central y carboxihemoglobínicos y también reducirá la enfermedad cardiovascular y daño material al sistema nervioso central. El costo estimado, sobre una base anualizada, es \$101 millones por año.

Fechas: La regla final entra en vigor el 19 de abril de 1997.

Cumplimiento: Las fechas de comienzo para las disposiciones específicas están establecidas en ' 1910.1052(n) del texto reglamentario. Sin embargo, las partes afectadas no tienen que cumplir con

los requisitos de recopilación de información en ' 1910.1052(d), monitoreo de exposición, ' 1910.1052(e), áreas reglamentadas, ' 1910.1052(l) información y adiestramiento de los empleados; y ' 1910.1052(m), archivo de expedientes, hasta que el Departamento del Trabajo publique en el **Federal Register** los números de control asignados por la publicación de la Office of Management and Budget (OMB), de los números de control notifique al público que OMB ha aprobado estos requisitos de recopilación de información bajo la Paperwork Reduction Act of 1995.

Comentarios: Las partes interesadas pueden someter los comentarios sobre los requisitos de recopilación de información para esta norma hasta el 11 de marzo de 1997.

Direcciones: En cumplimiento con el 28 U.S.C. 2112(a), la Agencia designa al Associate Solicitor for Occupational Safety and Health, Office of the Solicitor, Room S-4004, U.S. Department of Labor, 200 Constitution Avenue, NW., Washington, D.C. 20210, como el receptor de las peticiones de revisión de la norma.

Los comentarios sobre los requisitos de trámites de esta regla final han de ser sometidos a la Docket Office, Docket No. ICR96-15, U.S. Department of Labor, Room N-2625, 200 Constitution Ave., NW., Washington D.C. 20210, teléfono (202) 219-7894. Los comentarios escritos limitados a 10 páginas o menos en longitud pueden ser transmitidos por facsímil a (202) 219-5046.

Las copias de la petición de recopilación de información referenciada están disponibles para recopilación y copia en al Docket Office y serán enviadas inmediatamente a las personas que pidan copias de la Norma final de cloruro de metileno y la Petición de recopilación de información llamando a Vivian Allen al (202) 219-8076. Para copias electrónicas de la Norma final de cloruro de metileno y Petición de recopilación de información, comuníquese con la página de la red de OSHA en <http://www.osha.gov/>.

Para más información comuníquese con: Bonnie Friedman, Director, OSHA Office of Public Affairs, Room N-3647, U.S. Department of Labor, 200 Constitution Avenue, NW, Washington, D.C. 20210; Teléfono (202) 219-8148.

Información suplementaria:

Requisitos de información: Petición de comentarios

El Departamento del Trabajo, como parte de su esfuerzo continuado para reducir los trámites y la carga de respuesta , conduce un programa de consultoría preautorización para proveer al público general y a las agencias federales de la oportunidad de comentar sobre las recopilaciones propuestas y/o continuadas de información de acuerdo con la Paperwork Reduction Act of 1995 (PRA95) (44 U.S.C. 3506(c)(2)(A)). Este programa ayuda a garantizar que los datos requeridos puedan ser provistos en el formato deseado, la carga de informado (recursos de tiempo y financieros), sea

minimizada, los instrumentos de recopilación estén claramente comprendidos y el impacto de los requisitos de recopilación sobre los respondedores pueda ser apropiadamente evaluado. En la actualidad, OSHA está solicitando comentarios concernientes a la aprobación propuesta para los requisitos de trámites de la Norma final de cloruro de metileno. Los comentarios escritos deben:

- § Evaluar si la información de recopilación propuesta es necesaria para la ejecución apropiada de las funciones de la agencia, incluyendo si la información tendrá utilidad práctica;
- § Evaluar la precisión del estimado de la agencia de la carga de la recopilación de información propuesta, incluyendo la validez de la metodología y asunciones usadas;
- § Mejorar la calidad, utilidad y claridad de la información a ser recopilada; y
- § Minimizar la carga de la recopilación de información sobre aquellos que hayan de responder, inclusive a través del uso técnicas de recopilación automatizadas, electrónicas, mecánicas u otras técnicas de recopilación apropiadas de tecnología de información, e.g., permitir las submisiones de respuestas electrónicas.

Trasfondo: La Norma de cloruro de metileno y sus requisitos de recopilación de información están diseñados para proveer protección a los empleados de los efectos adversos a la salud asociados con la exposición ocupacional a CM. La norma requiere que los patronos monitoreen la exposición de los empleados a CM e informen a los empleados de los resultados del monitoreo. Si los resultados del monitoreo están sobre el TWA PEL de ocho horas o el STEL, entonces los patronos deben informar a los empleados de la acción correctiva que vaya a tomarse para reducir la exposición de los empleados a o bajo el PEL de ocho horas o el STEL. A los patronos también puede requerirse proveer vigilancia médica a los empleados que estén o puedan estar expuestos a CM. A los patronos también se requiere proveer información y adiestramiento a los empleados sobre lo siguiente: efectos a la salud del CM, especificaciones en relación al uso de CM en el lugar de trabajo y medios que los empleados pueden usar para protegerse de la sobreexposición a CM.

Acciones actuales: Esta notificación pide comentario público sobre los requisitos de trámites en la Norma final de cloruro de metileno. La Agencia previamente buscó autorización sobre tres Avisos de Peticiones de recopilación de información de reglamentación propuesta; Astilleros, 1218-0177; Construcción, 1218-0178; e Industria General, 1218-0179. Ya que los requisitos de información son idénticos para cada industria, la Agencia ha combinado estos tres conjuntos en uno titulado Cloruro de metileno, ' 1910.1052, número de OMB 1218-0179.

Tipo de revisión: Revisión de una recopilación actualmente aprobada.

Agencia: Administración de Seguridad y Salud Ocupacional.

Título: Cloruro de metileno, ' 1910.1052.

Número de OMB: 1218-0179.

Número de Agencia: Methylene Chloride Docket Number H-71.

Archivo de expedientes: Los patronos deben mantener los expedientes médicos de los empleados por al menos la duración del empleo, más 30 años. Los expedientes de monitoreo de exposición de los empleados deberán mantenerse por al menos 30 años. Los datos objetivos, datos que muestren que cualesquiera materiales en el lugar de trabajo que contengan CM no liberen CM que excedan al nivel de acción o al STEL, bajo condiciones de exposición previsible, deben mantenerse mientras el patrono confíe sobre los datos en apoyo de la exención del monitoreo inicial.

Público afectado: Negocios u otros con fines de lucro, gobiernos federal, estatal o local.

Total de respondedores: 92,000.

Frecuencia: Ocasional

Total de respuestas: Inicial, 719,948; Recurrente: 299, 620.

Promedio de tiempo por respuesta: 0.26 horas.

Estimado total de horas de carga: Inicial, 188,728; Recurrente 74,299.

Estimado total de costo de carga: Inicial \$32,496; \$12,282,420.

Los comentarios sometidos en respuesta a esta notificación estarán sumariados y/o incluidos en la petición de aprobación de la Office of Management and Budget de la petición de recopilación de información, también se convertirán en asunto de expediente público.

Federalismo

Esta norma ha sido revisada conforme a la Executive Order 12612, 52 FR 41685 (October 30, 1978), en relación al Federalismo. Esta Orden requiere que las agencias, a la extensión posible, se abstengan de limitar las opciones de política estatal, consulten con los estados antes de tomar cualesquiera acciones que restrinjan las opciones de política estatal y tomen tales acciones sólo cuando haya clara autoridad constitucional y la presencia de un problema de alcance nacional. La Orden dispone para el sobreseimiento de la ley estatal sólo si hay clara intención del Congreso de que la Agencia lo haga. Cualquier sobreseimiento tal debe estar limitado a la extensión posible.

La sección 18 de la Ley de Seguridad y Salud Ocupacional (Ley OSH), expresa la clara intención del Congreso de sobreescribir a las leyes estatales con respecto a las cuales OSHA federal haya promulgado normas de seguridad y salud ocupacional. Bajo la Ley OSH, un estado puede evitar el sobreseimiento sólo si somete y obtiene la aprobación federal de un plan para el desarrollo de tales normas y su ejecución. Las normas de seguridad y salud ocupacional desarrolladas por tales planes de Plan Estatal deben, entre otras cosas, ser al menos tan efectivos al proveer empleo y lugares de empleo seguros y salubres como las normas federales. Donde tales normas sean aplicables a productos distribuidos o usados en el comercio interestatal, no deben cargar el comercio indebidamente y deben estar justificadas por condiciones locales competentes (Veáse la sección 18(c)(2)).

La norma final de CM está diseñada para que los empleados de todos los estados estén protegidos por una norma general, orientada a la ejecución. Los estados con planes de seguridad y salud ocupacional aprobados bajo la sección 18 de la Ley OSH podrán desarrollar sus propias normas para tratar con cualesquiera problemas especiales que pudieran encontrarse en un estado en particular. Más aún, la naturaleza de ejecución de esta norma, de sí y por sí misma, permite flexibilidad por los estados y los patronos para proveer tanta adaptabilidad como sea posible al usar métodos alternos de cumplimiento.

La regla final de CM discute un problema de salud relacionado con la exposición ocupacional a CM que es de alcance nacional.

Aquellos estados que hayan elegido participar bajo la sección 18 de la Ley OSH no serán sobreescritos por esta reglamentación y podrán tratar sus condiciones especiales locales dentro del marco de trabajo provisto por esta norma orientada al cumplimiento mientras garanticen que sus normas son al menos tan efectivas como la norma federal.

Planes estatales

Los 23 estados y dos territorios con sus propios planes de seguridad y salud ocupacional deben adoptar una norma comparable dentro de los seis meses de la publicación de esta norma final para exposición ocupacional a cloruro de metileno o enmendar sus normas existentes, si no son "al menos tan efectivas" como la norma final federal. Los estados y territorios con planes de seguridad salud ocupacional son: Alaska, Arizona, California, Connecticut (para empleados del gobierno estatal y local, solamente), Hawaii, Indiana, Iowa, Kentucky, Maryland, Michigan, Nevada, Nuevo Mexico, Nueva York (para empleados del gobierno estatal y local solamente), Carolina del Norte, Oregon, Puerto Rico, Carolina del Sur, Tennessee, Utah, Vermont, Virginia, Islas Vírgenes, Washington y Wyoming. Hasta el tiempo en que se promulgue una norma estatal, OSHA federal proveerá la asistencia de ejecución provisional, según sea apropiado, en estos estados y territorios.

Mandatos no consolidados

La regla final de CM ha sido revisada de acuerdo con la Unfunded Reform Act of 1995 (UMRA) (2 U.S.C. 1501 *et seq.*) y la Executive Order 12875. Según discutido a continuación en el Sumario del Análisis Económico Final (FEA) (Section VIII de este documento), OSHA estima que el cumplimiento con la norma revisada de CM requerirá el expendio de ligeramente más de \$100 millones cada año por los patronos en el sector privado. Por lo tanto, la regla final de CM establece un mandato federal de sector privado y una acción reglamentaria significativa, dentro del significado de la Sección 202 de UMRA (2 U.S.C. 1532). OSHA ha incluido esta declaración para discutir los efectos anticipados de la regla final de CM conforme a la Sección 202.

Las normas de OSHA no aplican a los gobiernos estatales y locales, excepto en estados que hayan elegido voluntariamente adoptar un Plan Estatal de OSHA. Consecuentemente, la norma de CM no cumple con la definición de "mandato federal intergubernamental" (Section 421(5) fo UMRA (2 U.S.C. 658(5)). Además, la Agencia ha concluido, basado sobre la revisión del expediente de reglamentación, que pocas, si alguno de los patronos afectados son gobiernos estatales, locales o tribales. Además, OSHA ha hallado que cualquier impacto sobre tales entidades sería insignificante. En suma, la norma de CM no impone mandatos no consolidados sobre los gobiernos estatales, locales y tribales.

Los beneficios y costos anticipados de esta norma final están discutidos en el Sumario del FEA (Sección VIII de este documento), a continuación y en el FEA [Ex. 129]. Adicionalmente conforme a la Sección 205 de UMRA (2 U.S.C. 1535), habiendo considerado un número razonable de alternativas según bosquejado en este Preámbulo y en el FEA [Ex. 129], la Agencia ha concluido que la regla final es la alternativa más efectiva de costo para la implantación de el objetivo de OSHA de reducir un riesgo significativo a la extensión factible. Esto está discutido en detalle en el FEA [Ex. 129], y en el Sumario y Explicación (Sección X de este documento), para las varias disposiciones de la norma de CM.

I. General

El preámbulo a la regla final sobre exposición ocupacional a Cloruro de Metileno (CM), discute los eventos que llevaron a la regla final, las propiedades físicas y químicas del CM, los efectos a la salud de la exposición, el grado y significado del riesgo presentado por la exposición a CM, el Análisis económico final y Análisis de Flexibilidad reglamentaria y la razón detrás de las disposiciones específicas establecidas en la regla final. La discusión sigue este bosquejo:

- I. General
- II. Autoridad legal pertinente
- III. Eventos conducentes a la norma final
- IV. Identificación química
- V. Efectos a la salud
- VI. Avalúo de riesgo cuantitativo
- VII. Significado del riesgo

- VIII. Sumario del Análisis económico final
- IX. Impacto ambiental
- X. Sumario y explicación de la Norma final
 - A. Alcance y aplicación
 - B. Definiciones
 - C. Límites de exposición permisibles
 - D. Monitoreo de exposición
 - E. Areas reglamentadas
 - F. Métodos de cumplimiento
 - G. Protección respiratoria
 - H. Ropa y equipo de protección
 - I. Facilidades de higiene
 - J. Vigilancia médica
 - K. Comunicación de riesgos
 - L. Información y adiestramiento a los empleados
 - M. Archivo de expedientes
 - N. Fechas
 - O. Apéndices
- XI. Autoridad y firma
- XII. Regla final y apéndices

Apéndice A: Hoja de información de seguridad de sustancia y guías técnicas para cloruro de metileno

Apéndice B: Vigilancia médica para cloruro de metileno

Apéndice C: Preguntas y respuestas-Control de cloruro de metileno en el decapado de muebles

II. Autoridad legal pertinente

El propósito de la Occupational Safety and Health Act, 29 U.S.C. 651 *et seq.* ("la Ley"), es "garantizar, en tanto sea posible, a todo trabajador en la nación, condiciones de trabajo seguras y salubres y preservar nuestros recursos humano." 29 U.S.C. ' 651(b). Para alcanzar esta meta, el Congreso autorizó al Secretario del Trabajo a promulgar y ejecutar las normas de seguridad y salud ocupacional. U.S.C. ' ' 655(a) (autoriza la adopción sumaria de las normas federales y de consenso nacional dentro de los dos años de estatuirse la Ley), 655(b) (autoriza la promulgación de normas conforme aviso y comentario), 654(b) (requiere a los patronos cumplir con las normas de OSHA.)

Una norma de seguridad o salud es una norma "que requiere condiciones o la adopción o uso de una o más prácticas, medios, operaciones o procesos, razonablemente necesarios o apropiados para proveer empleo o lugares de empleo seguros y salubres." 29 U.S.C. ' 652(8).

Una norma es razonablemente necesaria o apropiada dentro del significado de la sección 652(8), si reduce substancialmente o elimina riesgo significativo y es económicamente factible, tecnológicamente factible, efectiva de costo, consistente con la acción previa de la Agencia o está

apoyada por una justificación razonada para apartarse de las acciones previas de la Agencia y tiene mayor capacidad de reducir para efectuar los propósitos de la Ley que cualquier norma de consenso nacional que sobresea. Véase 58 FR 16612-16616 (March 30, 1993).

El Tribunal Supremo ha señalado que una persona razonable pudiera considerar un riesgo de muerte de 1/1000 como un riesgo significativo, y que consideraría un riesgo de uno en un billón como insignificante. *Industrial Union Department v. American Petroleum Institute*, 448 U.S. 607, 646 (1980) (la decisión "Benceno"). Así que un riesgo de 1/1000 (10^{-3}) representa el extremo superior del alcance de un millón de veces sugerido por el Tribunal Supremo, bajo el cual debe caer el límite del riesgo aceptable versus inaceptable. El Tribunal declaró además que "aunque la Agencia debe apoyar sus hallazgos de que existe cierto nivel de riesgo con evidencia substancial, reconocemos que su determinación de que un nivel particular de riesgo es significativo estará basada grandemente sobre consideraciones de política." Véase, e.g., *International Union, UAW v. Pendergrass*, 878 F.2d 389 (D.C. Cir. 1989) (norma de formaldehído); *Building and Constr. Trades Department, AFL-CIO v. Brock*, 838 F. 2d 1258, 1265 (D.C. Cir. 1988) (norma de asbesto).

Una norma es tecnológicamente factible si las medidas protectoras que requiere ya existen, pueden traerse a la existencia con la tecnología disponible, o puede ser creada con tecnología que pueda razonablemente esperarse que se desarrolle. *American Textiles Mfrs. Institute v. OSHA* 452 U.S. 490, 513 (1981) ("ATMI"), *American Iron and Steel Institute v. OSHA* 939 F. 2d 975, 980 (D.C. Cir. 1991) ("AISI").

Una norma es económicamente factible si la industria puede absorber o pasar adelante los costos de cumplimiento sin amenazar su rentabilidad o la estructura competitiva a largo plazo. Véase *ATMI*, 452, U.S. at 530 n. *AISI*, 939 F. 2d at 980.

Una norma es efectiva de costo si las medidas protectoras que requiere son menos costosas que las alternativas disponibles que alcancen el mismo nivel de protección. *ATMI*, 453 U.S. at 514 n. 32; *International Union, UAW v. OSHA*, 37 F.3d 665, 668 (D.C. Cir. 1994) ("LOTO III").

Todas las normas deben ser altamente protectoras. Véase 58 FR 16614-16615; *LOTO III*, 37 F. 3d at 668. Sin embargo, las normas de salud también deben cumplir con el "mandato de factibilidad" de la Sección 6(b)(5) de la Ley, 29 U.S.C. 655(b)(5). La sección 6(b)(5) requiere que OSHA seleccione "la norma más protectora consistente con la factibilidad" que sea necesaria para reducir el riesgo significativo al reglamentar riesgos a la salud. *ATMI*, 452 U.S. at 509.

La sección 6(b) también dirige a OSHA a basar las normas de salud sobre "la mejor evidencia

disponible", incluyendo investigación, demostraciones y experimentos. 29 U.S.C. ' 655(b)(5). OSHA deberá considerar "además de alcanzar el más alto grado de protección a la seguridad y la salud * * * los últimos datos científicos * * * factibilidad y experiencia obtenidos bajo esta y otras leyes de salud y seguridad." *Id.*

La sección 6(b)(7) de la Ley autoriza a OSHA a incluir entre los requisitos de la norma etiquetado, monitoreo, pruebas médicas y otras disposiciones de recopilación y transmisión de información. 29 U.S.C. ' 655(b)(7).

III. Eventos conducentes a la norma final

La presente norma de OSHA para CM requiere a los patronos garantizar que la exposición de los empleados no exceda a 500 ppm como un TWA de ocho horas, 1000 ppm como concentración Ade ceiling@ y 2000 ppm como un pico máximo por un período que no exceda a cinco minutos en cualesquiera dos horas (29 CFR 1910.1000, Tabla Z-2). Esta norma fue adoptada por OSHA en 1971, conforme a la sección 6(a) de la Ley OSH, 29 U.S.C. 655, de una norma federal Walsh-Healy existente. La fuente de esta norma Walsh-Healy [Ex. 7-1] fue el American National Standards Institute (ANSI), para concentraciones aceptables de CM (ANSI-Z37.23-1969), que tenía la intención de proteger a los trabajadores lesiones al sistema neurológico, incluyendo la pérdida de alerta y déficits funcionales ligados las propiedades anestésicas e irritantes del CM, que han sido observadas de exposiciones excesivas, agudas o grandes crónicas a CM en humanos y animales experimentales.

En 1946, la American Conference of Governmental Industrial Hygienists (ACGIH), recomendó un Valor de Límite Umbral (TLV) de 500 ppm para CM [Ex. 2]. En 1975, la ACGIH bajó el TLV recomendado a 100 ppm [Ex. 7-11].

En marzo de 1976, el National Institute for Occupational Safety and Health (NIOSH) publicó "Criteria for a recommended standard for Methylene Chloride" [Ex. 2], las cuales recomendaban una reducción de las exposiciones ocupacionales a CM a 75 ppm como un TWA de ocho horas., y redujo a exposición de pico que no exceda de 500 ppm. También se recomendó reducción de exposición ambiental basado sobre el nivel ambiental de monóxido de carbono.

En febrero de 1985, el National Toxicology Program (NTP), informó los resultados finales de los estudios sobre animales que indican que el CM es un agente potencial causante de cáncer [Ex. 7-8]. Subsiguientemente, la U.S. Environmental Protection Agency (EPA), al recibir los estudios del NTP, inició una evaluación de avalúo de riesgo para determinar si el CM presenta un riesgo no razonable a la salud de los humanos o al ambiente y para determinar si las acciones reglamentarias son necesarias para eliminar o reducir las exposiciones.

El 14 de mayo de 1985, EPA anunció su determinación de que el CM es un probable carcinógeno en humanos. EPA clasificó el CM como un Grupo B2, de acuerdo con sus guías provisionales para riesgo de cáncer (49 FR 46294), y de ahí que anunciara el inicio de una revisión de prioridad de 180 días. (50 FR 20126), bajo la sección 4(f) de la Toxic Substance Control Act (TSCA). Al cumplir su mandato bajo la sección 4(f) de TSCA de iniciar una acción reglamentaria el 17 de octubre de 1985, EPA publicó un Advance Notice of Proposed Rulemaking (ANPR), (50 FR

42037), con el propósito de recopilar la información necesaria requerida para iniciar una reglamentación. En este aviso, EPA estableció el 16 de diciembre de 1985 como su fecha límite para recibir comentarios.

El 11 de abril de 1985, la U.S. Consumer Product Safety Commission (CPSC), publicó sus hallazgos de avalúo de riesgo para CM y comenzó a considerar la acción reglamentaria para prohibir los productos que contengan CM y desarrollar un programa combinado de comunicación de riesgo para los consumidores.

El 18 de diciembre de 1985, la U.S. Food and Drug Administration (FDA), publicó una propuesta para prohibir el uso de CM como ingrediente en productos cosméticos en aerosol (50 FR 51551). Esta propuesta estuvo basada sobre un avalúo de que usó datos sobre animales de NTP.

El 19 de julio de 1985, Owen Bieber, presidente de la International Union, United Automobile, Aerospace and Agricultural Implement Workers of America (UAW), hizo una petición a OSHA de actuar expeditivamente en la reducción de la exposición de los trabajadores a CM. Específicamente, el Sr. Bieber pidió a OSHA: (1) Publicar un alerta de riesgo; (2) emitir una norma de emergencia temporera (ETS); y (3) comenzar a trabajar en una nueva norma permanente para controlar la exposición a CM. Subsiguientemente, las siguientes uniones se unieron a UAW para pedir a OSHA que actuara en la revisión de la norma actual:

- A. International Union, Allied Industrial Workers of America;
- B. Glass, Pottery, Plastics and Allied Workers International Union;
- C. United Future Workers of America;
- D. The Newspaper Guild;
- E. Communication Workers of America; y
- F. United Steelworkers of America.

En marzo de 1986, como respuesta preliminar a esta petición, OSHA emitió "Guidelines for

Controlling Exposure to Methylene Chloride." Ese documento, que fue cancelado por OSHA Notice ADM 8 (July 12, 1994), proveyó información a los patronos y trabajadores sobre los riesgos de la exposición a CM y los métodos para controlar tal exposición [Ex. 8-11].

En abril de 1986, NIOSH publicó un Current Intelligence Bulletin # 46 (CIB), sobre CM que reflejaba los hallazgos del estudio de NTP [Ex. 8-26]. El CIB concluyó que el CM debe considerarse como un carcinógeno ocupacional potencial y que la exposición debe controlarse al nivel más bajo factible.

El 20 de agosto de 1986, la CPSC emitió una regla propuesta [51 FR 29778] "que declararía que los productos domésticos que contuvieran algo distinto de los niveles contaminantes CM como sustancias peligrosas." La CPSC señaló que la propuesta fue acelerada por la evidencia de que la inhalación de vapores de CM aumentó la incidencia de varios tumores benignos y malignos en ratas y ratones. De conformidad, la Comisión propuso requerir que los productos domésticos que puedan exponer a los consumidores a vapor de CM sean tratados como sustancias peligrosas y etiquetadas como según dispuesto por la Federal Hazardous Substance Act (FHSA) (15 U.S.C. 1261(p)(1)). La FHSA requiere el uso de etiquetas que (1) indiquen que la exposición a un producto puede presentar un riesgo de cáncer; (2) explicar los factores (tales como el nivel y duración de la exposición), que controlan el grado de riesgo; (3) explicar las precauciones a tomarse.

El 17 de noviembre de 1986, OSHA denegó la petición de una Norma Temporera de Emergencia, pero estuvo de acuerdo en que debieran comenzar los trabajos de una norma permanente [Ex. 3A]. El 24 de noviembre de 1986, OSHA anunció en un Advance Notice of Proposed Rulemaking (ANPR) [51 FR 42257], que estaba considerando la revisión de la norma de salud ocupacional para CM. La Agencia basó esta acción sobre estudios animales que indicaban que el PEL de 500 ppm no proveía la protección adecuada contra el riesgo potencial de cáncer y otros efectos adversos a la salud. La ANPR resumió la información de OSHA en relación a la producción y uso de CM, la exposición ocupacional a CM y los efectos adversos a la salud potenciales asociados con la exposición a CM. Además, la notificación invitaba a las partes interesadas a someter comentarios, recomendaciones, datos e información sobre una variedad de asuntos relacionados con la reglamentación de CM. OSHA recibió 43 comentarios en respuesta a la ANPR. Esos comentarios están discutidos, según apropiado, a continuación.

El 5 de diciembre de 1986, la FDA reabrió el período de comentarios por 30 días sobre la propuesta antes citada para prohibir el uso de CM en productos cosméticos [51 FR 43935]. La reapertura hizo posible que las partes interesadas sometieran comentarios sobre los estudios recibidos después del cierre del período de comentarios inicial en relación a farmacocinéticos comparados de CM, metabolismo y genotoxicidad.

El 14 de septiembre de 1987, el CPSC emitió una declaración de interpretación y política de ejecución, en lugar de continuar con la reglamentación, que expresó la determinación de la Comisión de que los productos de consumidor que contenían CM y capaces de exponer a los consumidores a

cantidades significativas de CM pueden presentar riesgo de cáncer para humanos y por lo tanto, están sujetos a los requisitos de etiquetado de substancias peligrosas antes descritos. La CPSC explícitamente retuvo la opción de reasumir la reglamentación si el cumplimiento voluntario con, y la ejecución de la interpretación de la Comisión no inducen adecuadamente a las firmas a etiquetar sus productos apropiadamente.

En 1988, basado sobre la respuesta a la ANPR, OSHA comenzó a contactar a los pequeños negocios y a conducir un número de visitas de sitio, para desarrollar un entendimiento claro de cómo las revisiones a la norma de OSHA de CM afectarían a las pequeñas entidades. Por ejemplo, el 27 de abril de 1989, OSHA participó en una conferencia de NIOSH sobre controles de CM para la industria de decapado de muebles (54 FR 11811, March 22, 1989), para saber cómo la industria que está dominada por pequeños negocios, estaba tratando con la exposición a CM. La conferencia enfocó sobre el progreso de un programa piloto de NIOSH dirigido al desarrollo de controles de ingeniería costeables para la industria de decapado de muebles. OSHA continuó buscando insumo de los pequeños negocios durante la reglamentación de CM, según discutido a continuación en el Preámbulo y en el Análisis Económico Final [Ex. 129].

También, en 1988, ACGIH oficialmente bajó el TLV para CM a 50 ppm como un TWA de ocho horas. OSHA consideró si el TLV recomendado por la ACGIH sería una norma apropiada para OSHA. La ACGIH es una asociación profesional dedicada a los aspectos administrativos y técnicos de la salud ambiental y ocupacional. Los miembros votantes de la ACGIH son científicos que trabajan para agencias del gobierno o instituciones educativas. Cada año la ACGIH adopta TLVs nuevos o revisados para varias substancias mediante una mayoría de votos, no por consenso. OSHA no ha adoptado el TLV de CM de (50 ppm), como un TWA de ocho horas porque los criterios de la Agencia para establecer normas difieren de los de usados por la ACGIH. Las normas de OSHA deben eliminar riesgos significativos a la extensión factible, mientras que la ACGIH establece límites bajo los cuales cree que casi todos los trabajadores puedan estar repetidamente expuestos día tras día sin efectos adversos a la salud. También, según evidenciado por su "Documentación de los TLVs", la ACGIH no lleva a cabo avalúos de riesgo cuantitativo. Esta diferencia entre las prácticas de OSHA y la ACGIH es crítica, porque el Tribunal Supremo ha requerido a OSHA que realice avalúos de riesgo cuantitativo para establecer los límites de exposición.

El 29 de junio de 1989, la FDA emitió una regla final que prohibía el uso de CM en productos cosméticos [54 FR 27328]. La Agencia basó su regla final sobre estudios científicos que mostraron que la inhalación de CM causaba cáncer en animales de laboratorio. La FDA concluyó, de conformidad, que "el uso continuado de CM en productos cosméticos puede presentar un riesgo significativo a la salud humana * * *" La Agencia consideró los comentarios e información concernientes a la aplicación de un modelo farmacocinético fisiológicamente basado para predecir el riesgo de cáncer humano. La FDA determinó que el avalúo de riesgo desarrollado usando estudios sobre animales no debiera cambiarse para reflejar "datos farmacocinéticos y metabólicos y mecanismo metabólico GST hipotetizado de carcinogenicidad."

El 8 de agosto de 1990, la Consumer Product Safety Commission (CPSC) emitió una Orden General (55 FR 32282), que requería a los fabricantes, importadores, empaques y etiquetadores privados de productos del consumidor que contengan 1% o más de CM informar al CPSC la información sobre etiquetado y mercadeo de estos productos. La CPSC indicó que la información obtenida ayudaría a la Comisión al evaluar la política de la CPSC concerniente al etiquetado de productos que contengan sustancias peligrosas, conforme a la Federal Hazardous Substances Act.

El 11 de noviembre de 1990, el entonces Presidente Bush firmó la Clean Air Act Amendments (CAAA) de 1990. El Título VI de la CAAA requiere el faseo de los químicos agotadores de ozono para el año 2000 (sección 604), y requiere que EPA determine qué alternativas a los químicos agotadores del ozono son seguros para el uso (sección 612). El CM estaba entre los sustitutos potenciales estudiados por EPA para tratar el riesgo residual del CM y otros Contaminantes de aire peligrosos (HPAs) estableciendo normas sobre la Máxima Tecnología de Control Alcanzable (MACT). En particular, la sección 112(d) requiere a EPA promulgar National Emission Standards for Hazardous Air Pollutants (NESHAP) (40 CFR part 63) durante un período de 10 años. Además, EPA reglamenta el CM como un contaminante prioridad bajo la Clean Water Act según enmendada (33 U.S.C. 1251, *et seq.*)

El 12-13 de febrero de 1991, EPA convocó a una conferencia sobre "Reducción de Riesgos en el Decapado de Pintura" que estuvo muy concurrida por los representantes de los pequeños negocios que usan CM o sus sustitutos en una amplia gama de operaciones. OSHA participó activamente en las discusiones del grupo de trabajo y del panel para obtener información en relación a los impactos anticipados de una norma revisada de CM sobre las operaciones de decapado de pintura.

OSHA determinó, basado sobre datos de animales y humanos, que los PELs actuales para CM no protegen adecuadamente la salud de los empleados. De conformidad, el 7 de noviembre de 1991, OSHA emitió un aviso de notificación propuesta (NPRM) (56 FR 57036) para discutir los riesgos significativos de efectos a la salud inducidos por CM. La regla propuesta requería que los patronos redujeran la exposición ocupacional a CM e instituyeran medidas supeditadas, tales como adiestramiento a los empleados y vigilancia médica, para protección adicional de los trabajadores expuestos a CM. Las disposiciones de la regla propuesta están discutidas en detalle en la Sección X, Sumario y explicación. La Agencia publicó un aviso de corrección el 6 de enero de 1992, (57 FR 387). El NPRM solicitó comentarios sobre la regla propuesta y trajo 48 asuntos específicos para obtener información sobre los efectos a la salud, uso y controles de exposición del CM, así como insumo en relación a la adecuación y los impactos de las disposiciones particulares. El período de comentarios escritos, que terminó el 6 de abril de 1992, produjo 58 comentarios, incluyendo varias peticiones de vista.

El 11 de febrero de 1992, el entonces Presidente Bush anunció una agenda de faseo acelerado para las sustancias disminuidoras de ozono y ordenó a EPA acelerar su revisión de sustitutos (tales como CM), cuyo uso reduciría el daño a la capa de ozono.

El 19 de mayo de 1992, OSHA presentó la propuesta de CM al recién reconstituido Advisory Committee on Construction Safety and Health (ACCSH) para consulta. El Advisory Committee estableció un grupo de trabajo de CM para generar información y recomendaciones en relación al uso de CM y la exposición en la industria de la construcción.

En respuesta a las peticiones de vista y a las preocupaciones traídas por los comentaristas, la Agencia emitió un aviso informal de vista pública (57 FR 24438, June 9, 1992), que programó que las vistas comiencen en Washington, D.C. el 16 de septiembre de 1992. El aviso también reabrió el período de comentarios escritos hasta el 24 de agosto de 1992. El aviso de vista trajo 16 "issues", basados sobre los comentarios del NPRM, el cual solicitó insumo en relación a los riesgos a la salud humana debidos a la exposición a CM y al impacto de la regla propuesta sobre los usuarios del CM. Se seleccionó a San Francisco como un sitio de vista para facilitar la participación de los pequeños negocios, particularmente los sopladores de espuma y los terminadores de muebles, para los cuales la asistencia a la vista de Washington, D.C. hubiera sido económicamente gravosa.

El 28 de julio de 1992, el informe del grupo de trabajo sobre CM fue presentado al ACCSH y fue adoptado como la recomendación del Advisory Committee a OSHA. Basado sobre el insumo del ACCSH, OSHA emitió un aviso de vista suplementaria (57 FR 36964, August 17, 1992), el cual trajo el asunto sobre el uso, exposición y control del CM específicos a la industria de la construcción. El aviso suplementario extendió la fecha límite para la submisión de comentarios en relación a los asuntos sobre construcción hasta el 22 de septiembre de 1992.

OSHA convocó a vistas públicas en Washington, D.C., el 16-24 de septiembre de 1992 y en San Francisco el 14-16 de octubre de 1992, con el Juez de Derecho Administrativo James Guill presidiendo. Al concluir las vistas, el juez Guill estableció un período post vista para la submisión de datos adicionales, el cual terminó el 14 de enero de 1993 y para la submisión de resúmenes, argumentos y sumarios adicionales, que terminó el 15 de marzo de 1993. El período de comentarios post vista obtuvo 35 comentarios.

El 31 de marzo de 1993, conforme a la sección 112 de la CAAA, EPA emitió un aviso (58 FR 16808), pidiendo información sobre los impactos anticipados de la National Emissions Standard for Hazardous Air Pollutants (NESHAP), para la categoría de fuentes desgrasadoras de solvente halogenado de vapor limpiador. Este aviso caracterizó el CM como el tercer solvente halogenado de mayor uso común, basado sobre datos de 1991. El 29 de noviembre de 1993, EPA emitió un aviso de reglamentación propuesta (58 FR 62566) describiendo las reglas MACT para el uso de CM y otras operaciones de desgrasado de solvente de vapor halogenado.

El 11 de marzo de 1994, OSHA reabrió el expediente de reglamentación por 45 días (59 FR 11567), para recibir comentario público sobre los informes relacionados con los controles de ingeniería para exposición a CM en la industria de terminado de muebles, carcinogenicidad del CM y la disponibilidad substitutos con base de agua para adhesivos con base de CM en la manufactura de

productos de espuma flexible. En particular, OSHA solicitó insumo en relación a la extensión a la cual era factible para los pequeños negocios con operaciones de decapado de pintura cumplir con los PELs propuestos usando controles de ingeniería discutidos en el informe de los contratistas de OSHA [Ex.114]. La reapertura limitada, que terminó el 25 de abril de 1994, obtuvo 29 comentarios.

OSHA ha evaluado el impacto de la regla final sobre la aplicación en los grupos identificados (excepto para equipo de granjas [Ex. 115-23], en cuanto esta reglamentación no trata el empleo agrícola). El análisis y conclusión de la Agencia están presentados en el Avalúo Económico Final de esta reglamentación [Ex. 129], resumido en la Sección VIII, a continuación.

El 18 de marzo de 1994, EPA emitió una regla final (59 FR 13044), que trataba el uso de CM como substitutos de químicos disminuidores de ozono que están siendo eliminados en fases bajo la sección 612 de la CAAA de 1990. EPA ha hallado que el uso de CM es aceptable en la producción de espumas de poliuretano flexible; es espumas de piel integral de poliuretano; limpieza de metales; limpieza electrónica; limpieza de precisión y adhesivos, revestimientos y tintas. La Agencia expresó preocupación en relación a la toxicidad del CM, declarando "el uso del cloruro de metileno estará sujeto a futuros controles para contaminantes de aire peligrosos bajo el Título III, sección 112 de la CAA. Además, el uso del compuesto debe ser conforme a todas las normas relevantes de seguridad en el lugar de trabajo * * * El uso también está sujeto a los requisitos de desperdicios tóxicos bajo RCRA (59 FR at 13088)." EPA también señaló que está exhortando a las compañías a disminuir las emisiones de CM a través del programa de prevención de contaminación "30/50", bajo el cual las compañías voluntariamente se comprometen a reducir las emisiones 33% para el final del 1992 y 50% para el final de 1995 (59 FR at 13093).

El 21 de abril de 1994, el Departamento de la Vivienda y Desarrollo Urbano (HUD), emitió un aviso (59 FR 19084), anunciando que había fondos disponibles para la remoción de pintura con base de plomo. Ese aviso explícitamente disponía que las actividades de remoción de pintura con fondos de HUD no podían usar productos que contuvieran CM.

El 31 de marzo de 1994, el juez Guill cerró y certificó el expediente de vistas para el expediente de reglamentación de CM.

Conforme a la sección 112(d) de la CAAA, EPA ya ha finalizado las reglamentaciones de NESHAP que cubren la limpieza con solventes halogenados (59 FR 61801, December 4, 1994, 40 CFR part 63, subparte T), facilidades de manufactura y trabajo aeroespacial (September 1, 1995, 40 CFR part 63, subpart), y manufactura de muebles de madera (60 FR 62930, December 7, 1995, 40 CFR part 63, subpart J), los procedimientos de NESHAP relacionados con CM para varias industrias (e.g., farmacéuticas, espuma de poliuretano flexible, policarbonatos y nilón 6 están actualmente en

proceso.

Conforme a sus mandatos de CAAA, CWA, RCRA y PPA, EPA ha limitado las guías de limitación efluente para la industria farmacéutica (60 FR 21592, May 2, 1995), las cuales caracterizan el CM como uno de los contaminantes de prioridad significativa a ser tratados bajo la CWA. En particular, EPA ha discutido el uso de decapado por chorreo y la tecnología de destilación para recuperar CM de las aguas de desecho a volverse a usar o para usarse en otras industrias. La Agencia también ha propuesto requisitos para el cumplimiento del monitoreo de CM que, debido a la dilución con aguas de desecho, se hubieran hallado a niveles bajo los límites analíticos actuales de detección.

OSHA ha intentado considerar el impacto previsible de la acción de EPA sobre el uso de CM porque los cambios inducidos por EPA en tal uso afectaría los datos sobre los cuales OSHA confía para estimar el impacto de esta regla final. En resumen, mientras la acción de EPA para reducir la exposición a HAP puede exhortar a los patronos a reducir o eliminar el uso del CM, los esfuerzos simultáneos de EPA para reducir las emisiones de químicos disminuidores de ozono puede alentar a los patronos a mantener o aumentar el uso del CM. Dado la agenda para la acción de EPA y la necesidad de la Agencia de coordinar los procedimientos que surjan de varios mandatos estatutorios, es inapropiado llegar a conclusiones en relación al impacto de la acción reglamentaria de EPA sobre la necesidad de acción de OSHA.

OSHA también ha consultado con EPA para determinar si existe alguna interferencia potencial o requisitos confligentes en la norma de CM de OSHA y varias NESHAPs de EPA, y se ha comprometido a trabajar con OSHA en asuntos de cumplimientos de NESHAP futuros. OSHA ha discutido la reglamentación de CM con los oficiales de proyecto para todos los proyectos de NESHAP recientes, actuales y planificados y ha determinado que no hay requisitos confligentes o interferentes en las NESHAPs y la norma de CM de OSHA. Ciertamente, los patronos pueden elegir entre una variedad de medios para cumplir que no envuelven conflicto alguno en las reglamentaciones de OSHA y EPA.

En particular, OSHA condujo un análisis detallado de la EPA Solvent Degreasing NESHAP. OSHA determinó y EPA acordó, que no hay requisitos conflictivos en las dos reglamentaciones. OSHA no requiere o recomienda estrategias de cumplimiento específicos. Un método de común de reducir la exposición de los trabajadores es la ventilación de educación local. Además, algunas de las estrategias de cumplimiento alternativas sugeridas en la NESHAP de solvente de desgrasado de EPA, incluía la reducción de corriente del cuarto. OSHA ha determinado que aún si el patrono elige reducir la corriente del cuarto como su estrategia de cumplimiento con la NESHAP de EPA, los patronos pueden usar alguna ventilación de educación local para reducir la exposición de los trabajadores a CM y aún estar en cumplimiento con la norma de CM de OSHA y con la NESHAP de EPA. También hay otras combinaciones de estrategias de cumplimiento que pueden ser utilizadas para cumplir con ambas reglamentaciones. OSHA planifica discusiones adicionales sobre este asunto en sus documentos de asistencia de cumplimiento. El propósito de estos documentos es asistir a los patronos en seleccionar entre las muchas estrategias de control apropiadas que satisfagan

los requisitos bajo las reglamentaciones de OSHA y EPA.

El 25 de octubre de 1995, OSHA reabrió el expediente de reglamentación (60 FR 54462) para obtener insumo en relación a los estudios sometidos por la Halogenated Solvents Industry Alliance (HSIA) [Ex. 118-125], que discuten el uso de datos sobre animales para estimar el riesgo de cáncer a humanos debido a la exposición a CM. Los comentarios recibidos sobre estos estudios [Exs. 126-1 a 126-37] están discutidos en relación al Avalúo de riesgo cuantitativo (Sección VI), a continuación.

El expediente de reglamentación contiene 129 "exhibits" y 2717 páginas de transcripciones de vista. Una amplia gama de empleados, patronos, representantes de unión, asociaciones industriales, agencias de gobierno y otras partes interesadas contribuyeron al desarrollo del expediente de reglamentación. La Agencia agradece estos esfuerzos para ayudar a OSHA a desarrollar un expediente que provea una base sólida para la promulgación de esta regla final.

Durante los 10 años desde que OSHA inició los procedimientos de CM, la Agencia ha buscado y evaluado el insumo en relación al impacto anticipado de las norma de salud de CM sobre las pequeñas entidades. Por ejemplo, el issue K del Advance Notice of Proposed Rulemaking (ANPRM) para CM de OSHA (51 FR 42257, November 24, 1986), solicitó comentarios, recomendaciones, datos e información en relación a los impactos anticipados de una norma de CM sobre pequeñas entidades. Las respuestas de los manufactureros de espuma flexible de poliuretano [Exs. 10-4 y 10-17] y removedores de pintura industriales [Ex.10-7] indicaron que la reglamentación en relación a CM afectaría a las pequeñas entidades. Basado sobre la respuesta a la ANPRM, OSHA inició contactos con pequeñas entidades y condujo un número de visitas a sitios para desarrollar una clara comprensión de cómo las revisiones a la norma de CM de OSHA afectaría a las pequeñas entidades.

Basado sobre los contactos de OSHA con los pequeños negocios y la respuesta al ANPRM, el Análisis de impacto reglamentario preliminar (PRIA) para la NPRM de CM (56 FR 57036, November 7, 1991), consideró como pequeñas firmas a aquellas con menos de 20 empleados. Además, el PRIA estimó que 45% de los establecimientos que usan CM eran "pequeños negocios."

El Issue 25 de la NPRM para CM estableció que OSHA había analizado los impactos para la regla propuesta sobre pequeños negocios y había adaptado la norma para tomar en cuenta las circunstancias de los pequeños negocios, donde fuera apropiado. El lenguaje orientado a la ejecución que cubre la demarcación de las áreas reglamentadas (párrafo propuesto (e)(4) y los umbrales de exposición de 30/10 días (párrafo propuesto (i)(1)(i)), reflejó la determinación de la Agencia de evitar imponer cargas innecesarias sobre las pequeñas entidades. Adicionalmente, el Issue 25 solicitó información en relación a los impactos anticipados sobre los pequeños negocios, de modo que OSHA pudiera actualizar el análisis de flexibilidad de impacto reglamentario realizado conforme a la 5 U.S.C. 604 de la Regulatory Flexibility Act.

Los pequeños negocios, particularmente en el terminado de muebles [Exs. 19-1, 19-4, 19-6, 19-8,

19-10 y 19-11] y las industrias de soplado de espuma de poliuretano [Ex. 19-3], expresaron preocupación de que la regla propuesta impondría cargas de cumplimiento excesivas sobre sus operaciones. Basado en parte sobre estas preocupaciones, la Agencia convocó a vistas públicas informales (57 FR 24438, June 9, 1992) en Washington, D.C. y San Francisco, CA. San Francisco fue seleccionado como sitio de vista para facilitar la participación por los pequeños negocios, particularmente los sopladores de espuma de poliuretano y los terminadores de muebles, para los cuales la asistencia a la vista de Washington hubiera sido económicamente gravosa.

El Hearing Notice Issue 8 solicitó comentarios y testimonio, con documentación de apoyo, en relación al impacto de la regla propuesta sobre los pequeños negocios, particularmente en el sector de terminado de muebles. Un número significativo de pequeños negocios participó en las vistas de Washington, D.C. y de San Francisco, proveyendo a OSHA de testimonio y submisiones postvista útiles. Por ejemplo, Harold Markey de la Markey Restoration Company propuso [Tr. 2660, 2672, 10/16/92], que "los negocios de terminado de muebles fueran exentas del [PEL de 25 ppm] debido a las dificultades financieras que el cumplimiento causaría." Además, el Sr. Markey expresó agradecimiento por los esfuerzos de OSHA para facilitar su participación en la vista. Según discutido anteriormente, OSHA solicitó subsiguientemente (59 FR 11567, March 11, 1994) insumo adicional en relación a la extensión a la cual era factible para los pequeños negocios con operaciones de decapado de muebles cumplir con los PELs propuestos usando los controles de ingeniería discutidos en un informe de contratista de OSHA [Ex. 114].

OSHA ha tenido numerosos contactos con los terminadores de muebles, particularmente con miembros de la National Association of Furniture Refinishers and Refurbishers (NAFRR), la asociación de la industria. En 1994, OSHA estuvo representada en la conferencia anual de la NAFRR en Williamsburg, VA. La Agencia ha continuado proveyendo asistencia a la NAFRR y a otros terminadores de muebles en relación a las medidas apropiadas de higiene industrial para lugares de trabajo donde se use CM. Por ejemplo, OSHA ha diseminado información sobre los controles de ingeniería desarrollados por NIOSH para la industria de decapado de muebles. OSHA continuará tratando de alcanzar una relación cooperativa con los pequeños negocios afectados por la regla final de CM a través del cumplimiento cuidadoso con la Small Business Regulatory Enforcement Fairness Act (SBREFA) (5 U.S.C. Chapter 8) y la Regulatory Flexibility Act (5 U.S.C. 601, *et seq.*), según enmendada. Además, el "Öutreach Program" de la Agencia para la regla final de CM envolverá un compromiso significativo de consultoría y otros recursos por OSHA y otras partes interesadas basándose sobre las relaciones establecidas durante la reglamentación.

OSHA ha desarrollado un alcance multifacético para proveer información y asistencia de cumplimiento a la comunidad reglamentada. En particular, OSHA:

- OSHA ha desarrollado un panfleto que resume las disposiciones de la norma de CM;
- Ha desarrollado una directriz de cumplimiento para la norma de CM que contesta a preguntas

relacionadas con el cumplimiento sobre la norma de CM;

- Está desarrollando guías de cumplimiento dirigidas a asistir a los pequeños negocios a cumplir con la norma de CM, consistente con la sección 212 de la Small Business Regulatory Enforcement Fairness Act of 1996;

- Ha reclutado a las asociaciones industriales interesadas para asistir en la distribución de información relacionada con la norma de CM y la convocación de talleres para ayudar a los pequeños negocios a comprender las estrategias de cumplimiento disponibles;

- Ha hablado a las reuniones de asociación industrial y distribuido materiales relacionados con la norma de CM;

- Ha contactado a los fabricantes de CM para desarrollar una estrategia para la inclusión de información sobre la norma de CM de OSHA en los programas de administración de producto existentes; y

- Está trabajando con individuos interesados en conducir talleres para las industrias impactadas, tales como los fabricantes de espuma de poliuretano y terminadores de muebles, para adiestrar a los pequeños negocios sobre el cumplimiento con las reglamentaciones de OSHA y EPA.

Todos los 50 estados y territorios cubiertos por la OSH Act proveen servicio de consultoría gratuito para los pequeños negocios para asistirlos en alcanzar el cumplimiento con las normas de OSHA. Esos servicios están subvencionados por OSHA federal, pero son suplidos por los estados en los estados de plan estatal y por contratistas privados en otras áreas. Esos servicios de consultoría proveerán asistencia gratuita para los pequeños negocios, de modo que será fácil avenirse a cumplimiento con la norma de CM.

OSHA también establecerá Cooperative Assessment Programs (CAPs) (Programas cooperativos de avalúo), para asistir a los patronos individuales en alcanzar el cumplimiento en una manera razonable. En un CAP, un higienista industrial de OSHA trabaja con el patrono y los representantes de los empleados para determinar un número razonable de controles de ingeniería y prácticas de trabajo efectivos de costo para traer al patrono a cumplimiento. Se determina una agenda razonable para la implantación de estos controles. Los esfuerzos de buena fe para implantar un CAP generalmente son considerados en cumplimiento con las disposiciones de la norma. OSHA ha tenido éxito en la implantación de CAPs para arsénico, plomo y otras normas. Los patronos han hallado que trabajar con OSHA o CAPs los ha llevado a cumplimiento efectivo de costo con las normas de OSHA.

IV. Identificación química

El cloruro de metileno (CM), también llamado diclorometano (DCM) [Chemical Abstracts Service Registry Number 75-09-2] es un hidrocarburo alifático halogenado con una fórmula química de CH_2Cl_2 , un peso molecular de 84.9, un punto de ebullición de 39.8 1C (1041F) a 760 mm Hg, una gravedad específica de 1.3, una densidad de vapor de 2.9 y una presión de vapor de 350 mm Hg a 201C (681F). La concentración de CM en aire saturado a 251C alcanza 550,000 partes por millón.

El CM tiene baja solubilidad en agua (1.3 gm por 100 gm de agua a 201C), una extensa solubilidad en aceite y grasa y bajo potencial de inflamabilidad. Es usado como supresor de llama en mezclas solventes (límite explosivo inferior de 12% y límite explosivo superior de 19%). Es un líquido volátil incoloro con un olor parecido al cloroformo y el umbral de olor varía entre 100 y 300 ppm. El contacto con oxidantes fuertes, cáusticos y polvo de metal activo puede causar explosiones e incendios. Los productos de descomposición durante la combustión o incendio incluyen fosgeno, cloruro de hidrógeno y monóxido de carbono.

V. Efectos a la salud

A. Introducción

La toxicología del CM está resumida a continuación. Una revisión más detallada de la toxicología del CM puede hallarse en el NPRM [56 FR 57036].

B. Absorción y disposición de Cloruro de Metileno

La inhalación es la ruta de entrada más significativa para el CM en escenarios ocupacionales. La cantidad de CM tomada al cuerpo depende de la concentración de CM en el aire inspirado, el índice de respiración, la duración de la exposición a CM y la solubilidad del CM en sangre y tejidos. Debido a que el CM es volátil, la exposición por inhalación de CM puede ser muy alta, especialmente en los espacios pobremente ventilados.

La absorción dérmica del CM es un proceso lento relativo a la inhalación. En la NPRM, OSHA describió el índice de absorción por la piel del CM como significativo en relación a la inhalación. En contraste, el Sr. Harvey Clewell, en comentarios preparados para la U.S. Navy [Ex. 19-59], declaró que la exposición ocupacional pudiera ocurrir a través de la ruta dérmica cuando el empleado está expuesto a altas concentraciones de vapor de CM y no se usa ropa protectora [Ex. 19-59]. El Sr. Clewell proveyó un modelo farmacocinético fisiológicamente basado para describir la absorción potencial a través de la piel expuesta a altas concentraciones de vapor de CM. Donde el empleado esté protegido de la exposición de inhalación mediante el uso de un respirador de aire suplido y la piel (área de superficie expuesta = dos manos), está desprotegida en altas concentraciones de vapor de CM, la ruta principal de exposición en este caso será la exposición dérmica. El Sr. Clewell ha determinado que puede absorberse suficiente CM durante un turno de ocho horas mediante la ruta dérmica para dar una concentración interna que excedería a la experimentada por los trabajadores expuestos a CM a través de inhalación de 25 ppm por ocho horas.

En la NPRM, OSHA también indicó que la sensación de quemazón asociada con la exposición dérmica al CM líquido con probabilidad llevaría a los patronos y a los empleados a limitar la absorción por la piel. Sin embargo, la exposición a altas concentraciones de vapor puede no estar asociada con una sensación de quemazón y hay evidencia en el expediente [Tr. 2468-70, 10/15/92] que sugiere que los empleados están expuestos a CM líquido sin ropa protectora. OSHA cree que la

exposición dérmica a líquido y a altas concentraciones de vapor de CM deben estar limitadas a la extensión factible para proteger a los empleados de sobreexposición. Por esta razón, en la norma OSHA ha requerido que los patronos provean ropa de protección y equipo de protección personal apropiado al riesgo. Por ejemplo, si un empleado va a estar en riesgo de contacto de las manos con CM líquido, debe proveerse guantes impermeables.

C. Metabolismo de CM

Una vez el CM es absorbido al cuerpo, es altamente distribuido a los fluidos del cuerpo y en varios tejidos. La toma y eliminación de CM ha sido bien descrita en estudios de animales y humanos [Ex. 7-156, 7-157, 7-174].

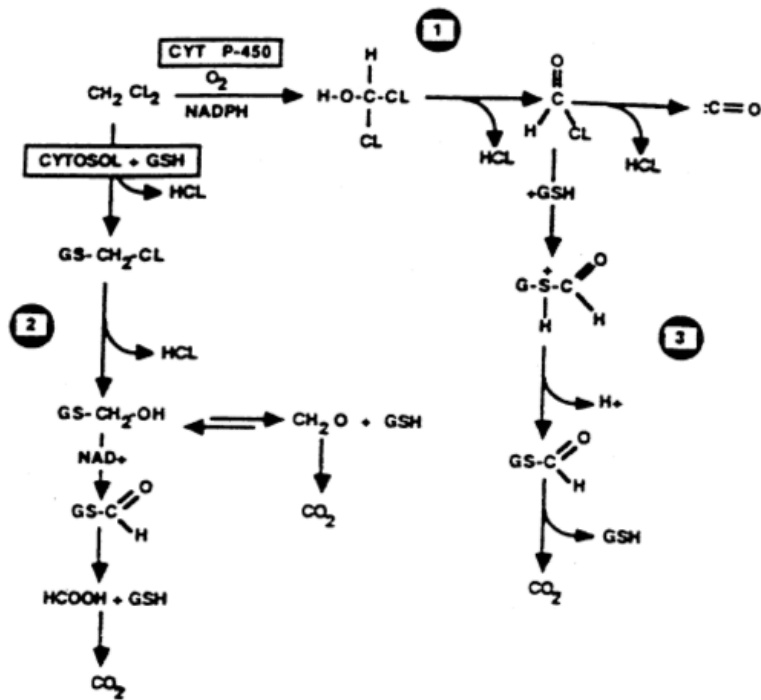


Figura V-1. Pasajes metabólicos propuestos para el metabolismo de cloruro de metileno (Adaptado de Andersen et al. (1987)) [Ex. 7-125]

BILLING CODE 4510-26-C

El mecanismo carcinogénico de la acción del CM no ha sido claramente establecido. Aunque no se ha probado si el CM es carcinogénico a través de un mecanismo genotóxico o no genotóxico, la evidencia actual apoya la hipótesis de que el CM es un carcinógeno genotóxico. Los carcinógenos genotóxicos son característicamente compuestos reactivos o se metabolizan en compuestos reactivos. El CM no es reactivo en el cuerpo hasta que es metabolizado. Por lo tanto, muchos investigadores creen que uno o más de los metabolitos de CM y no el CM mismo, es el carcinógeno último.

Kubic and Anders [Ex. 7-167] y Ahmed and Anders [Ex. 7-25], han establecido que el CM es metabolizado por las enzimas de rata *in vitro* por dos vías distintas. El primer pasaje es el sistema de función oxidasa mixta (pasaje MFO), asociada con la fracción de célula microsomal y la segunda es el pasaje dependiente de glutatone localizado principalmente en el citoplasma y mediado por glutatone-S-transferasa (pasaje GST). El metabolismo de CM está ilustrado en la Figura 1.

BILLING CODE 4510-2

El pasaje MFO metaboliza CM via una deshalogenización oxidadora dependiente de un citocroma - P450 [Ex. 7-167] que produce cloruro de formilo. El cloruro de formilo se descompone para resultar en ión de cloruro y monóxido de carbono. Se ha postulado que si el paso de MFO contribuye a la carcinogenicidad del CM, es a través la producción de un compuesto reactivo, cloruro de formilo. El producto final del pasaje MFO, monóxido de carbono, puede ser detectado en la sangre y aliento de los humanos y animales expuestos a CM, y ha sido usado como una medida sustituta de la exposición a CM en humanos.

El pasaje de GST (Gastrointestinal) metaboliza CM a formaldehído y iones de cloruro via un conjugado postulado de S-clorometilglutatone [Ex. 7-25]. El formaldehído es metabolizado adicionalmente a bióxido de carbono en el sistema mamífero. Los metabolitos potenciales reactivos en este pasaje son el conjugado clorometilglutatone y formaldehído (que se sabe que reacciona con proteína, RNA y DNA).

Los datos animales indican que el pasaje MFO es saturado a condiciones ambientales menores de 500 ppm, mientras que el pasaje GST permanece lineal a través de los niveles de exposición examinados [Exs. 7-161, 7-171]. La saturación del pasaje MFO en humanos ha sido estimado que ocurra a un nivel que está dentro del alcance de los datos sobre animales (los estimados alcanzan de 200 a 1,000 ppm CM) [Exs. 7-114, 7-115, 8-32]. El pasaje GST no se piensa que esté saturado para ninguna de las especies investigadas a dosis hasta de 4000 ppm.

D. Carcinogenicidad

La evidencia para la carcinogenicidad del CM ha sido derivada de los estudios de mutagenicidad, bioensayos en animales y estudios epidemiológicos en animales. OSHA ha analizado los datos de

cada una de estas fuentes al determinar que el CM es carcinogénico a los animales de prueba y un carcinógeno ocupacional potencial. La evidencia que OSHA evaluó al hacer esta determinación está resumida a continuación. La evidencia adicional pertinente a la identificación de riesgos del CM está discutida en el Avalúo de Riesgo Cuantitativo, Sección VI, a continuación.

1. Estudios de mutagenicidad

Los estudios de mutagenicidad y genotoxicidad son útiles al describir el posible mecanismo de acción de carcinogenicidad del CM o los metabolitos del CM con DNA (produciendo mutaciones o toxicidad), es consistente con un mecanismo genotóxico para la acción carcinogénica del CM, en vez de una acción no genotóxica (i.e., actuando como un promotor, aumentando el cambio de células).

EPA revisó la literatura sobre el potencial mutagénico del CM en su "Health Assessment Document for Dichloromethane (Methylene Chloride)" por ECETOC en el "Technical Analysis of New Methods and Data Regarding Dichloromethane Hazard Assessments" [Ex. 7-129].

Según descrito en el CM Notice of Proposed Rulemaking (56 FR 57036), la documentación de respuestas positivas en la producción de mutaciones en bacterias, levaduras y mutaciones cromosomales en *Drosophila* en células CHO e intercambio de cromátidas hermanas (SCE) en células CHO y V79 y respuestas equívocas en otros sistemas indicaron el potencial de genotoxicidad del CM.

Un estudio sometido al expediente por el Dr. Trevor Green [Ex. L-107], para la Halogenated Solvents Industry Alliance (HSIA), investigaron el rol de los metabolitos del pasaje de GST en la mutagenicidad bacterial de CM. Los autores de este estudio hallaron que en cepas con deficiencia de glutatión de *Salmonella typhimurium* hubo aproximadamente una disminución doble en mutaciones. Los índices de mutación volvieron a lo normal cuando la bacteria fue suplementada con glutatión exógena. También investigaron si los metabolitos individuales en el pasaje de GST tenían probabilidad de ser responsables de la mutagénesis. Los experimentos en las cepas de *S. typhimurium* fueron consistentes con el conjugado de S-clorometilglutatión como parte mutagénica. Los experimentos en cepas de *Escherichia coli* implicaron al formaldehído como mutágeno activo. En general, estos resultados apoyan la hipótesis de que el CM puede actuar como un carcinógeno genotóxico, pero la última especie reactiva aún no ha sido identificada.

Dilton et al. [Ex. 21-89] también condujo experimentos sobre el mecanismo de mutagenicidad del CM en células bacteriales, usando *Salmonella typhimurium* del tipo salvaje y deficiente en glutatión TA100. Se observó aumentos en mutagenicidad relacionadas a dosis con y sin activación (citósólica o microsomal). Los autores caracterizaron la mutagenicidad como marginalmente más alta en presencia de citosol en las concentraciones más altas de CM. La cepa con deficiencia de glutatión era ligeramente menos responsiva a la mutación inducida por CM que el tipo salvaje. En contraste al estudio de Green, Dilton et al. hallaron que la mutagenicidad del CM no era aumentada

apreciablemente por la adición de fracciones microsomales o citosólicas de hígado o glutatión exógena. Ellos concluyeron que no estaba claro a la extensión a la cual, si alguna, la glutatión estaba envuelta en la mutagenicidad del CM y señaló que " * * * la glutatión residual presente en la cepa con deficiencia de glutatión pudiera haber sido suficiente para facilitar las respuestas mutagénicas observadas."

Los resultados diferentes en estos estudios sugieren que el mecanismo exacto en estos estudios sugieren que el mecanismo exacto de la mutagenicidad del CM, aún en células bacteriales, no ha sido determinada con certidumbre. Sin embargo, OSHA ha concluido que la evidencia de que el CM es genotóxico es compelling. Estudios adicionales en apoyo a la clasificación del CM como una genotoxina fueron sometidos a la Agencia a finales de 1995 y están discutidos en el Avalúo de riesgo cuantitativo, Sección VI, a continuación.

2. Estudios con animales

La evidencia de la carcinogenicidad del CM ha sido derivada principalmente de los datos obtenidos en los estudios de toxicidad crónica en roedores. La Tabla V-1 contiene un resumen del bioensayo principal. Estos bioensayos han sido conducidos en tres especies de roedores (ratas, ratones y cricetos), usando dos rutas de administración (oral e inhalación) y un amplio alcance de dosis (de 5 mg/kg/d, oral a 4000 inhalado por 6 hr/5d/semana).

El National Toxicology Program condujo bioensayos de inhalación de dos años [Ex. 7-8] usando ratones B6C3F1 y ratas Fisher 344. En el estudio de ratón de NTP [Ex. 7-8], grupos de 50 ratones machos y 50 hembras B6C3F1 fueron expuestos a 0, 2000 o 4000 ppm de CM, 6 hr/ 5 d/ semana por 102 semanas. Todos los animales fueron necropsiados e histológicamente examinados.

Los ratones hembras y machos tratados tenían incidencias de adenomas alveolares o bronquiolares aumentadas o adenomas y carcinomas bronquiolares, según comparado con los animales de control. Además, hubo un aumento en el número de tumores pulmonares por animal con tumores (multiplicidad de tumores), con el aumento en dosis de CM.

En el hígado, los efectos tóxicos del CM fueron expresados como degeneración citológica en ratones hembras y machos, que no estaba presente en los controles. Un aumento en la incidencia de adenomas hepatocelulares y carcinomas (combinados), fue observado en los ratones machos. La incidencia de carcinomas hepatocelulares en los ratones machos fue estadísticamente significativamente aumentado a 4000 ppm. Los ratones hembras también experimentaron aumentos relacionados a dosis en la incidencia de adenomas y carcinomas hepatocelulares. Una multiplicidad aumentada en tumores del hígado también se halló en los ratones machos y hembras.

Tabla V-1.-Bioestudios vitalicios de cloruro de metileno

Referencia	Especie/cepa	Ruta y agenda de dosis	Dosis (Num. de animales)	Comentarios
NTP (1985).....	ratón B6C3F ₁	Inhalación 6 hr/día, 5 días/semana	0, 2000, 4000 ppm (50 ratones/sexo/dosis).	Tumores pulmonares y hepáticos, ambos sexos, ambas dosis.
Serota (NCA) (1986)....	ratón B6C3F ₁	Diariamente en agua.....	0 (125M, 100 F) 60 (200M, 100F), 125 (100M, 50F), 185 (100M, 50 F) y 250 (125M, 50 F) mg/kg/d.	No se observó tumores.
NTP (1985).....	rata Fisher 344.....	Inhalación 6 hr/día, 5 días/semana.	0, 1000, 2000 y 4000 ppm (50 ratas/sexo/dosis).	Fibromas mamarios e intergumentarios y fibrosarcomas en ambos sexos.
Burek (DOW) (1980)....	rata Sprague-Dawley	Inhalación 6 hr/día, 5 días/semana.	0, 500, 1500 3,500 ppm (95 ratas/sexo/dosis).	Tumores malignos de las glándulas salivares a 3,500 ppm, aumento relacionado con dosis en tumores mamarios.
Nitschke (DOW) (1982)	rata Sprague-Dawley.	Inhalación 6 hr/día, 5 días/semana.	0, 50, 200 y 500 ppm (70 ratas/sexo/dosis).	No se observó tumores.
Serota (NCA) (1986)	rata Fisher 344.....	Diariamente en agua.....	0, 5, 50, 125 y 250 mg/kg/d (135/sexo/ a 0, 85 /sexo/dosis).	No se observó tumores.
Burek (DOW) (1980)	criceto sirio dorado...	Inhalación 6 hr/día, 5 días/semana.....	0, 500, 1500, 3500 ppm (90 cricetos/sexo/dosis).	No se observó tumores.

El aumento relacionado con dosis en la incidencia de tumores pulmonares y hepáticos en ratones y la multiplicidad aumentada de estos tumores presenta la más fuerte evidencia de la carcinogenicidad del CM. NTP concluyó que, basado sobre la evidencia de estos tumores pulmonares y hepáticos, hubo clara evidencia de la carcinogenicidad del CM en ratones machos y hembras.

En un segundo bioensayo de dos años, NTP examinó los efectos de la inhalación de CM a 0, 1000, 2000 y 4000 ppm en ratas F344 [Ex. 7-8]. Los pesos del cuerpo de todos los grupos expuestos fueron comparables. Las ratas hembras de más alta dosis experimentaron supervivencia reducida después de 100 semanas de exposición.

La incidencia de tumores mamarios en el grupo de alta dosis en ambos sexos fue estadísticamente significativamente más alta que en los animales de control (concurrente e históricamente). La incidencia de fibroadenomas mamarios solamente y la incidencia combinada de fibroadenomas y adenomas en las ratas machos y hembras ocurrió con tendencias positivas estadísticamente significativas. Cuando los fibromas o sarcomas subcutáneos en la rata macho, que se creyó que se hubieran originado en la cadena mamaria, fueron incluidos en las comparaciones, la diferencia entre los controles y los animales expuestos fueron aún mayores.

Las ratas machos y hembras expuestas a CM también mostraron incidencia aumentada de efectos hepáticos, caracterizados por hemosiderosis, hepatocitomegalia, vacuolización y necrosis citoplásmica. Los nódulos neoplásicos solamente y la incidencia combinada nódulos neoplásicos y carcinomas hepatocelulares en las ratas hembras ocurrió con tendencias positivas significativas por la prueba de tabla de vida. Las comparaciones pareadas no indicaron efectos estadísticamente significativos en ninguna de las dosis. Aunque esto es sugestivo de una respuesta carcinogénica en el hígado de las ratas hembras, NTP no usó esta respuesta en su determinación de la carcinogenicidad del CM.

NTP basó su determinación sobre la carcinogenicidad del CM en la rata sobre los datos de incidencia de tumor mamario, NTP ha concluido que las incidencias aumentadas de tumores de glándulas mamarias de las ratas hembras proveyó clara evidencia de carcinogenicidad y, en las ratas machos, alguna evidencia de carcinogenicidad.

La Dow Chemical Company [Ex.7-151] condujo experimentos en los cuales ratas Sprague-Dawley y cricetos dorados sirios fueron expuestos a 0, 50, 1500 o 3500 ppm de CM, 6 hr/d, 5d/semana por dos años. Se observó un aumento estadísticamente significativo relacionado a dosis en el número de tumores mamarios por ratas hembras con tumores. Estos resultados apoyan los hallazgos de NTP de tumores mamarios aumentados en las ratas 344. La respuesta de tumor mamario de trasfondo en la rata Sprague-Dawley es más alta que en las ratas 344, así que el análisis de riesgo cuantitativo es más fácil de realizar sobre los datos del estudio de NTP.

Un aumento estadísticamente significativo en tumores de glándulas salivares también fue observado en este estudio, aunque los autores creyeron que esta respuesta debería descontarse debido a la

presencia de un virus de sialodacrioadenitis en las ratas. OSHA cree que la presencia de este virus en las ratas complicaría la interpretación de los datos y así se ha basado sobre los estudios de NTP para sus avalúos de riesgo cuantitativo.

No se observó exceso significativo en la incidencia de tumores en ninguno de los sexos de los cricetos a cualquier nivel de exposición. Esto sugiere que los cricetos son menos sensibles a los efectos carcinogénicos del CM que las ratas o los ratones. Los datos sobre metabolismo recopilados sobre los cricetos indican que los cricetos tienen menos capacidad para metabolizar CM por el pasaje GST que las ratas o cricetos (o humanos). Esta correlación entre la falta de capacidad de metabolismo GST y la falta de respuesta de tumor también indica que no sería protector usar la respuesta de los cricetos al CM como al base para un avalúo de riesgo carcinogénico.

Un segundo estudio de inhalación en ratas Sprague-Dawley conducido por investigadores en Dow Chemical [Ex. 7-173], con exposiciones hasta 500 ppm, mostraron un aumento en el número de tumores mamarios por animal con tumores en las ratas hembras solamente en el nivel de alta dosis. Este estudio extendió el hallazgo de exceso de tumores mamarios en ratas al nivel de 500 ppm. Sin embargo, debido a los altos índices de trasfondo de tumores mamarios en las ratas Sprague-Dawley, el estudio de NTP mostró una clara relación de dosis-respuesta entre la exposición a CM y la incidencia de tumores mamarios.

En un estudio conducido para la National Coffee Association [Ex. 7-180], no se observó incidencia estadísticamente significativa alguna en los ratones B6C3F1 o las ratas F344 expuestas a hasta 250 mg/kg/d CM en el agua de beber. Estos estudios usaron la ruta de exposición del agua de beber en lugar de la inhalación y los animales expuestos a dosis más bajas (sobre las bases de mg/kg/d) de los estudios de NTP y Dow. Estos factores con mayor probabilidad justificaron la falta de una respuesta de tumor positiva. Los estudios de NCA fueron usados por Reitz et al. en el desarrollo de los modelos farmacocinéticos fisiológicamente basados para CM. Específicamente, estos estudios ayudaron a determinar que la falta de desarrollo de tumor era consistente con las predicciones del modelo de la cantidad de metabolitos GST en los pulmones e hígado de los ratones y que el pasaje MFO era probablemente el menor responsable primario de la respuesta de tumores en ratones.

La Agencia cree que los estudios de NTP muestran la más clara evidencia de un efecto carcinogénico del CM y ha usado estos estudios como la base de su avalúo de riesgo por las siguientes razones: (1) Estos estudios fueron bien conducidos y fueron sometidos a extensas revisiones de pares. (2) Se usó la ruta exposición por inhalación, la cual es la ruta más apropiada para la extrapolación a las exposiciones ocupacionales. (3) En cuánto a la relación de dosis se observó aumentos estadísticamente significativos en la incidencia de tumores en ambos sexos en ratones y en ratas hembras. OSHA cree que debido a la clara respuesta de tumor y la calidad de

los estudios, los estudios de NTP proveen los mejores datos para avalúo de riesgo cuantitativo de

cáncer. OSHA concluye de estos estudios que el CM causa cáncer en las dos especies de pruebas de animales mediante la ruta de inhalación y que se ha demostrado una clara relación de dosis-respuesta.

3. Estudios epidemiológicos

Los estudios epidemiológicos de la exposición ocupacional a CM ha sido conducida en la manufactura de fibras de triacetato, producción de película fotográfica y la manufactura de pintura y barníz. Esos estudios fueron revisados por OSHA en el preámbulo a la regla propuesta [56 FR 57075] y están resumidos y actualizados en este documento. Además, un estudio de exposición a CM y cáncer cerebral astrocítico esta revisado en este texto.

a. Estudios de trabajadores de producción fibra de triacetato. Ott et al. [Ex. 7-76] llevó a cabo un estudio retrospectivo de cohorte usando una planta de diacetato y triacetato de celulosa en Rock Hill, Carolina del Sur para examinar los efectos que posiblemente fueran mediados a través del metabolismo del CM a carboxihemoglobina. Los empleados en esta planta tenían exposición a CM cerca del límite permisible de exposición de promedio de tiempo ponderado de OSHA (TWA) de 500 ppm. Ott et al. utilizó empleados de la planta de Narrow, Virginia para comparar la población con los de la planta de Rock Hill debido a que tienen operaciones similares pero no utilizan CM. comparó el número de muertes dentro de la cohorte expuesta con la población de EEUU y el grupo de referencia de Narrows, Virginia. Ott et al. observaron que la mortalidad general de la cohorte fue comparable a la de la población de EEUU pareada por edad, sexo y raza. Comparando las cohortes expuesta y de referencia, las diferencias estadísticas en riesgo fueron observadas en hombre blancos para "todas las causas" (razón de riesgo=2.2, $p<0.01$), "enfermedades del sistema circulatorio" (razón de riesgo= 2.2 $p<0.5$) y "enfermedad cardíaca isquémica" (razón de riesgo = 3.1, $p<0.05$).

Al interpretar los resultados de este estudio, Ott señaló que pudiera haber habido diferencias en las prácticas de reclutamiento que contribuyeran a las diferencias observadas en la mortalidad. En su conclusión, Ott et al. declaró que un efecto de trabajador saludable (HWE), y el bajo poder de su estudio no les permitió desechar la posibilidad de riesgos a la salud aumentados dentro de la población trabajadora expuesta a CM.

El Dr. Mirer de UAW testificó [Tr. 1896-6, 9/24/92] que hay alguna evidencia de que hay exceso de riesgo de mortalidad cardíaca relacionada con el trabajo en los estudios epidemiológicos que han observado SMRs mayores de 80% para enfermedad cardíaca isquémica o cualquier otra enfermedad cardiovascular. Más aún, donde se mire a los estudios epidemiológicos en conjunto, hay evidencia, aunque limitada, de que la exposición a CM tiene un efecto sobre la mortalidad cardiovascular.

De la otra mano, Kodak [Ex. 91D] cuestionó la adecuacidad de la población referente en el estudio de Rock Hill, alegando que el SMR para enfermedad cardíaca isquémica en la población referente

era inusualmente bajo y que este hecho, en lugar del efecto de la exposición a CM, causaron las diferencias observadas en los índices de enfermedad cardíaca isquémica.

En contraste, NIOSH consideró el estudio de Rock Hill como sugestivo del efecto de CM sobre el riesgo de enfermedad cardíaca. De acuerdo con NIOSH [Tr. 879, 9/21/92] el estudio de Ott no usó las técnicas analíticas apropiadas que hubieran permitido que los efectos agudos del CM sobre el riesgo de enfermedad cardíaca fuera examinado. Más aún, NIOSH sugirió [Tr. 969, 9/21/92] que los estudios epidemiológicos futuros deben examinar los riesgos de la exposición a CM durante el período cuando los trabajadores están trabajando activamente.

En una actualización del estudio de Rock Hill, Lanes et al. siguió la cohorte de Ott et al. hasta septiembre de 1986 [Ex. 7-260] diciembre de 1990 [Ex. 106]. Lanes et al usaron la población de York County, Carolina del Sur, como grupo de comparación. Se observó un exceso de mortalidad estadísticamente significativo para cáncer del hígado y los conductos biliares (SMR=7.75, CI:1.,82-13.78) en el grupo de estudio. También se observó exceso de mortalidad para cáncer de la cavidad bucal y de la farínge (SMR=2.31, 95% CI:0.39-7.60) y melanoma (SMR=2.28, CI:0.38-7.51), aunque la mortalidad de estas causas no alcanzaba significado estadístico. No se observó exceso de mortalidad para enfermedad cardíaca isquémica (SMR=0.90, CI:0.62-1.27).

El examen de los cánceres hepáticos y biliares indicó que los trabajadores tenían diez o más años de empleo y al menos 20 años desde el primer empleo (4 observados v. 0.35 esperados). Tres de los cuatro empleados que murieron de cáncer hepático/biliar tenían sitios de tumores en el conducto interhepático y biliar, conducto biliar común y ampolla de Vater. Las duraciones aproximadas del empleo de estos tres casos fue 28 años, 20 años y menos de un año. No pudo obtenerse expediente médico para el tercer caso. Sin embargo, un informe de autopsia indicó adenocarcinoma del hígado para este caso. Para estimar el número esperado de muertes de cáncer biliar, Lanes et al, usó los índices de mortalidad de Vigilancia, Epidemiología y Finales (SEER), de los EEUU continentales. El estimado de riesgo computado, basado sobre 0.15 casos, esperados, fue SMR=20 (95% CI: 5.2-56.0).

Los autores hipotetizaron que los casos de cáncer del conducto biliar pudiera deberse a factores tales como el uso de contraceptivos orales, cálculos biliares, o colitis ulcerativa. Sin embargo, pareció que los expedientes médicos no mostraron indicios de cálculos biliares ni colitis ulcerativa en pacientes que murieron de cáncer. Más aún, aunque estos factores no estuvieron específicamente controlados, no hay razón para creer que los índices de estos factores fueran diferentes en la cohorte expuesta comparada con la población general de EEUU.

Lanes et al. actualizó su estudio hasta el 31 de diciembre de 1990 [Ex. 106] usando el National Death Index y enfocando sobre la mortalidad debida al cáncer pancreático, cáncer biliar y hepático y

enfermedad cardíaca isquémica. Lanes et al. verificó 50 certificados de muerte más desde el final del último período de seguimiento el 1ero de septiembre de 1986. Como antes, se usó a York County, Carolina del Sur, como la población de comparación.

El SMR general de todas las causas de muerte fue 0.90 y para neoplasmas malignos, el SMR fue 0.82. En este seguimiento, el SMR para cáncer biliar y hepático bajo de 5.75 a 2.98 (95% CI:0.81-7.63). No se observó muerte alguna adicional para cáncer biliar o hepático. En los estudios original y actualizado combinados, se observó cuatro muertes y 0.64 estaban esperadas. Usando una distribución Poisson, Lanes et al. calculó la probabilidad de omitir la observación de alguna muerte por cáncer hepático/biliar en esta actualización si el "verdadero" valor del SMR para cáncer hepático/biliar fuera 5.75 (del estudio previo) y luego esperando 3.68 muertes en este seguimiento (0.64×5.75). Ellos estimaron la probabilidad de que este estimado no tendría muertes por cáncer hepático/biliar si el verdadero SMR fuera 5.75, como $e^{-3.68}=0.025$. De la otra mano, si el CM no tuvo efecto sobre la mortalidad de cáncer hepático y biliar, Lanes et al. estimaron que la probabilidad de observar cero muertes hubiera sido 0.527 ($e^{-0.64}$). Lanes et al. usó la razón de probabilidad de ($0.527/0.025=21.08$), para comparar estas dos hipótesis. Los autores concluyeron que la hipótesis nula de que el SMR=1.0 era 21 veces más probable que la hipótesis de el SMR=5.75.

Debido al pequeño número de casos envueltos y a la inestabilidad de los números generados en este tipo de análisis estadístico, OSHA cree que este estudio, en general, es sugestivo (pero no definitivo), de una asociación entre la exposición ocupacional a CM y la elevación del riesgo de cáncer en humanos. Más aún, la Agencia ha determinado que los resultados del estudio no son inconsistentes con los resultados del bioensayo de cáncer del NTP.

Hoechst-Celanese [Ex. 19-65, pp. 6-8; Ex. 19-19], mostró preocupación de que OSHA considerara la incidencia de cáncer biliar como evidencia de un efecto positivo. Ellos arguyeron que el exceso de cáncer en el tracto biliar informado no apoyaba la conclusión de que la exposición a CM esté asociada con un riesgo aumentado de cáncer. Específicamente, señalaron que:

(1) Los cánceres biliares no han sido informados en ninguno de los estudios de cáncer en animales del CM; (2) no se vió aumento alguno estadísticamente significativo en cánceres biliares en el estudio Cumberland (descrito a continuación); (3) no se informó exceso de cáncer biliar estadísticamente significativo en los estudios de Kodak (descritos a continuación); (4) Es improbable que el CM pudiera ser el responsable del cáncer en el tracto biliar observado en un empleado que había estado expuesto a CM por menos de un año; y (5) el estudio de Rock Hill no controló para la exposición a otros químicos.

Los comentarios por la Halogenated Solvents Industry Alliance (HSIA) [Ex. 19-45, p. 47] estuvieron de acuerdo con los de Hoechst-Celanese.

El Dr. Shy, de parte de Kodak, aseveró [Tr. 1303, 9/22/92; Ex. 91F] que la exposición a CM no cumplió con los criterios de Bradford Hill para accidente (e.g., posibilidad biológica, dosis-respuesta

y consistencia) para producir cáncer del tracto biliar. El Dr. Shy reconoció que los bioensayos con animales han demostrado tumores hepáticos debidos a exposición a CM, pero señaló que no hay evidencia en humanos de que los cánceres del hígado y del tracto biliar tengan la misma etiología. Mas aún, el Dr. Shy argumentó que: (1) los resultados del estudio Lanes no está apoyado por estudios *in vitro* o farmacocinéticos, (2) no pudo determinarse una relación de dosis-respuesta del estudio Lanes porque no hubo mediciones directas de la exposición de los trabajadores a CM, (3) la asociación observada entre la exposición a CM y el cáncer hepático/biliar fue un hecho aislado y no podía concluirse la existencia de una relación causal. (4) el exceso de cáncer del tracto biliar en el estudio Lanes no fue consistente con los otros tres estudios epidemiológicos (Hearne, 1987, 1990, 1992; Hearne, 1992; Gibbs, 1992).

El Dr. Shy no reconoció que hubiera una fuerte asociación entre la exposición a CM y el cáncer del tracto biliar en el estudio Lanes (SMR=20). Mas aún, el intervalo de tiempo de 20 años entre la primera exposición y la muerte debida a cáncer del tracto biliar proveía evidencia de que "la exposición precede al cáncer con un intervalo apropiado para la inducción del tumor [Ex. 91F]."

OSHA está en desacuerdo con las conclusiones alcanzadas por el Dr. Shy. La Agencia cree que los riesgos de cáncer biliar observados en estos estudios es consistente con los riesgos derivados de su análisis farmacocinético (véase el Avalúo de riesgo cuantitativo, Sección VI). Ya que las exposiciones ocupacionales en estos estudios es probable que estén entre las más altas en cualquiera de las cohortes epidemiológicas, no hay evidencia de que el resultado aumentado de cáncer biliar/hepático sea inconsistente con otros hallazgos epidemiológicos informados. En relación a la posibilidad biológica, la Agencia señala que las células biliares humanas parecen contener altas concentraciones de la mRNA para GST (la enzima que muchos investigadores piensan que sea responsable de la carcinogénesis inducida por CM) [Exs. 124 y 124A]. Aunque esto requiere más investigación para deternimar si hay una relación directa, OSHA cree que hay un argumento mecanístico verosímil para la causalidad del CM en cánceres del tracto biliar humano. La Agencia está de acuerdo con el Sr. Shy, sin embargo, en que la falta de datos de dosis-respuesta y el pequeño número de casos en esta cohorte limitan la fuerza de las conclusiones que puedan sacarse de este estudio. Después de sopesar estas conclusiones, la Agencia ha determinado que hay evidencia sugestiva de un rol causal para el CM en estos casos de cáncer biliar.

Gibbs et al. condujo un estudio de otra planta de fibras de acetato y triacetato de celulosa en Cumberland, Maryland [Ex. 54] para evaluar la posible relación entre la exposición a CM y el cáncer biliar/hepático. Esta planta, la cual cesó de operar en 1982 , tenía operaciones similares a la de la planta de Rock Hill, y se asumió que tuviera niveles de exposición a CM similares también. Sin embargo, las mediciones de exposición no fueron sometidas para la planta de Cumberland y no se conoce si los empleados experimentaron las mismas exposiciones que sus contrapartes de Rock Hill.

El estudio Gibbs investigó la mortalidad de 3,211 trabajadores que estaban empleados en esta planta en y después de enero de 1970. Hubo 2,187 hombres y 1,024 en la cohorte. La mayoría de los

trabajadores de la cohorte fueron reclutados antes de 1979 (2,566 total). La población de estudio estuvo dividida en tres subcohortes basado sobre su exposición estimada a CM: 1) 834 hombres y 146 mujeres en el grupo de "alta exposición" (estimada ser entre 350-700 ppm), 2) 1095 hombres y 832 mujeres en el grupo de "baja pero nunca alta exposición" (estimada ser 50-100 ppm) y 3) 256 hombres y 46 mujeres en el grupo de "no exposición". Esta cohorte fue seguida hasta diciembre de 1989. La mortalidad observada fue comparada a los índices de muerte para Allegany County, Maryland (donde estaba localizada la planta y donde ocurrió la mayoría de las muertes de la cohorte), el estado de Maryland y los EEUU.

El autor de este estudio creyó que los índices del condado eran los más apropiados a usarse debido a que la ciudad de Cumberland está localizada en un área rural de Maryland y los índices estatales pudieran haber estado influenciados por los índices de las grandes áreas urbanas tales como Baltimore. Además, los índices locales tienden a ajustar para factores económicos, étnicos y culturales que pudieran estar relacionados a riesgo de enfermedad, acceso al cuidado médico, etc. Sin embargo, si la planta de fibra era el mayor patrono en esta área rural, entonces los índices del condado pueden reflejar la mortalidad de la cohorte antes que el riesgo de trasfondo, en cuyo caso, los índices estatales o los índices de la población de EEUU serían más apropiados. El índice de mortalidad general para el grupo de más alta exposición a CM fue bajo los índices esperados para Allegany County, Maryland, y la población de EEUU.

Al igual que en el estudio de Rock Hill, la mortalidad debida a cáncer del tracto biliar fue observada en el estudio de Cumberland, aunque no se halló incidencia estadísticamente significativa de cáncer biliar (se observó dos casos de cáncer del tracto biliar). En el grupo de alta exposición, hubo una muerte (1.24 esperada con los índices Allegany (SMR=80.5) y 1.42 esperados con los índices de Maryland (SMR=70.4)). En el grupo de baja exposición también hubo una muerte debida a cáncer biliar/hepático. Para la subcohorte de alta exposición a CM, Gibbs et al. estimaron SMRs de 80.4, 70.3 y 75.1 cuando se hizo las comparaciones con los índices de Allegany County, Maryland y EEUU, respectivamente. Esta cohorte debe ser seguida por un período de tiempo más largo, para ayudar a aclarar la asociación sugerida de la exposición a CM y el cáncer biliar observado en la cohorte de Rock Hill.

También se observó exceso de mortalidad estadísticamente significativo de cáncer prostático, uterino y cervical, aunque estos también representaron pequeños números de casos: 13, 2 y 1, respectivamente.

El exceso de cáncer prostático en el estudio de Gibbs et al, sugirieron una relación de dosis-respuesta (3 muertes en el grupo de sin exposición a CM, 9 en el grupo de baja exposición a CM y 13 en el grupo de alta exposición a CM). De acuerdo con Gibbs et al. y Shy [Tr.1303, 9/22/92; Exs. 19-64, 91F], esta respuesta pudiera haber estado relacionada a otras exposiciones químicas (ocupacionales o no). En apoyo a esta hipótesis, ningún otro estudio epidemiológico o con animales de exposición a CM han sugerido una relación entre el cáncer prostático y el CM. Hoechst-Celanese [Ex. 19-65, pp. 10-12; Ex. 91D, p.12] advirtieron a OSHA a no sobreinterpretar el exceso de cáncer prostático

en el estudio Cumberland por las siguientes razones:

(1) de todos los estudios epidemiológicos, sólo el estudio Cumberland ha mostrado un exceso de cáncer prostático; (2) de los trece hombres de la subcohorte alta que murieron de cáncer prostático, doce trabajaban en el área de extrusión de la planta de Cumberland antes de que el cloruro de metileno fuera usado como solvente en la producción de triacetato de celulosa. Así, estos hombres pudieron haber tenido exposición más larga a otros químicos; (3) el estudio no controló para otros factores de riesgo personales; (4) Gibbs informó una incidencia aumentada de cáncer prostático en otras partes de la industria textil; y (5) el gran número de pruebas estadísticas pueden haber aumentado la probabilidad de hallar el índice de muerte de una causa específica ser elevado o deprimido.

OSHA cree que el riesgo aumentado de cáncer prostático debiera señalarse como un efecto positivo de la exposición a CM sobre el riesgo de cáncer, particularmente considerando la relación exposición-respuesta. Sin embargo, debido a los efectos potencialmente confusores y a la falta de hallazgos corroborantes en otros estudios, OSHA cree que esto es evidencia sugestiva antes que conclusiva de efecto de carcinogenicidad humana.

b. Estudios de los trabajadores de producción de película. En su estudio original de trabajadores de producción de película, Friedlander et al. [Ex. 4-27] condujo un estudio de mortalidad proporcionada y un estudio de mortalidad de cohorte para determinar si los trabajadores expuestos a CM experimentaron un aumento en riesgo para causas específicas de mortalidad. La cohorte en estos estudios consistió en trabajadores que trabajaron en cualquier departamento de producción de película que usaba CM como el solvente principal por aproximadamente 30 años. La cohorte fue seguida hasta 1976.

El análisis de mortalidad proporcionada para aquellos trabajadores siempre empleados en el área de estudio versus un grupo de comparación de trabajadores en otros departamentos de Kodak Park produjo una razón de mortalidad proporcionada (PMR) de 143.88 para cáncer del hígado (conductos primario intrahepático). Para enfermedad cardíaca isquémica, Friedlander et al. calcularon una PMR de 94.74. No se observó diferencias estadísticamente significativas a $p < 0.05$.

Para el estudio de mortalidad de cohorte, Friedlander et al. usaron índices del grupo de varones del grupo de edad por hora de 1964-70 expuestos a CM en el departamento de película y otros departamentos de Kodak Park para comparación interna. Los índices de mortalidad para el estado de Nueva York, excluyendo a la Ciudad de Nueva York, varones del grupo de edad fueron usados para comparaciones externas.

Se observó 45 muertes debidas a enfermedad circulatoria en la cohorte expuesta a CM versus 38.5 esperados el grupo de referencia de Kodak Park. También, seis muertes debidas a enfermedad respiratoria versus 3.2 esperados para el grupo de comparación de Kodak Park. No se observó muertes hepáticas en esta cohorte. Se observó 33 muertes debidas a enfermedad isquémica en esta

cohorte, comparado con 28.7 esperadas en la población de Kodak Park. Ninguna de estas diferencias en mortalidad observadas alcanzaron significado estadístico.

Hearne et al. condujeron varias actualizaciones del estudio de cohorte que envuelve exposición a CM y mortalidad entre los trabajadores de las áreas de producción de película en la planta de Kodak en Rochester, Nueva York [Exs. 7-122, 7-163, 49 A-1]. En la primera actualización, el estudio de cohorte fue seguido hasta 1983. Dos grupos referentes fueron utilizados en este estudio: la población general de los hombres del estado de Nueva York, excluyendo a la Ciudad de Nueva York y a los empleados de Kodak Park.

No se observó hallazgos estadísticos significativos de causa alguna de muerte. Sin embargo, Hearne et al. sí halló un número relativo de (8 observados) de muertes por cáncer pancreático comparado con el estado de Nueva York (3.2 esperadas) y poblaciones de Kodak (3.1 poblaciones). Esta observación no alcanzó significado estadístico en una relación dosis-respuesta no fue observada cuando Hearne et al. consideraron la latencia y la dosis.

Hearne et al. entonces actualizaron este estudio hasta 1988 [Ex. 7-163] y 1990 [Ex. 49 A-2]. En la actualización de 1988, se halló déficits no significativos en las razones observadas esperadas para cáncer del hígado y del pulmón. También, la mortalidad general de 1964 a 1988 era significativamente menos que en ambos grupos de referencia. Desde 1986, el número de muertes por cáncer pancreático permaneció el mismo. Como antes, el análisis de dosis-respuesta no mostró un patrón estadísticamente significativo cuando se consideró la latencia o la dosis.

La actualización de 1990 mostró que las muertes debidas a cáncer hepático, cáncer pulmonar y enfermedad cardíaca isquémica estuvieron bajo los números esperados en ambos grupos referentes, Tampoco se observó muertes por cáncer pancreático adicionales en esta segunda actualización. Desde el comienzo del seguimiento, Hearne et al. observaron 8 muertes debidas a cáncer pancreático comparado con 4.5 esperadas (SMR=1.78, p= 0.17).

Hearne et al. [Ex. 49 A-1] condujeron un segundo estudio de cohorte que envolvía a trabajadores en la preparación de triacetato de celulosa y la manufactura de base de película entre 1946 y 1970. Hearne et al. trataron la desviación potencial de selección en la cohorte de 1946-70 Kodak incluyendo sólo trabajadores expuestos principalmente a CM después de que fue introducido a esas áreas y de hacer el estudio más completo añadiendo a los trabajadores en el Departamento de Correctivo, que prepara la mezcla de triacetato de celulosa viscosa usada en el revestimiento de la base de película, y el Departamento de Destilación, que destila y mezcla los solventes recuperados de las operaciones de revestido.

Los 1,311 hombres en la cohorte fueron seguidos hasta 1990. No pudo formarse un grupo de control ocupacional debido a que los índices de muerte de los empleados de Kodak antes de 1964 no estaban disponibles. En vez, se usó a los residentes varones del estado de Nueva York fuera de los cinco condados de la Ciudad de Nueva York.

Hearne et al. combinaron la exposición por trabajo y período de tiempo con la información del historial ocupacional para producir un estimado de exposición de carrera para cada individuo en el análisis de dosis-respuesta. La exposición de carrera de individual media fue aproximadamente 40 ppm por 17 años y el intervalo promedio entre la primera exposición y el seguimiento fue 32 años.

La mortalidad total para esta cohorte fue 22% bajo la mortalidad esperada (estadísticamente significativo). Las enfermedades circulatorias y la mortalidad por enfermedad cardíaca isquémica también estuvieron estadísticamente significativamente bajo lo esperado. Para cáncer pulmonar hubo 22 muertes (28.7 esperadas) y para cáncer hepático/biliar hubo una muerte (1.5 esperada). Hearne et al, halló que el número muertes por cáncer pancreático observado (4) era similar al número esperado para enfermedades del colon/recto (13 observadas v. 10.8 esperadas), cerebro (5 v. 2.3), y para leucemia (7 v.3.4), pero no fueron estadísticamente significativo.

Hearne et al. concluyó que los hallazgos en la cohorte de 1964-70 fueron consistentes con la cohorte de 1946-70; mortalidad debida a todas las causas, cáncer (incluyendo malignidades hepáticas y pulmonares), y la enfermedad cardíaca isquémica fue más baja de lo esperado. También, ya que el número de muertes por cáncer pancreático observado en esta cohorte era similar al número esperado, Hearne et al. creyeron que esto proveía evidencia adicional de que los hallazgos anteriores de un exceso de cáncer pancreático en la cohorte de 1964-70 fue debido a cambios o factores distintos de la exposición a CM.

Kodak [Tr. 1287-88, 9/22/92] también investigó el riesgo de efectos adversos a la salud durante la exposición ocupacional activa a CM, según sugerido por NIOSH [Tr. 970, 9/21/92]. Usando personas año de empleo activo sólo en su análisis, Hearne observó 27 muertes (36 fueron esperadas en el grupo de referencia interna de Kodak) debidas a enfermedad cardíaca isquémica en la cohorte Kodak de 1964-70. En la cohorte de 1946-70, Kodak registró 33 muertes comparadas con 43 muertes esperadas en la población de comparación del estado de Nueva York.

NIOSH testificó [Tr. 877-83, 9/21/92] que el efecto del trabajador saludable (HWE), pudiera haber oscurecido algún exceso de mortalidad debida a enfermedad cardíaca isquémica causada por la exposición a CM. NIOSH ha establecido que el HWE pudiera ser particularmente fuerte para la enfermedad cardiovascular.

El HWE es probable que sea menos un factor cuando se usa grupos de comparación ocupacional. El uso de Kodak de los empleados de Kodak Park como grupo de comparación debe reducir la HWE en sus estudios. Sin embargo, hay dos problemas potenciales al usar grupos de comparación ocupacional en este caso:

(1) Los índices de cáncer son más estables en las poblaciones más grandes, de modo que la comparación con los índices estatales y nacionales puede ser más apropiado.

(2) Debido al volumen de CM usado en la planta Kodak, el grupo de comparación ocupacional puede estar expuesto a concentraciones ambientales aerosuspendio o en agua de CM que pudieran oscurecer el impacto de la exposición ocupacional a CM sobre la incidencia de cáncer.

c. Estudio de los trabajadores en la manufactura de pintura y barníz. La NPCA sometió al expediente un estudio epidemiológico de los empleados que trabajaron por al menos un año en la manufactura de pinturas o barnices. [Ex. 10-29B] La revisión de OSHA de este estudio fue publicado en la regla propuesta [56 FR 57077]. Aunque no se informó exceso de mortalidad estadísticamente significativo, OSHA señaló que hubo cuatro cánceres pancreáticos (1.93 esperados) y 15 cánceres de los órganos digestivos y peritoneo (10.66 esperados) entre los trabajadores expuestos a CM.

d. Cáncer cerebral astrocítico entre trabajadores en la producción y reparación de equipo electrónico. En su aviso de reapertura limitada del 11 de marzo de 1994, OSHA solicitó comentarios sobre un estudio de caso-control sometido a la Agencia por el National Cancer Institute (NCI) [Exs. 112 y 113].

Heineman et al. condujo un estudio de caso-control para examinar la asociación potencial entre el cáncer cerebral y la exposición a solventes orgánicos como un grupo y seis hidrocarburos alifáticos clorinados (CAHs), incluyendo CM. Los casos fueron definidos como varones blancos que murieron de tumores del cerebro u otros tumores del sistema nervioso central en el sur de Louisiana, el norte de Nueva Jersey y Philadelphia, Pennsylvania. Los controles fueron seleccionados al azar, seleccionados de certificados de defunción e incluyeron a varones blancos que murieron de causas distintas de tumores cerebrales, enfermedad cardiovascular, epilepsia, suicidio y homicidio. Los controles fueron pareados por frecuencia a los casos por edad, año de la muerte, y área geográfica.

Se empleó los códigos de la Standard Industrial Classification (SIC) de cuatro dígitos y la Standard Occupational Classification (SOC) de cuatro dígitos para codificar los historiales ocupacionales de los sujetos del estudio. Estos códigos ligan los historiales a matrices de exposición de trabajo que "caracterizaran la exposición probable a los seis CAHs y a solventes orgánicos" [Ex.112]. Gomez et al. [Ex. 112] usó un algoritmo para asignar estimados de probabilidad e intensidad de exposición a cada combinación de industria/ocupación en el historial de trabajo del sujeto. Según señalado por Gomez et al., estos estimados estuvieron basados sobre "ocupación solamente, industria solamente o ambas, ocupación e industria dependiendo de la especificidad del ambiente de exposición que pudiera inferirse del código ocupacional (SOC)."

Las siguientes medidas sustitutas de dosis, para cada substancia fueron usadas para resumir los historiales de exposición "probable" para cada sujeto de estudio: duración del empleo en combinaciones ocupacional/industrial consideradas expuestas, una razón de exposición acumulativa y la intensidad "promedio" de la exposición. Las razones de probabilidad fueron calculadas de

categorías de intensidad de exposición para evitar usar pesos. Estas categorías no incluyen la

duración de los trabajos en baja intensidad para sujetos con alta o mediana intensidad. En su análisis estadístico, Heineman et al. controló para edad, área geográfica y empleo en ocupaciones/industrias relacionadas con electrónica.

El cáncer cerebral astrocítico no se halló que esté asociado con "alguna" vez haber estado expuesto a solventes orgánicos como un grupo o a cualquiera de los seis CAHs examinados en este estudio. Sin embargo, como probabilidad de exposición a solventes orgánicos como un grupo, y CM en particular, aumentó el riesgo de cáncer cerebral (estadísticas chi-cuadradas para tendencia para solventes orgánicos y CM fueron 1.93 y 2.29 ($p < 0.05$), respectivamente). Para CM hubo un aumento de 2.4- veces en riesgos para los sujetos con alta probabilidad de exposición (intervalo de confianza=1.0-5.9).

El riesgo de cáncer cerebral aumenta significativamente con la duración de la exposición con los sujetos con altas probabilidades de exposición a CM (OR=6.1; CI=1.1-43.8). Heineman et al. hallaron que en la categoría de exposición de alta probabilidad aumentó significativamente con la duración (chi para tendencia=2.58, $p < 0.01$). Se vió resultados similares para solventes orgánicos y metyl cloroformo para todas las probabilidades combinadas (las estadísticas chi-cuadradas para tendencia fueron 2.35 ($p < 0.01$) y 1.87 ($p < 0.05$), respectivamente).

La exposición retardada por 10 años produjo hallazgos análogos a aquellos señalados anteriormente. Los riesgos más altos y un aumento más agudo con la duración fueron observados para solventes orgánicos cuando la exposición fue retardada por 20 años (todas las probabilidades: 2-20 años, OR=2.8 (1.1-3.7); p para tendencia = 0.006; alta probabilidad: 2-20 años, OR=1.2 (95% CI=0.7-1.9); 21 + años, OR=3.1 (1.3-7.4), $p=0.009$).

Sujetos con una alta probabilidad de exposición a CM experimentaron un riesgo significativamente aumentado como razón de exposición acumulativa (estadísticas chi-cuadradas para tendencia = 2.18, $p < 0.05$). Sin embargo, el riesgo no aumentó monótonicamente con la exposición acumulativa.

La retardación de la exposición 20 años apoyó las probabilidades de razón para solventes inorgánicos, particularmente en hombres con una alta probabilidad de exposición (baja razón acumulativa: OR=1.1 (95% CI=0.5-2.3); mediana: OR=1.4 (0.8-2.5); alta: OR=2.2 (1.0-4.5); p para tendencia=0.02). Pocos individuos tienen altas puntuaciones acumulativas cuando la exposición es retardada 20 años para los CAHs individuales.

Comparado con los trabajos con exposiciones de mediana o baja intensidad a solventes orgánicos y todos los seis CAHs, el riesgo de cáncer cerebral fue más alto para todos los sujetos que hicieron trabajos con exposiciones de alta intensidad. El cáncer cerebral estuvo asociado más fuertemente y aumentó con la probabilidad de exposición, entre los sujetos que trabajaron 20 o más años con exposición a CM de alta intensidad (toda probabilidad: OR=6.7, CI=1.3-47.4; alta probabilidad: OR=8.8, CI=1.0-200.0).

Ya que se determinó que muchos sujetos estuvieron expuestos a más de un CAH, a veces aún en el

mismo trabajo Heineman et al. usaron regresión logística para examinar, simultáneamente, los efectos del CM, tetracloruro de carbono, tetracloroetileno y tricloroetileno, controló para edad, área geográfica y empleo en ocupaciones/industrias relacionadas con electrónica. El CM fue la única substancia que mostró un aumento estadísticamente significativo en riesgo según aumentó la probabilidad de exposición (baja: OR=0.9, CI=0.5-1.6); mediana: OR=1.4 CI=0.6-3.1; alta: OR=2.4, CI=0.09-6.4; las estadísticas chi-cuadradas para tendencia=2.9-2.08 $p<0.05$). Los riesgos asociados con CM aumentaron cuando se hizo los ajustes para exposición a otros agentes. Además, los sujetos empleados por 20 años o más en trabajos con alto promedio de intensidad de exposición a CM mostraron un aumento de ocho veces el exceso de cáncer cerebral (OR=8.5, CI=1.3-55.5), tomando en consideración todas las probabilidades.

Entre los seis CAHs examinados en este estudio, Heiman et al. halló la más fuerte asociación entre cáncer cerebral y exposición a CM, para la cual los riesgos relativos se elevaron con la probabilidad, duración e intensidad promedio de la exposición, aunque no con el índice de exposición acumulativa.

De acuerdo con Heiman et al. la mayor debilidad de este estudio fue no tener información directa sobre la exposición a los solventes. Los datos de los próximos, la pobre especificidad de algunos historiales de trabajo para solventes específicos y la intercambiabilidad de los solventes puede haber resultado en la mala clasificación de los individuos con respecto a cualquiera de las mediciones de exposición usadas en este estudio. Sin embargo, Heineman et al. señaló que las fuentes potenciales de error probablemente no desviaban significativamente los estimados de riesgo del nulo o generan las tendencias observadas.

Otra limitación de este estudio, señalada por Heiman et al., fue que sobre una tercera parte de los próximos de los casos elegibles y los controles no fueron entrevistados. Conforme a Heineman et al., esto pudiera haber creado artificialmente la asociación vista en este estudio "sólo mediante la bajo representación de los casos que no fueron expuestos y/o controles que fueron expuestos a solventes en general y a CM en particular" [Ex. 113]. Heineman comentó además que una mala clasificación diferencial probablemente no era un problema en este estudio debido a que los historiales ocupacionales vinieron de los parientes próximos en los casos y controles.

A la luz de las limitaciones de este estudio, sin embargo, Heineman et al, comentó que la consistencia de las tendencias de exposición-respuesta para CM fue sorprendente y sugestiva. Más aún, Heineman et al. creyó que las tendencias y la consistencia de las asociaciones entre cáncer cerebral y CM no podría explicarse solamente por el azar.

Varios comentaristas [Exs. 115-1, 115-31, 115-32, 115-36] indicaron que Heineman et al. se basó demasiado sobre la información de los parientes. La información provista por los parientes concerniente a los trabajos tenidos, descripciones de trabajo, fechas de empleo y horas trabajadas por semana pudieran estar equivocadas por errores de memoria. Los parientes pudieron no ser capaces de recordar exactamente información relacionada con el trabajo, especialmente por trabajos temprano en la vida. Si los parientes para los casos o los controles tuvieran mejor memoria que el

otro grupo, pudiera ocurrir la mala clasificación diferencial. HSIA [Ex. 115-36] declaró que aún las pequeñas diferencias en índices de error entre casos y controles pudieran producir falsas asociaciones. HSIA y NIOSH [Ex. 115-31] estuvieron de acuerdo en que esta fuente indirecta de exposición tenía probabilidad de producir algún grado de mala clasificación. Sin embargo, NIOSH señaló que la mala clasificación "es un problema característico en los estudios de caso-control basado sobre población de este tipo [Ex. 115-31]" y que esta mala clasificación también pudiera explicar el hecho de que no se halló asociación entre el cáncer cerebral y la razón de exposición acumulativa.

Organization Resources Counselors (ORC) [Ex. 115-2] y Abbot Laboratories [Ex. 115-30] mostraron preocupación porque la falta de verificación de exposición hiciera que este estudio de NCI no fuera confiable para establecer límites de exposición a CM. ORC declaró que los valores de exposición fueron asignados a todos los códigos SIC y SOC, y no desarrollados basado sobre información de historial de trabajo, lo que pudiera haber dado al estudio más validez. Kodak también expresó alguna preocupación en relación a este estudio debido a la falta de expedientes específicos de pasadas exposiciones, la confianza en el juicio de peritos en gran medida, uso de parientes para determinar el potencial de exposición y las cualificaciones no documentadas de los que emitieron juicio concerniente a las diferentes ocupaciones e industrias envueltas. Además, Kodak pensó que los datos de exposición eran "en el mejor de los casos, juicios semicualitativos no substanciados de probabilidad e intensidad de exposición [Ex. 115-1]." Organization Resources Counselors [Ex. 115-2] y Abbott Laboratories [Ex. 115-30], aseveraron que era imposible decir si aquellos que murieron de cáncer habían tenido exposición a CM debido a que no había verificación de exposición. Vulcan Chemicals [Ex. 115-32], criticó a los investigadores por no ir a los sitios de trabajo y determinar la magnitud actual de la exposición a los CAHs. HSIA [Ex. 115-36], arguyó que "la concordancia de los informes sustitutos por los historiales de trabajo actuales pudiera variar desde 0-50% para el primer trabajo del difunto, y de 50-70% para los últimos trabajos." OSHA cree que la verificación de exposición hubiera aumentado la validez de los hallazgos de este estudio. Sin embargo, la falta de verificación de exposición no anula los resultados del estudio. La Agencia cree que las asociaciones observadas son sugestivas de un efecto de carcinogenicidad humana del CM.

Otro asunto que Kodak [Ex. 115-1] y Vulcan [Ex. 115-32] enfatizaron fue la posible exposición a otros químicos y fuentes de carcinogenicidad humana potencial, tal como radiación ionizante, campos electromagnéticos, historial de fumador y lugar de residencia. Vulcan [Ex. 115-32] señaló que pudiera haber habido una desviación de selección en este estudio debido a la gran razón de tumores de cáncer astrocítico al número total de tumores cerebrales. Aunque no ofrecieron explicación de como operaría esta desviación en selección, Vulcan sugirió que este asunto sería investigado subsiguientemente.

Vulcan también mostró preocupación porque el pareado de controles y casos con respecto a

ocupaciones y status socioeconómico puedan ser inadecuados. En particular, Vulcan criticó el estudio Heineman por no presentar las ocupaciones del grupo de control y por no parear el status socioeconómico de los dos grupos. Similarmente, Kodak [Ex. 115-1] declaró que debiera haberse hecho algún ajuste para parear los niveles educativos.

Kodak [Ex. 115-1] también creyó que los estimados de las tendencias observadas en este estudio pudieran haber estado afectadas, si los trabajadores en las categorías de más alta duración o la más alta probabilidad de exposición tuvieran las fechas más largas de empleo, trabajaran en las industrias más estables y tuvieran mejores beneficios de salud, mejor acceso a cuidado médico y procedimientos de diagnósticos más sofisticados. OSHA cree que no hay evidencia de que este sea el caso en este estudio.

HSIA [Ex. 115-36] criticó la metodología para evaluar el número de industrias con exposiciones a CAHs. HSIA argumentó que Gomez et al. no explica completamente cómo determinaron que los lugares de trabajo en los SICs específicos tuvieran exposiciones a CAH. Conforme a HSIA, Gomez et al. sometió información imprecisa en relación al uso industrial del CM. HSIA citó a "Toxic Air Pollutant/Source Crosswalk, A Screening Tool for Locating Possible Sources Emitting Toxic Air Pollutants" de EPA (EPA-450/4-87-023A, Dec. 1987)", que revela un número alto de códigos SIC que usan CM. En conclusión, HSIA aseveró que el "escenario de peor caso" de Gomez et al. estaba incorrecto.

Varios comentaristas [Exs. 115-1, 115-31, 115-36], arguyeron que el estudio de Heineman et al. sólo debiera considerarse como un estudio generador de hipótesis y no debiera usarse para ajustar el PEL.

OSHA está de acuerdo con NIOSH en que el estudio de Heineman et al. estuvo bien conducido porque hubo un intento sistémico de estimar la exposición por experiencia de trabajo. Más aún, hubo una correlación notablemente alta entre la exposición a CM y los tumores cerebrales. OSHA concluye que los resultados de este estudio fuertemente sugieren una posible asociación entre CM y cáncer cerebral. Sin embargo, en ausencia de datos de exposición cuantificados para estos trabajadores, permanece relativamente especulativo intentar estimar una relación de dosis respuesta cuantitativa. Por lo tanto, OSHA concluye que el riesgo estimado basado sobre los datos animales es lo mejor disponible y de conformidad retiene ese estimado para su análisis de riesgo significativo.

e. Sumario de estudios epidemiológicos. Considerado como entero, la evidencia epidemiológica disponible no demostró un riesgo de cáncer estadísticamente significativo asociado con las exposiciones ocupacionales a CM. Sin embargo, la tendencia positiva para muertes por cáncer del tracto biliar/hepático, la asociación entre exposición ocupacional a CM y cáncer cerebral astrocítico y los resultados estadísticamente significativos de cáncer prostático son sugestivos de una asociación entre exposición a CM y riesgo de cáncer. Adicionalmente, los estudios epidemiológicos no positivos resumidos aquí no son de valor suficiente para anular los resultados

positivos de los estudios con animales. Este asunto está discutido subsiguientemente en la sección de Avalúo de riesgo cuantitativo de este documento.

En resumen, los resultados epidemiológicos sugieren una asociación entre la exposición ocupacional a CM y riesgo elevado de cáncer que ofrece evidencia de apoyo a los resultados positivos de los bioensayos con animales.

4. Conclusión

OSHA concluye de los datos sobre mutagenicidad, bioensayos animales y datos de epidemiología humana que el CM causa cáncer en los animales de prueba y que es un carcinógeno ocupacional potencial. La Agencia ha determinado que, debido a la calidad de los estudios, la clara relación de dosis-respuesta y la adecuación de la ruta de administración, los datos del bioensayo de roedores de NTP son los mejores disponibles para el avalúo de riesgo de cáncer.

OSHA también concluye que los datos sobre epidemiología, en algunos casos, sugieren una asociación positiva entre la exposición humana a CM y la incidencia de cáncer, pero la relación de dosis-respuesta no está clara. La Agencia ha determinado que los datos de epidemiología restantes (los estudios no positivos), no son de valor suficiente para descartar los resultados obtenidos en los datos de bioensayo con animales y que los datos sobre animales proveen los mejores datos disponibles para el avalúo de riesgo cuantitativo.

E. Otras respuestas tóxicas.

1. Toxicidad del sistema nervioso central

El CM actúa sobre el sistema nervioso central (CNS) como depresor del CNS. La depresión del CNS ha sido descrita en humanos expuestos a concentraciones de CM tan bajas como 175 ppm (TWA de ocho horas). Esta depresión en la actividad del CNS fue manifestada como cansancio aumentado y alerta y vigilancia disminuidas. Estos efectos pudieran comprometer la seguridad del trabajador llevando a una probabilidad aumentada de accidentes siguiente a la exposición a CM.

a. Estudios en animales. En el NPRM, OSHA revisó dos estudios con animales sobre toxicidad del CM sobre el CNS (brevemente resumido a continuación) y concluyó que el CNS era potencialmente susceptible a efectos reversibles e irreversibles debidos a exposición a CM.

Savolainen et al. [Ex. 7-178] estudió los cambios bioquímicos en los cerebros de las ratas expuestas a CM. Las ratas fueron expuestas a 500 ppm de CM por 6 hr./d. Al quinto día, después de tres o cuatro horas de exposición a CM, los niveles de proteinasa ácida en los cerebros de las ratas estaban significativamente aumentados, pero no se informó cambio en los niveles de RNA. Los autores sugirieron que el aumento en proteinasa ácida pudiera ser el resultado de niveles aumentados de CO del metabolismo de CM. OSHA cree que este estudio muestra que el CM puede causar cambios

específicos en el sistema neurológico a un nivel bioquímico. La Agencia tiene la intención de monitorear la literatura científica para desarrollos adicionales sobre estos efectos, pero no ha usado esta información al establecer los límites de exposición porque al presente no está claro cómo los cambios en proteínasa ácida estén relacionados a los efectos depresivos observados del CM sobre el CNS en los humanos.

Rosengren et al. [Ex. 7-56] miró los efectos del CM sobre proteínasa marcadoras de células glial y concentraciones de DNA en los cerebros de los gerbos después de exposición continua a 210, 350 o 700 ppm de CM. Debido a la alta mortalidad en las dos dosis más altas, no se recopiló datos a 700 ppm y la exposición fue terminada a las 10 semanas a 350 ppm. La exposición a 210 ppm fue continuada por tres meses. La exposición a CM fue seguida por cuatro meses de no exposición antes de que los animales fueran examinados para efectos irreversibles al CNS. Los autores hallaron niveles aumentados de proteínas marcadoras de células glial en la corteza cerebral frontal y la corteza motora sensorial después de la exposición a 350 ppm CM. Estos hallazgos son consistentes con la hipertrofia de la célula glial o proliferación de célula glial. Los niveles de DNA fueron disminuidos en el hipocampo de los gerbos expuestos a 210 y 350 ppm y en los hemisferios cerebrales después de 350 ppm de CM. Las concentraciones disminuidas de concentraciones de DNA indican densidad celular disminuida resultante de la muerte celular o de la inhibición de la síntesis de DNA.

El mecanismo neurotóxico de acción del CM en los cerebros de los gerbos no se entiende. No obstante, ya que el metabolismo del CM a CO fue determinado ser saturado a 210 y 350 ppm (los niveles de COHb fueron equivalentes en ambas concentraciones de exposición), los cambios en proteínas de célula glial y concentraciones de DNA fueron atribuidas a efecto directo del CM o a un efecto de un metabolito del pasaje GST. Aunque este estudio describe cambios bioquímicos en el CNS subsiguiente a la exposición a CM, la alta mortalidad de los animales experimentales y la falta de datos de toxicidad sobre el CM en los gerbos hacen difícil determinar el significado de este estudio para extrapolación a otras especies. Tampoco está claro cómo estos efectos se relacionarían a la depresión del CNS observada en humanos después de la exposición a CM. Además, la exposición continuada a CM se ha mostrado en otras situaciones experimentales [Exs. 7-14 y 7-130] para obtener efectos a la salud más severos que la exposición a concentraciones similares o más altas cuando se permite a los animales un período de recuperación. (por ejemplo, seis horas de exposición al día). La exposición en una agenda de seis u ocho horas al día es un escenario ocupacional más probable y por lo tanto, esos experimentos son más fáciles de interpretar al evaluar el riesgo a los trabajadores.

En resumen, OSHA cree que los datos de ratas y gerbos descritos anteriormente muestran que el CM puede causar cambios en el sistema neurológico a nivel bioquímico. La Agencia tiene la intención de monitorear la literatura científica para desarrollos adicionales sobre estos efectos para determinar si estos tipos de efectos tienen implicaciones para riesgos al CNS humano.

b. Estudios en animales. Los efectos depresores del CNS del CM ha sido bien descrito en la literatura [Exs. 7-4, 7-153, 7-160, 7-175, 7-182, 7-183, 7-184]. El CM causa depresión del CNS que está caracterizada por cansancio, dificultad en mantener la concentración, disminución de alerta, mareos, jaquecas y a altas concentraciones, pérdida del conocimiento y muerte. La sobreexposición accidental a CM de humanos [Exs. 7-18, 7-19] (por ejemplo, a concentraciones mayores de 10,000 ppm), han resultado en narcosis y muerte. La depresión del CNS ha sido descrita después de que los humanos fueron expuestos a concentraciones experimentales de CM tan bajas como 200 ppm [Ex. 7-175] y concentraciones ocupacionales tan bajas como 175 ppm [Ex. 7-153].

i. Estudios experimentales. La depresión del CNS fue detectada en sujetos humanos expuestos a CM a concentraciones tan bajas como 200 ppm por cuatro horas o 300 ppm por 1.5 horas [Exs. 7-4, 7-160, 7-175, 7-182 y 7-184]. En estos experimentos, los cuales midieron la depresión sutil del CNS (tal como la ejecución doble de tarea y respuesta visual evocada), no es posible determinar un nivel de efecto no observado (NOEL), porque la concentración experimental más baja usada (200 ppm), obtuvo efectos CNS. Ya que no se determinó un NOEL para los efectos al CNS del CM, esos efectos pueden ocurrir a exposiciones más bajas o después de exposición por duraciones más cortas.

HSIA cuestionó si esta desviación fue introducida en los resultados de estos estudios mediante procedimientos inadecuados para establecer un "doble anonimato". Esta crítica trajo una preocupación legítima sobre la validez del estudio. Sin embargo, ya que Putz et al. no describe los procedimientos de anonimato usados en sus experimentos, la Agencia concluye que no hay suficiente evidencia públicamente disponible para llegar a la conclusión de que el estudio está parcializado. OSHA cree que estos estudios estuvieron bien conducidos y confía en la calidad de los estudios en general como evidencia de la validez de los resultados. La ausencia de evidencia que demuestre la adecuación de los procedimientos de anonimato, OSHA ha determinado que estos estudios muestran que el CM puede causar ligera depresión del CNS en humanos expuestos a concentraciones tan bajas como 200 ppm.

NIOSH expresó preocupación en relación al potencial para daño del comportamiento neural (expresado como depresión de CNS), a bajas exposiciones y duraciones más cortas, particularmente en relación al establecimiento de un STEL para CM [Exs. 23-18 y 94]. Para evaluar el impacto potencial de los efectos al CNS del CM, NIOSH observó los datos reunidos de varios estudios y comparó las concentraciones de CM en el aliento (como sustituto de la concentración de CM en el tejido cerebral), a diferentes niveles de exposición con la depresión del CNS a descrita por Putz et al. [Ex. 7-175]. NIOSH concluyó que:

Al STEL propuesto de 125 ppm la toma aumentada de CM en trabajadores activos puede colocarlos en el alcance de concentración de aliento asociada con ligero daño al comportamiento neural. Aunque los datos son insuficientes para obtener conclusiones firmes, la extrapolación de los estudios sugiere que el STEL propuesto de 125 ppm pudiera no proteger completamente a los trabajadores físicamente activos de daño al CNS. Por lo tanto, debiera considerarse un STEL más bajo, si es factible.

En respuesta a la preocupación traída por NIOSH, HSIA [Ex. 105] señaló que el análisis de NIOSH

de la concentración de CM en aliento versus daño del comportamiento neural "pareció altamente especulativo." HSIA enfatizó que las exposiciones que produjeron los efectos de comportamiento neural informados fueron observados sólo después de dos a cuatro horas de exposición y que los efectos fueron observados sólo cuando se midió tareas difíciles.

Para apoyar su posición HSIA pidió al Sr. Richard Reitz que usara un modelo PBPK para estimar la concentración de CM en el tejido cerebral. Este análisis [Ex. 105] indicó que la exposición a 200 ppm por 15 minutos con personas que ejercitándose a 50 vatios, la concentración cerebral de CM se hubiera predicho similar a la observada en el estudio Putz et al. para sujetos dedicados a "actividad ligera" por dos horas a 200 ppm de CM, lo que no produjo depresión del CNS mensurable. (Putz et al. no detectaron depresión del CNS en sujetos expuestos a 200 ppm por dos horas). El modelo también predijo que las exposiciones de 15 minutos a 125 ppm mientras el sujeto se estaba ejercitando a 50 vatios hubiera producido concentraciones cerebrales de CM substancialmente menores que las predichas para la exposición de cuatro horas a 200 ppm de CM.

OSHA consideró el análisis PBPK presentado por HSIA, pero mostró preocupación porque no había validación experimental de las concentraciones cerebrales de CM predichas o evidencia alguna en relación a qué concentración produciría depresión detectable del CNS. OSHA cree que el valor principal de los análisis de NIOSH y HSIA está en la demostración del efecto relativo que el ejercicio y la duración de la exposición es probable que tenga sobre las concentraciones cerebrales (aliento) de CM. El análisis PBPK claramente demuestra que el nivel de ejercicio aumentado aumenta la concentración cerebral de CM, lo que es consistente con la depresión del CNS detectada. Los trabajadores dedicados a actividad extenuante mientras están expuestos a CM deben tomar precauciones especiales, tales como interrupciones frecuentes al aire fresco, especialmente si ocurre mareo o sensación de ligereza en la cabeza.

Aunque OSHA ha hallado que el modelo PBPK es útil para demostrar la interacción entre el ejercicio y la concentración cerebral de CM, la Agencia no usó el modelo cuantitativo (por ejemplo al determinar el STEL). OSHA cree que los datos sugieren que pudiera haber efectos al CNS a niveles bajo aquellos probados. No hay estudios que discutan directamente si hay efectos al CNS después de la exposición a concentraciones STEL de CM. A la extensión en que ocurran estos efectos, el STEL no sería protector. Se detectó depresión del CNS ligera y reversible a 200 ppm por cuatro horas y 300 ppm por 1.5 horas. La Agencia comparte la preocupación, basado sobre la extrapolación de concentraciones de CM en el aliento, de que el STEL propuesto pudiera no ser adecuadamente protector para los trabajadores físicamente activos.

OSHA concluye que claramente hay datos suficientes para determinar que un STEL de 15 minutos a 125 ppm, es necesario para evitar un riesgo significativo de daño material al CNS. El daño al CNS también aumentaría el riesgo de accidentes. Los datos medidos muestran riesgos a 200 ppm por cuatro horas de exposición. Un nivel más bajo de más corta duración es necesario para evitar el riesgo. Los cálculos de OSHA muestran que para trabajadores activos pudiera ser necesario un nivel más bajo de 125 ppm. Sin embargo, debido a consideraciones de factibilidad, que pudieran ser

mayores a niveles más bajos de exposición (i.e., 15 minutos) pudieran mitigar los efectos, OSHA está reteniendo el nivel propuesto, pero monitoreará cuidadosamente y actualizará los datos para determinar si este nivel elimina el riesgo significativo.

ii. Estudios de exposición ocupacional. En el NPRM, OSHA resumió los estudios que creyó que describían una neuropatía asociada con exposición ocupacional crónica a solventes. Weiss [Ex. 7-196] describió el caso de un químico de 39 años que trabajó por cinco años con concentraciones aerosuspendidas de CM tan altas como 660 ppm a 3600 ppm en un cuarto con pobre ventilación. Después de tres años de exposición, el trabajador desarrolló síntomas neurológicos caracterizados por inquietud, palpitations, olvidos, pobre concentración, desórdenes del sueño, desvaríos acústicos y alucinaciones. No se halló daño hepático ni toxicidad cardíaca. Al tiempo de la primera aparición de los síntomas, el cese de exposición produjo un cese inmediato de los síntomas. Luego, se requirió de períodos más y más largos después de terminar la exposición para aliviar los síntomas. La persistencia en aumento de los síntomas es consistente con un diagnóstico de encefalosis tóxica.

Hanke et al. [Ex. 7-195] examinaron a 32 instaladores de losetas de pisos que estaban expuestos principalmente a CM en concentraciones de 400 a 5300 ppm por una tenencia promedio de 7.7 años. El examen clínico de 14 de los trabajadores que tenían síntomas neurológicos (jaqueca, vértigo, disturbios del sueño, quejas digestivas y lapsus en concentración y memoria), revelaron cambios en los patrones EEG de los trabajadores expuestos que persistieron durante la pausa en exposición del fin de semana. Estos cambios EEG fueron característicos de una encefalosis tóxica producida por la intoxicación crónica con un solvente halogenado (CM). La persistencia de los cambios EEG durante el fin de semana indicaron un efecto prolongado de la exposición a CM sobre los patrones EEG. (Los cambios adicionales en EEG hallados durante la exposición pudieran atribuirse a un efecto agudo del CM). Aunque estos estudios representan un pequeño número de casos con muy altas exposiciones crónicas, la evidencia es sugestiva de una relación entre la exposición crónica a CM y la encefalosis tóxica.

En el informe de estudio de caso, Barrowcliff et al. [Ex. 7-123] atribuyó el daño cerebral en un estudio de caso a envenenamiento con CO causado por la exposición a CM. Axelson [Ex. 7-150] ha descrito un número aumentado de desórdenes neuropsiquiátricos entre las ocupaciones con altas exposiciones de solvente.

En el NPRM, OSHA expresó la opinión de que estos estudios, tomados en conjunto, "proveen evidencia sugestiva de una toxicidad permanente [diferente de la depresión reversible observada del CNS], que pudiera resultar de la exposición crónica a CM." NIOSH declaró que este avalúo era demasiado especulativo y declaró:

en el estudio Hanke, el CM era aparentemente sólo uno de los componentes de una mezcla de solventes y pudiera no haber sido el único agente neurotóxico. * * * Además, el intervalo de observación de 2.5 días no fue lo suficientemente largo para proveer evidencia convincente de efecto irreversible, no empece el ingrediente activo.

Al volver a examinar estos estudios, OSHA está de acuerdo con NIOSH [Ex. 19-46] que aunque un efecto prolongado (durante una semana) del CM sobre los patrones EEG ha sido demostrado, estos estudios no apoyan la determinación de que la exposición a CM esté asociada con daño cerebral irreversible en humanos.

OSHA revisó varios otros estudios de exposición ocupacional a CM para evidencia de los efectos sobre el CNS del CM. El primer estudio fue provisto como una traducción al inglés de un estudio checoslovaco por Kuzelova et al. [Ex. 7-26]. Estos investigadores examinaron a los trabajadores en una planta productora de película que estaban expuestos a concentraciones de CM de 29 a 4899 ppm.

Varios trabajadores sufrieron franca intoxicación con CM y muchos trabajadores mostraron señales de depresión del CNS inducida por CM. La toxicidad asociada con exposición crónica a CM por hasta dos años, pero los autores recomendaron continuar los estudios de los efectos a la salud a largo término.

OSHA cree que este estudio muestra depresión del CNS en los trabajadores expuestos a CM. La Agencia está de acuerdo con los autores en que este estudio no es suficiente para caracterizar adecuadamente los efectos a la salud del CNS que pudieran ser inducidos por la exposición a CM.

Cherry et al. [Ex. 7-154] estudió los efectos de la exposición ocupacional a CM a 28 a 175 ppm en dos poblaciones expuestas. En un estudio de 1981, los autores hallaron un aumento marginal en síntomas neurológicos autoinformados entre los trabajadores expuestos. Este aumento desapareció cuando se usó un grupo de referencia apropiado para la comparación. Sin embargo, en una investigación de 1983, Cherry [Ex. 7-153] mostró aumentos estadísticamente significativos en cansancio y déficits en tiempo de reacción y sustitución de símbolos digitales que correlacionan con CM en sangre. Las exposiciones de CM ambiental para esta población varió desde 28 a 175 ppm para el turno completo. Este estudio demostró efectos al CNS debidos a las exposiciones ocupacionales a CM bajo 200 ppm (la dosis más baja que fue administrada en los estudios experimentales).

HSIA [Ex. 105, p. 34] comentó como sigue:

Décadas de experiencia con poblaciones de trabajadores expuestos aún a niveles hasta el TWA actual de 500 ppm no han provisto evidencia de que tales trabajadores tengan índices más altos de accidentes u otras señales de daño del comportamiento neural significativo.

Por el contrario, OSHA cree que los estudios ocupacionales discutidos anteriormente demuestran que el CM tiene un efecto sobre el CNS a niveles de exposición ocupacional tan bajos como 175 ppm.

La Agencia cree que el estudio de 1983 de Cherry muestra que la exposición ocupacional a concentraciones de CM bajo el antiguo PEL TWA de ocho horas de 500 ppm puede producir efectos detectables del CNS. Aunque el estudio de 1983 examinó más medidas objetivas de depresión del CNS y correlacionó los efectos observados con una medida directa de exposición a CM. OSHA cree

que este estudio demuestra que, aunque la depresión del CNS puede ser ligera, ello es demostrable en los escenarios ocupacionales en el alcance del STEL (aunque las exposiciones en este estudio fueron sobre un día de trabajo de ocho horas). Según descrito anteriormente, OSHA está suficientemente preocupada por el potencial para efectos a la salud a concentraciones bajo el STEL de 125 ppm que continuará recopilando información y revisando este asunto, si se amerita.

2. Toxicidad cardíaca

Según descrito en la sección de metabolismo de CM, el CM es metabolizado *in vivo* (en animales y humanos) a CD y CD₂. Se ha observado estrés cardiovascular durante la exposición a CO, de modo que es razonable sospechar que efectos a la salud similares serían observados después de la exposición a CM (y metabolismo a CO) [Ex. 7-73, 4-33]. El monóxido de carbono compite exitosamente con el oxígeno y bloquea el sitio de unión en la hemoglobina, produciendo carboxihemoglobina (COHb) y reduciendo el acceso de oxígeno a los tejidos. Esto reduce el suministro de oxígeno al corazón mismo, lo que resulta en infarto al miocardio (ataque cardíaco) [Ex. 4-33].

Generalmente, los humanos tienen un nivel básico de COHb de menos de 1% COHb debido a la producción endógena de CO debida al proceso metabólico normal. El nivel medido de COHb en la población general no fumadora, es de 1% a 3% debido a la exposición directa a CO debida a fuentes de combustión tales como automóviles, etc. En fumadores, la COHb generalmente alcanza de 2% a 10% debido a la exposición adicional a CO durante el fumado. El CO generado de la exposición a CM sería aditivo a la carga de COHb ya experimentada por un individuo debido a la exposición directa a CO. Los efectos cardíacos a la salud anticipados de la exposición a CM mismo, o CO como resultado del metabolismo de CM están descritos a continuación.

a. Estudios en animales. No hay evidencia de estudios en animales en el expediente de reglamentación de CM de que el CM tenga un efecto tóxico sobre el tejido cardíaco. Después de la dosis letal de CM, la muerte ha sido principalmente atribuida a Depresión del CNS y respiratoria. [Exs. 2-27, 7-28]. También, los estudios crónicos (en los cuales los niveles de COHb han sido mantenidos a 10% y más altos) [Exs. 7-3, 7-8, 7-14, 7-130, 7-151] no han mostrado cardiotoxicidad directa.

Se ha mostrado que los solventes clorinados sensibilizan el tejido cardíaco a arritmias cardíacas inducidas por epinefrina [Ex. 7-226]. Sin embargo, el CM es menos efectivo en sensibilizar el tejido cardíaco que otros análogos clorinados. El CM causó sensibilización de los tejidos cardíacos sólo a dosis muy sobre las dosis que producen un efecto narcótico. Este hallazgo indica que el cumplimiento con el TWA de ocho horas de 25 ppm de CM con probabilidad sería suficiente para proteger contra tal sensibilización.

b. Estudios en humanos. El metabolismo de CM a CO y la medición de COHb en sujetos humanos expuestos a CM fueron descritos en detalle en el NPRM. En resumen, se halló que el ejercicio aumenta la toma de CM y subsiguientemente, aumenta los niveles de COHb en sangre comparado con los individuos sedentarios [Ex. 7-222]. Además, los niveles de COHb debido a fumar se halló que son aditivos a la COHb producida por el metabolismo de CM. Tomados juntos, estos resultados sugirieron que los fumadores o individuos dedicados a ejercicio físico (como en un lugar de trabajo), pueden estar en riesgo aumentado debido a la exposición a CM. El riesgo puede ser especialmente elevado en individuos con enfermedad cardíaca silenciosa o sintomática que pudieran ser susceptibles a aumentos muy pequeños en COHb debido a un suministro de sangre y disminuido al corazón. Esto aumentó la preocupación de OSHA por los efectos cardíacos potenciales del CM y sus metabolitos.

La COHb elevada ha sido medida en humanos experimentalmente y ocupacionalmente expuestos a CM [Exs. 7-4, R0327, 7-102, 7-115, 7-157, 7-159, 7-169, 7-174, 7-176]. Los efectos de la COHb elevada son principalmente el riesgo aumentado de infarto al miocardio, especialmente en individuos susceptibles. Atkins and Baker [Ex.7-198] describieron dos casos de infarto al miocardio en trabajadores subsiguiente a la exposición a CO. La COHb fue medida a 30% y 24% en estos individuos, lo que es mucho más alto en que los niveles de la población general normal de COHb. Los humanos expuestos a CM no se esperaría que experimentaran COHb a menos que la exposición a CM fuera extremadamente alta (mayor de 500 ppm).

En un estudio de laboratorio de humanos con enfermedad de la arteria coronaria, sujetos que fueron expuestos a CO y observados para efectos a la salud cardíaca durante ejercicio. En sujetos con 3 a 10% de COHb, se observó tolerancia al ejercicio disminuida y dolor anginal aumentado [Ex. 7-198]. En un estudio epidemiológico sometido a OSHA durante las vistas públicas sobre CM, los investigadores observaron un exceso estadísticamente significativo mortalidad debida a enfermedad isquémica entre los trabajadores de túneles al ser comparados con los índices para la población de la ciudad de Nueva York [Ex. 23-18]. Este aumento en mortalidad está apoyado por hallazgos clínicos. Allred et al. [Ex. 23-18] observó que la elevación de COHb de 0.6% a tan bajo como 2% disminuyó el tiempo a la isquemia miocárdial y dolor anginal durante pruebas de laboratorio. OSHA cree que estos estudios, tomados juntos, sugieren que los pequeños aumentos en COHb pueden afectar adversamente a las personas con salud cardíaca comprometida. Los resultados observados en los trabajadores de túneles son particularmente relevantes porque muestran un riesgo aumentado en la población trabajadora. NIOSH usó estos estudios para apoyar su recomendación de que los efectos la COHb del CM fueran cuidadosamente considerados en la reglamentación de CM [Tr. 881-2, 9/21/92]. OSHA estuvo de acuerdo con NIOSH en que los efectos observados a bajos niveles de COHb son causa de preocupación sobre las enfermedades del metabolismo a CO.

En el NPRM, OSHA también revisó los informes de caso en los cuales los individuos expuestos a CM experimentaron infartos al miocardio [Exs. 7-102, 7-73]. Estos informes de caso sugirieron que la exposición a CM aumentaba el estrés cardíaco, aunque no se determinó si era un efecto directo del CM o como resultado del metabolismo de CM a CO. OSHA cree que estos estudios de caso apoyan la hipótesis de que el CO generado a través del metabolismo de CM tendría el mismo efecto adverso a la salud que la exposición directa.

Dos estudios epidemiológicos (en los trabajadores de revestido de película y producción de fibra) [Exs. 7-75, 7-76, 7-122, 7-163] examinaron la mortalidad cardíaca debida a la exposición ocupacional a CM. Ott [Ex. 7-76] comparó la mortalidad de una planta en Carolina del Sur que usó CM a una planta de referencia en Virginia. Se observó una razón de riesgo aumentada para enfermedad cardíaca isquémica (razón de riesgo=3.1) fue observada en los trabajadores expuestos a CM comparado a la población de referencia.

Este enfoque controla para el efecto del trabajador saludable comparando dos poblaciones de trabajo y se demostró exceso de riesgo. Los autores creyeron que el aparente exceso de riesgo fue debido a la variabilidad geográfica en la incidencia de enfermedad cardíaca isquémica. La población de la planta de referencia se halló que tiene un índice de muerte inusualmente bajo en comparación con el índice de la población general.

En una actualización del estudio [Ex. 7-75], el índice de mortalidad de enfermedad cardíaca isquémica en la población expuesta fue comparada a la de York County, S.C., circundante, en vez de a una planta de referencia. No se detectó diferencia en índices de enfermedad cardíaca isquémica entre los trabajadores expuestos y los controles, aunque este enfoque no controlaría para el efecto del trabajador saludable. El SMR fue 0.94 (32 observado, 34.2 esperado).

NIOSH estuvo en desacuerdo con la conclusión de los autores de este estudio e indicó que los estudios resumidos anteriormente causarían preocupación en relación a los efectos cardíacos del CM. NIOSH sugirió que los datos brutos de estudios epidemiológicos de los trabajadores de producción de película de acetato de celulosa y los estudios de los trabajadores en la manufactura de fibra de acetato de celulosa sean revisados para mortalidad cardíaca que ocurrió durante el período de exposición ocupacional para los trabajadores. OSHA está preocupada por sobre los efectos potenciales del CO del metabolismo de CM y continuará monitoreando la literatura científica sobre este tópico. Sin embargo, la Agencia está estableciendo los límites de exposición basado sobre cáncer y efectos al CNS y no ha alcanzado conclusiones finales sobre este asunto.

3. Toxicidad hepática

Los hidrocarburos clorinados como clase, tal como el tetracloruro de carbono y el cloroformo, son tóxicos al hígado. En general, los hidrocarburos clorinados causan citotoxicidad (muerte celular), en el hígado de los roedores. Por lo tanto, había sospecha de que el hígado fuera también un órgano blanco para toxicidad de CM (un hidrocarburo clorinado). OSHA evaluó la literatura disponible

sobre los efectos hepáticos del CM en estudios sobre animales y humanos.

a. Estudios con animales. Los estudios de los efectos de la exposición a CM sobre el hígado de los roedores no ha demostrado toxicidad aguda del hígado, aún a dosis letales o casi letales. Según resumido en el NPRM, Kutob et al. [Ex. 7-27] y Klaasen et al. [Ex. 7-28] condujeron experimentos sobre metanos halogenados y hepatotoxicidad. Se determinó que el CM es el menos hepatotóxico de los metanos halogenados examinados. La única lesión descrita fue una ligera respuesta inflamatoria asociada con concentraciones letales de CM. Estos estudios demostraron que el hígado no es el principal órgano blanco para la toxicidad aguda del CM.

Weinstein et al. [Ex. 7-181] examinó los efectos hepáticos del CM sobre los ratones hembra que estuvieron continuamente expuestas por hasta siete días a concentraciones de CM de hasta 5000 ppm. Se notó lesión ligera no letal del hígado, caracterizada por degeneración globosa del retículo endoplásmico rugoso (RER), acumulación severa transitoria de triglicéridos (hígado graso), inhibición parcial de la síntesis de proteínas y la descomposición de los polisomas en ribosomas individuales. La lesión es similar a una forma ligera de toxicidad de tetracloruro de carbono (un análogo estructural de CM) y sugiere que aunque la toxicidad debida a CM no es tan severa como la producida por tetracloruro de carbono, el mecanismo de toxicidad puede ser similar.

En los experimentos subcrónicos los efectos más severos fueron observados en el hígado después de exposición continua. MacEwen et al. [Ex.7-14] estudió los efectos de la exposición continua de ratones, ratas y perros y monos rhesus a 1000 y 5000 ppm de CM por hasta 14 semanas. Se informó hígado graso, ictericia, SGPT y ICDH elevados fueron informados en perros en ambas concentraciones. Estos efectos aparecieron a las 6-7 semanas de exposición a 1000 ppm de CM y a las tres semanas de exposición a 5000 ppm. Los monos fueron menos sensibles a lesión hepática y no mostraron cambios en las enzimas hepáticas y cambios hepáticos sólo de ligeros a moderados a 5000 ppm de CM. No se detectó alteraciones hepáticas en los monos expuestos a 1000 ppm de CM. Los ratones y ratas desarrollaron toxicidad del hígado en ambos niveles de exposición, caracterizada por pigmento hemosiderina elevado, vacuolización citoplásmica, degeneración nuclear y cambios en la organización celular.

Los efectos hepáticos asociados con la exposición crónica a CM fueron observados en los bioensayos vitalicios de tres especies de roedores: ratas, ratones y cricetos. En los estudios conducidos por el NTP y Dow Chemical Co., las ratas fueron expuestas concentraciones de inhalación de CM de 50 ppm a 4000 ppm seis horas al día, cinco días a la semana [Ex. 7-8, 7-151, 7-173]. Se observó efectos hepáticos después de exposición a concentraciones de CM tan bajas como 500 ppm. Estos efectos estuvieron caracterizados por hígado graso aumentado, vacuolización citoplásmica y un número aumentado de hepatocitos multinucleados. A dosis más altas (mayor de 1500 ppm), los números aumentados de focos alterados y necrosis hepatocelular se tornaron aparentes.

Serota et al. [Ex. 7-180] administró de 5 a 250 mg CM/kg de peso de cuerpo a ratas en el agua de beber. Se informó toxicidad hepática similar a la observada en los estudios de inhalación en dosis de 50 a 250 mg/kg.

En ratones, los efectos hepáticos del CM fueron investigados en dos bioensayos: NTP [Ex. 7-8] y Serota et al. [Ex. 179]. En el estudio de NTP, los ratones fueron expuestos mediante inhalación a 2000 o 4000 ppm de CM. Se observó degeneración citológica en ratones hembras y machos e incidencias aumentadas de adenomas y carcinomas hepatocelulares en ambas concentraciones. Los efectos carcinogénicos del CM fueron descritos en mayor detalle anteriormente, en la discusión de la carcinogenicidad del CM.

En el estudio del agua de beber, Serota et al. halló que los ratones expuestos a 50 a 250 mg/kg/d de CM tuvieron aumentos relacionados a dosis del contenido graso del hígado (una señal de toxicidad del hígado). Aunque se identificó algunas lesiones hepatocelulares proliferadoras en este estudio, estuvieron distribuidas a través de todos los grupos de exposición. Las incidencias de tumor hepatocelular no estuvieron elevadas sobre las incidencias de control históricas.

En los cricetos, Burek et al. [Ex. 7-151] halló cambios mínimos relacionados con el tratamiento, en el hígado de los animales expuestos a CM después de la exposición a 500, 1500 o 3500 ppm de CM. Se halló un aumento relacionado con dosis en hemosiderina en los cricetos machos a los seis meses y a 3500 ppm a los 12 meses. No se informó de otros cambios en la fisiología del hígado.

OSHA cree que estos estudios demuestran que el hígado de los roedores no es sensible a los efectos agudos del CM, pero que la exposición crónica al CM causó efectos tóxicos en el hígado de ratas y ratones y cáncer en el hígado de los ratones. Estos estudios parecen haber estado bien conducidos y las diferencias en toxicidad observadas a través de los estudios fueron debidas probablemente a las diferencias en dosis o ruta de exposición. Los cricetos parecieron ser insensibles a la toxicidad del hígado. OSHA cree que esto se debe más probablemente a diferencias inherentes a la especie en respuesta a tóxicos.

b. Estudios en humanos. OSHA evaluó los estudios epidemiológicos y los informes de caso para determinar la extensión de los efectos hepáticos detectados después de la exposición de los humanos a CM. La toxicidad del hígado fue medida como alteraciones en los niveles en la sangre de varias enzimas normales del hígado en estos estudios.

i. Estudios epidemiológicos. En un análisis de sección transversal de la salud de los trabajadores en la planta de producción de fibra de acetato en la cual los trabajadores estaban expuestos de 140 a 475 ppm de CM, Ott et al. [Ex. 4-33c] informó aumentos estadísticamente significativos en bilirrubina serosa y aminotransferasa alanina (ALT) (también conocida como transaminasa pirúvica glutámica serosa (SGPT), al ser comparada con un grupo de referencia de trabajadores industriales. La elevación en niveles de bilirrubina mostraron una relación de dosis-respuesta, pero los niveles de ALT no estuvieron asociados con la exposición a CM. Los autores pensaron que el aumento en ALT en los trabajadores expuestos a CM no podía atribuirse al CM debido a que no se había demostrado una relación dosis-respuesta y por lo tanto, el aumento en ALT entre las poblaciones expuestas y de referencia pudiera no considerarse como señal de toxicidad hepática. Los autores concluyeron que

aunque la elevación de bilirrubina pudiera interpretarse como una señal de toxicidad del hígado, esta interpretación no estaba apoyada por otras alteraciones en otros parámetros vivos. OSHA piensa que ALT no puede ignorarse como no relacionada con la exposición a CM basado sobre la falta de dosis respuesta dentro del grupo de exposición. La alta variabilidad de este parámetro y el bajo número de individuos dentro de ciertos subgrupos de exposición (e.g., 10 hombres expuestos a 280 ppm), hacen una relación dosis-respuesta más difícil de demostrar. Cualquier error cometido en la caracterización en un grupo de exposición resultaría en el obscurecimiento de la relación dosis-respuesta. Aunque la evidencia no es inequívoca, OSHA cree que la elevada bilirrubia junto con los valores elevados de ALT indican evidencia sugestiva de respuesta hepatotóxica a exposición a CM en esta población de trabajo.

En una actualización del estudio descrito anteriormente, Cohen et al. [Ex. 7-75] halló cuatro casos de cáncer hepático/conducto biliar en trabajadores con más de 10 años de exposición a CM y después de 20 años después del reclutamiento. La descripción subsiguiente de este estudio puede hallarse en la discusión de la carcinogenicidad del CM, anterior.

En una traducción al inglés de un estudio de Checoslovaquia de 1968, Kuzelova et al. [Ex. 7-26] no halló anormalidades de las enzimas hepáticas en los trabajadores expuestos a concentraciones de CM desde 29 ppm a 4899 ppm por hasta dos años. En contraste, en una traducción al inglés de un estudio alemán que enfocó sobre los cambios neurológicos debidos a exposición a CM, Hanke et al. [Ex.7-195] observó pruebas de función hepática patológica y hepatomegalia (hígado recrecido), en cuatro de 14 instaladores de losas de piso examinados. Estos trabajadores estuvieron crónicamente expuestos a CM a concentraciones tan altas como 400 a 5300 ppm. La tenencia promedio del empleo de estos trabajadores fue 7.7 años. Los autores del estudio Hanke señalaron que aunque el CM con sus impurezas pudiera ser responsable del daño hepático, la evidencia no fue concluyente.

OSHA ha determinado que no hay evidencia suficiente de los estudios Kuzelova y Hanke para concluir que el CM causa efectos hepatotóxicos crónicos en humanos.

ii. Informes de caso. Además de los análisis de sección transversal de la morbilidad de los trabajadores descrita anteriormente [Exs. 4-33c y 7-26], la relación de la exposición a CM y la hepatotoxicidad ha sido estudiada mediante el análisis de los informes de caso. Welch [Ex. 7-73] recopiló 144 informes de caso de enfermedades clínicas informadas subsiguientemente a la exposición ocupacional a CM. Los estimados de exposición cuantitativa para individuos no fueron confiables, pero la presencia del CM en el ambiente de trabajo fue verificada para cada empleado. Los hallazgos más prevalecientes en estos informes de caso fueron síntomas CNS, síndrome respiratorio superior y alteración a las enzimas hepáticas. Los patrones de alteración en las enzimas hepáticas no fueron consistentes entre los individuos, pero pueden ser sugestivos de un efecto hepatotóxico. Se identificó un caso de hepatitis de etiología desconocida. El médico del caso creyó que la hepatitis era secundaria a la exposición a solvente. Los solventes a los cuales el empleado estaba expuesto incluyeron xileno y acetona metileno, así como CM. OSHA cree que confundir las exposiciones de solvente en el caso de hepatitis y los historiales de exposición de los individuos con

enzimas hepáticas alteradas limitan la interpretación de estos estudios. OSHA ha determinado que estos informes de caso no proveen evidencia suficiente para concluir que el CM fuera el agente causante en estos casos.

Los análisis de casos de exposiciones humanas mortales y casi mortales [Exs. 7-18, 7-19] no indicaron alteraciones agudas aparentes de la función hepática. Las concentraciones agudas de CM que causaron narcosis y aún muerte no estuvieron asociadas con cambios en las enzimas hepáticas.

OSHA concluye que hay evidencia limitada que apoya la hipótesis de que el CM causa hepatotoxicidad en humanos, basado sobre los datos en los informes de caso en el estudio Ott. Los estudios e informes de caso restantes no proveen evidencia clara de un rol causante del CM en la hepatotoxicidad. La Agencia ha establecido los límites de exposición basado sobre cáncer y efectos al CNS y no ha alcanzado conclusiones finales sobre este asunto.

4. Toxicidad reproductora

Sólo hay datos limitados disponibles en relación a los efectos adversos teratogénicos y mutágenos potenciales debidos a exposición a CM. Se ha conducido estudios de teratogenicidad en ratas y ratones y epidemiología limitada y se ha descrito informes de caso para humanos.

a. Estudios animales. Un estudio [Ex. 4-5] usando embriones de pollo indicaron que el CM altera la embriogénesis de manera relacionada a dosis. Ya que la aplicación de CM al espacio de aire de los embriones de pollo no es comparable a la administración de CM a animales con placenta, el efecto de la exposición visto en los embriones de pollo sólo puede considerarse evidencia sugestiva de que un efecto también pueda ocurrir en los sistemas mamíferos.

La teratogenicidad del CM inhalado también ha sido estudiado en ratas y ratones [Exs. 7-20, 7-21, 7-22]. En 1975, Schwets et al. [Ex. 7-21] condujo un estudio sobre ratones Swiss Webster. Los ratones fueron expuestos a 1250 ppm de CM por siete horas/día, en los días 6-15 de la gestación. En el día 18 de la gestación, se llevó a cabo la cesárea de las madres. Se observó un aumento estadísticamente significativo en la media de peso de cuerpo de las materno (11-15%), en las madres expuestas a 1250 ppm CM; sin embargo, el consumo de alimento no fue medido. El único efecto sobre el desarrollo fetal asociado con la exposición a CM fue un aumento estadísticamente significativo en el número de fetos que contenían un único centro extra de osificación en el esternón. La incidencia de anormalidades grandes observadas en los fetos expuestos a CM no fue significativamente diferente de las camadas de control. El nivel de COHb materno durante la exposición alcanzó a 12.6%; sin embargo, 24 horas después de la última exposición la CO Hb había vuelto a los niveles de control.

En el mismo estudio por Schwets et al. [Ex. 7-21] se expuso a ratas Sprague-Davis a 1250 ppm de CM vía inhalación por siete horas diarias en los días 6-15 de la gestación. No se observó efectos asociados con CM en el consumo de alimentos o en el peso del cuerpo materno. Entre las camadas

de las madres expuestas a CM, la incidencia de costillas lumbares o espuelas estuvo significativamente disminuida al compararse con los controles, mientras que la incidencia de la osificación dilatada de las esternobras fue significativamente aumentada comparada con los controles. No se observó incidencia aumentada de anomalías grandes en los fetos de las ratas expuestas comparado con los fetos de las camadas de control. No se observó efectos asociados con CM en el número promedio de los sitios de implante por camada, tamaño de camada, la incidencia de reabsorción fetal, razones de sexo fetal o medidas de cuerpo fetal, en las 19 camadas que fueron evaluadas. Según observado en los ratones expuestos a CM, hubo una elevación significativa del nivel de COHb en las madres, pero el nivel volvió a los valores de control dentro de las 24 horas del cese de la exposición.

En 1980, Hardin and Manson [Ex. 7-22] evaluó el efecto de la exposición a CM en ratas Long-Evans después de la inhalación de 4500 ppm por seis horas/día, siete días/semana antes de, y durante la gestación. Se describió cuatro grupos de exposición. El primer grupo fue expuesto a CM por 12 a 14 días antes de la gestación y durante los primeros 17 días de la preñez. El segundo grupo estuvo expuesto a CM sólo durante los 12 a 14 días antes de la gestación. El tercer grupo estuvo expuestos a CM sólo durante los primeros 17 días de preñez. El cuarto grupo (grupo de control), fue expuesto sólo a aire filtrado. El propósito de este estudio fue probar si la exposición a CM antes de y/o durante la gestación de era más perjudicial al resultado reproductor en las ratas hembras, que la exposición durante la gestación únicamente.

En ratas expuestas a CM durante la gestación, hubo señales de toxicidad materna, caracterizada por aumento estadísticamente significativo de peso del hígado materno. Los únicos efectos fetales del CM observados fueron disminución estadísticamente significativa del peso del cuerpo fetal. No se observó incidencia significativamente aumentada de anomalías esqueléticas o del tejido blando en los retoños.

En 1980, Bronscheine et al. [Ex. 7-224] probó algunos de los hijos de las ratas Long-Evans del estudio Hardin and Manson descrito anteriormente. Los cuatro grupos de tratamiento fueron usados para evaluar al toxicidad post natal de la exposición a CM a 4500 ppm. Las mediciones de actividad general de los grupos de crías de cinco días de nacidas no mostraron efectos relacionados con la exposición. A los 10 días de nacidos, sin embargo, se observó efectos significativos asociados con CM en ambos sexos en la prueba de actividad general. Estos efectos fueron aún aparentes en las ratas machosa los 150 días de nacidos. Este estudio mostró que la exposición materna a CM antes de y/o durante la preñez alteró la manera en la cual reaccionan las crías y se adaptan a pruebas ambientales noveles hasta los 150 días de edad. Los efectos sugieren que la exposición a CM antes de, o durante la preñez puede influenciar los procesos de orientación, reactividad y/o habituación del comportamiento. No se informó cambios en el índice de crecimiento, consumo de agua y alimento a largo término, actividad de correr en la rueda o evitación.

OSHA concluyó de los estudios animales que la exposición materna a altas concentraciones de CM durante la preñez puede tener efectos adversos sobre las crías, en particular con relación a los efectos de comportamiento. La Agencia ha establecido los límites de exposición basado sobre cáncer y efectos al CNS y no ha alcanzado conclusiones finales sobre este asunto.

b. Estudios en humanos. Se ha recopilado datos limitados sobre los efectos reproductores del CM en los trabajadores varones. En un estudio informado en el Occupational Safety and Health Reporter [Ex. 7-43], se halló un mayor riesgo de esterilidad en trabajadores varones expuestos a CM. En 1988, Kelly [Ex. 7-165] informó cuatro casos de oligospermia en trabajadores expuestos a CM. Este estudio fue descrito en detalle en el NPRM. Aunque el estudio proveyó alguna evidencia de un efecto del CM sobre la fertilidad masculina, las observaciones estuvieron basadas sobre un pequeño número de casos y OSHA cree que se necesita más investigación antes de que pueda obtenerse conclusiones causales sobre la toxicidad reproductora masculina del CM.

Los efectos reproductores y desarrollistas debidos a la exposición a CM en las trabajadoras también han sido estudiados. De acuerdo a la información de una traducción al inglés de un resumen de un artículo ruso por Vozovaya et al. [Ex. 7-16] los niveles detectables de CM fueron hallados en sangre, leche, tejidos embrionarios, fetales y placentarios de las madre lactantes expuestas a CM en una planta productora de goma. No se proveyó otra información en el abstracto. en un estudio por Taskinen et al. [Ex. 7-199] se observó índices aumentados de abortos espontáneos en trabajadoras de una farmacéutica expuestas a CM. Los datos de exposición no fueron informados en este estudio y no está claro qué factores confusores u otras exposiciones químicas estuvieron presentes. OSHA cree que es necesaria más investigación para evaluar el efecto potencial del CM sobre los resultados del embarazo y así no ha alcanzado una conclusión sobre este asunto.

El monóxido de carbono tiene efectos reproductores adversos en humanos. Ya que el CM es metabolizado a CO, OSHA mostró preocupación sobre los efectos reproductores adversos del CO como metabolito de CM. EPA ha revisado la literatura sobre los efectos de la exposición materna a CO en el desarrollo del feto en los Air Quality Criteria for Carbon Monoxide [Ex. 7-201]. Las exposiciones maternas muy altas a CO han resultado en la muerte fetal o del infante, o daño neurológico severo del vástago. El CO reduce la cantidad de oxígeno disponible al tejido. El feto en desarrollo es muy sensible a estos efectos. De acuerdo a Fetcher at al. [Ex. 7-200] los bajos niveles de exposición a CO en animales se ha mostrado que afecta adversamente al feto produciendo daño al CNS o reduciendo el crecimiento fetal. Estos efectos sugieren que el feto puede ser especialmente sensible a los efectos tóxicos del CM a través de su metabolismo a CO.

Según descrito anteriormente, OSHA está suficientemente preocupada por el potencial para efectos reproductores a la salud del monóxido de carbono como resultado del metabolismo del CM, que ha decidido continuar recopilando información y visitar este asunto, si se amerita.

F. Conclusión

La determinación de OSHA de que el CM es un carcinógeno ocupacional potencial estuvo basada principalmente sobre los hallazgos positivos de los bioensayos de inhalación crónica en roedores. El CM es carcinógeno a ratones de ambos sexos, produciendo neoplasmas de los pulmones e hígado. En ratas, el CM produce aumentos relacionados a dosis en tumores mamarios y aumenta el número de tumores por rata con tumores. La evidencia en roedores está apoyada hallazgos epidemiológicos de trabajadores de la producción de fibra de triacetato de celulosa y en un estudio de caso-control de individuos con cáncer cerebral astrocítico. El estudio de trabajadores de producción de fibra sugiere una asociación entre cáncer biliar y hepático y la exposición a largo término (mayor de 10 años) a CM. El estudio de caso-control indica una asociación entre el riesgo de cáncer cerebral astrocítico y la exposición ocupacional a CM. Esta evidencia está apoyada adicionalmente por los hallazgos de actividad genotóxica del CM en los sistemas celulares bacteriales y mamíferos. OSHA ha establecido el PEL TWA de ocho horas de 25 ppm principalmente para proteger a los empleados del riesgo de cáncer debido a la exposición a CM en el lugar de trabajo.

La depresión del CNS ha sido demostrada en humanos y animales a concentraciones de inhalación de CM relativamente bajas. La depresión del CNS observada en esos estudios fue relativamente ligera, aunque los efectos ocurrieron a concentraciones en el alcance del STEL de 125 ppm. OSHA cree que el STEL será protector contra la depresión del CNS para la mayoría de los empleados expuestos a CM la mayoría del tiempo, pero la Agencia está lo suficientemente preocupada sobre el potencial para efectos a la salud del CNS a concentraciones bajo el STEL y ha decidido continuar recopilando información y visitar este asunto, si se amerita.

VI. Avalúo de riesgo cuantitativo

Sumario

Después de examinar todos los datos disponibles, animales y humanos, y cualitativos y cuantitativos, OSHA ha concluido que el CM es un carcinógeno multi-especie, multisitio en varias especies de roedores y probablemente en humanos y que con mayor probabilidad actúa como vía uno o más metabolitos genotóxicos. La evidencia para esta conclusión es muy fuerte: existen varios bioensayos positivos con baja incidencia de trasfondo y aumentos relacionados con dosis; hay usualmente una gran cantidad de información mecanística; y hay varios estudios epidemiológicos positivos y ningún estudio epidemiológico de suficiente poder para descartar los estimados de potencia basados sobre animales.

Más aún, OSHA ha conducido un avalúo de riesgo cuantitativo basado sobre los datos de tumor de animales de mayor calidad, construyendo un modelo farmacocinético fisiológicamente basado incorporando información metabólica de roedores y animales. Ese análisis muestra un estimado final de riesgo de 3.62 muertes por 100 trabajadores ocupacionalmente expuestos a 25 ppm de CM por una vida de trabajo. [Un análisis alternativo, el cual incorporó todos los datos usados por en el análisis final principal más la asunción de que las enzimas humanas son aún menos activas al CM

(según comparado a ratones), que lo predicho por el análisis principal, dio un estimado de riesgo de 1.23 muertes por 1000]. Ambos estimados están claramente muy sobre cualquier límite superior aceptable del alcance del "riesgo significativo" definido por el Tribunal Supremo, usado por OSHA en su reglamentación previa e informada en la literatura científica/económica sobre el riesgo. El riesgo estimado en el PEL actual de 500 ppm es 126 excesos de cáncer por 1000 trabajadores; claramente, la norma de 25 ppm efectuará una reducción substancial en un riesgo muy alto. El Análisis económico final muestra que el riesgo promedio a los niveles de exposición actuales es aproximadamente 7.6 muertes por 1000 y alcanza hasta 126 por 1000; a niveles de exposición post reglamentarios (que justifican el hecho de que el nivel de acción estimulará a algunos patronos, donde sea factible, a bajar las exposiciones a bajo 25 ppm), el riesgo promedio se estima que sea 1.7 muertes por 1000 (y en ningún caso más alto que un riesgo de 3.62 por 1000 al nuevo PEL de 25 ppm)-también una reducción substancial de un riesgo altamente significativo.

Antes de la reapertura del expediente de 1955, había fuerte evidencia de apoyo a la determinación de que el CM es un carcinógeno humano, usando modelos de avalúo de riesgos basados sobre evidencia y teorías substanciales biológicamente basada: hubo dos bioensayos positivos multisitio con tendencias de dosis-respuesta y bajo trasfondo y epidemiología sugestiva sin epidemiología claramente confligente. La única pregunta era si usar una escala dosis-administrada o un modelo PBPK.

Los datos sometidos en la reapertura del expediente a finales de 1995 aclaró la identificación de riesgo y el avalúo de riesgo cuantitativo. Los estudios de actividad isoenzimática y la distribución intracelular a través de las especies fueron interpretadas por la Halogenated Solvents Industry Alliance (HSIA) para sugerir que el CM no es un carcinógeno humano. OSHA ha concluido que la interpretación de HSIA de los estudios no está apoyada por evidencia. Hay numerosos problemas metodológicos con los estudios: por ejemplo, en el experimento en el cual Graves et al. examinaron las mutaciones inducidas por CM [Ex. 123], OSHA está de acuerdo con el Dr. Douglas Bell [Ex. 126-26] en que se examinó un número de dosis y mutaciones examinados para alcanzar cualquier conclusión en relación a las diferencias en el espectro de las mutaciones entre químicos.

Más importantemente, OSHA y la mayoría de los comentaristas estuvo de acuerdo en que los datos mostraron una diferencia cuantitativa y cuantificable- entre ratones y humanos, no una infinita, cualitativa. En otras palabras, hay evidencia substancial de que los humanos y los ratones metabolizan CM similarmente, sólo a índices diferentes. El argumento cualitativo de HSIA descansa sobre dos asunciones cuestionables, ambas de las cuales están contradichas por otros datos: primero que la prueba de la rotura de hebra sencilla de DNA es infinitamente sensible-pero los investigadores ni siquiera saben si es lo suficientemente sensible para mostrar la diferencia de siete veces en actividad enzimática entre ratones y humanos que usa el principal análisis de PBPK de OSHA; y segundo, que la isoenzima humana más activa contra el CM, aunque está claramente presente en las células humanas, está localizada en una parte diferente de la célula. Esta interpretación: 1) contradice algunas creencias básicas de fisiología comparada (¿Por qué las estructuras de las células de humanos y ratones serían tan fundamentalmente diferentes?); 2) requeriría que OSHA hiciera un

"análisis PBPK subcelular" para predecir riesgo-nadie ha desarrollado, ni mencionar parametrizado ni validado, tal como un modelo; y 3) contradice otros datos sobre activación mediante preparaciones citosólicas de ratón- se ha mostrado que el CM tiene mutagenicidad aumentada en las preparaciones de células bacteriales y mamíferas cuando se usó preparaciones citosólicas de ratón para metabolizar el CM. Esto requiere metabolismo mediante GST citoplásmico (no nuclear), y para que los metabolitos sean lo suficientemente estables para cruzar membranas e interactuar con DNA.

Por lo tanto, los nuevos estudios no traen dudas sobre la identificación del riesgo de CM-de hecho, debieran probablemente aumentar el nivel de preocupación porque ahora está más claro que el CM es probable que actúe mediante un mecanismo genotóxico [las pruebas en animales son más relevantes a humanos cuando hay envueltos claros agentes genotóxicos] y que existen pasajes en humanos y pueden estar concentrados en células de preocupación en cánceres humanos, tales como el epitelio del conducto biliar. OSHA señala que un estudio epidemiológico de los trabajadores de fibra de triacetato de celulosa ha mostrado un aumento estadísticamente significativo en tumores del conducto biliar [Ex. 7-260].

De la otra mano, los nuevos datos reforzaron la decisión de reforzar la decisión de OSHA para proceder con el avalúo de riesgo basado sobre PBPK y ayudaron a OSHA a incorporar los mejores datos científicos disponibles al modelo PBPK. Aquí OSHA presenta dos análisis de riesgo basados sobre PBPK, ambos de los cuales representan refinamientos substanciales sobre el avalúo de riesgo de dosis aplicada y sobre los análisis PBPK previos. El avalúo de riesgo final de OSHA incorpora toda los datos confiables-el análisis alternativo de OSHA, además de los datos en el avalúo de riesgo final, también incorpora algunos datos sugestivos/escasos hallados en nuevos estudios, Según establecido anteriormente, ambos análisis estiman el riesgo a 25 ppm muy en exceso de cualquier línea límite posible entre el riesgo significativo e insignificante.

Ambos análisis PBPK de OSHA hicieron dos avances periciales: 1) el uso de simulación Monte Carlo no independiente es una técnica de computación bien desarrollada que permite al modelador tomar estimados de incertidumbre en cada una de las variables principales en un modelo complejo y generar un estimado cuantitativo de la incertidumbre total en el resultado. Otros han usado la simulación Monte Carlo en modelado PBPK, pero OSHA añadió información sobre la estructura covariante de todos los parámetros, de modo que el estimado de incertidumbre no estuviera parcializado (exagerado, probablemente), asumiendo incorrectamente que todas las variables pudieran estar simultáneamente en sus valores más bajos o más altos; y 2) el uso de análisis Bayesian-esto permite distribuciones de incertidumbre a un mejor estimado (limitado), intercotejándolos contra otros datos independientemente recopilados, en vez de simplemente adivinar cuán grandes sean las incertidumbres y no refinar los estimados según corre el modelo.

Ambos de estos avances hacen posible que OSHA consiga un mejor balance entre dos extremos insatisfactorios-a) la sobreconfianza extrema de usar estimados para cada variable que no permita para alguna incertidumbre-o b) la extrema "bajoconfianza" de asumir que todas las incertidumbres

son independientes unas de otras y otros datos de laboratorio. El resultado es un análisis que dice lo que la ciencia sabe y lo que no sabe sobre la relación entre concentraciones ambientales y medida de dosis relevante putativa (concentración de metabolitos de GST en el órgano blanco), en ratones y humanos.

Nuevamente, el avalúo de riesgo final de OSHA considera la muy limitada base de datos humanos sobre GST-0 actividad (un total de 39 muestras de hígado y cinco muestras de pulmón), como útil, pero insuficiente para descartar la asunción "alométrica" tradicional (la asunción bien validada de que, como regla general, la escala de parámetros metabólicos proporcional a una función del peso del cuerpo del animal). El análisis alternativo de OSHA acepta los datos humanos limitados como valor nominal para extrapolar sin usar alometría. OSHA ha concluido que el principal análisis está mejor apoyado por la evidencia disponible que el análisis alternativo, pero ambos resultan en riesgos significativo. Una advertencia importante es que ambos modelos son estrictamente aplicables a humanos que sean fisiológicamente similares a los seis sujetos analizados por Dow (véase la discusión más adelante en este documento para una explicación más completa). Ya que la población de 200, 000 trabajadores será mucho más heterogénea que la de los seis trabajadores, consideramos estos estimados como "sobreconfiados"-algunos trabajadores expuestos a 25 ppm tendrán riesgos más altos de 3.6 por 1000 (aunque algunos pueden tener riesgos más bajos también).

Introducción

OSHA realiza avalúo de riesgo cuantitativo, cuando la información lo permite, para ayudar a determinar el Límite de Exposición Permissible (PEL) para sustancias tóxicas (contingente en la determinación de factibilidad). El primer paso de evaluar riesgos a la salud humana es la identificación de riesgos. Este primer paso resulta en la determinación de que una exposición cause, sea probable que cause, o sea improbable o incapaz de causar, uno o más efectos adversos a la salud en los trabajadores. Esta identificación también muestra qué estudios tienen datos que permitirían la estimación cuantitativa de riesgo.

Si hay estudios disponibles que contengan información en relación a la cantidad de exposición y enfermedad, el modelado matemático permite la extrapolación de la información en el estudio a las condiciones de preocupación en el lugar de trabajo. OSHA usa estos estimados de riesgo para determinar si la exposición resulta en riesgo significativo, y si las normas consideradas por OSHA reducen substancialmente el riesgo.

Esta sección describe la evidencia del expediente recibida durante la reglamentación pública concerniente al avalúo de riesgo cuantitativo y a las razones que OSHA ha mantenido o modificado su opinión de la propuesta. En las siguientes secciones, la evidencia de apoyo y que causa dudas sobre la hipótesis de que el CM es un probable carcinógeno (los asuntos de "Identificación de riesgo") está discutida primero. Luego se discute los resultados de avalúo de riesgo cuantitativo conducidos para estimar la potencia de carcinogenicidad del CM.

A. Identificación de riesgo de cloruro de metileno

La evidencia de animales y humanos resumida en la sección de efectos a la salud indica que el CM puede causar cáncer, efectos cardíacos, daño al sistema nervioso central y otros efectos a la salud. Según descrito en el NPRM, el avalúo de riesgo cuantitativo preliminar estuvo basado sobre cáncer y datos de bioensayos en roedores para la cuantificación del riesgo. En 1986, el National Toxicology Program (NTP), concluyó que los datos de bioensayos sobre ratones proveen "clara evidencia" de carcinogénesis en los ratones machos y hembras, basado sobre tumores del hígado y pulmones. El NTP también determinó que los tumores mamarios en ratas observados en los bioensayos proveyó clara evidencia de carcinogénesis en las ratas hembras y alguna evidencia de carcinogénesis en las ratas machos. Esta evidencia de cáncer en múltiples especies y en ambos sexos es subyacente a la preocupación de CM como un carcinógeno potencial humano. Sobre las bases de estos estudios, IARC ha clasificado el CM como un carcinógeno B2, EPA ha clasificado el CM como un carcinógeno B2 y NIOSH ha clasificado el CM como un carcinógeno ocupacional potencial, y OSHA concurre con estos avalúos.

Los bioensayos con animales son una herramienta crítica en la determinación del riesgo potencial de una sustancia para humanos. Virtualmente todas las sustancias tóxicas que se ha determinado que son carcinogénicas en humanos también son carcinogénicas en animales de laboratorio. Aunque es posible que una sustancia pueda ser carcinógena en una especie de laboratorio, pero no en humanos, es razonable sospechar que las sustancias que causan cáncer en múltiples especies animales, pero no en humanos. Por lo tanto, en ausencia de estudios epidemiológicos negativos de suficiente peso, o estudios mecanísticos que demuestren que el mecanismo carcinogénico de acción de una sustancia es irrelevante a humanos, OSHA y otras agencias federales confían en bioensayos bien conducidos y de alta calidad como la principal base para su identificación de riesgo y avalúo de riesgo. Este es el caso con el CM.

Durante esta reglamentación, algunos comentaristas han apoyado y otros han cuestionado la identificación de riesgo de CM como un carcinógeno humano potencial. Más recientemente, algunos comentaristas cuestionaron la relevancia de los datos de bioensayos con ratones para extrapolarse a riesgos de cáncer humano. Aunque estos asuntos fueron traídos por algunos participantes anteriormente en el proceso de la reglamentación, fueron los más cuidadosamente explorados en conexión con la información recibida por la Agencia a finales de 1995. El 24 de octubre de 1995, OSHA reabrió el expediente de CM para recibir comentarios sobre varios estudios sometidos a la Agencia por la Halogenated Solvents Industry Alliance (HSIA), pertinentes al mecanismo de acción de la carcinogénesis en ratones y las implicaciones de estos estudios para estimar riesgos humanos. El expediente cerró el 29 de noviembre de 1995, pero fue reabierto para dar al público oportunidad adicional para comentar sobre los estudios sometidos. El expediente luego cerró el 29 de diciembre de 1995. Se recibió y revisó 37 comentarios sobre este tópico como parte de esta reglamentación.

Los papeles sometidos por HSIA consistieron en una carta de presentación [Ex. 117], una revisión de la investigación auspiciada [Ex. 118] y siete estudios de investigación sobre el mecanismo de carcinogénesis del CM [Ex. 119-124A]. La hipótesis bajo investigación en estos siete estudios fue que los pasajes del metabolismo de CM y el mecanismo de carcinogénesis en el ratón representó una situación única que no hubiera tenido lugar en humanos, haciendo al ratón inapropiado como la base para la extrapolación de riesgos de cáncer en humanos. Los estudios específicos están descritos brevemente aquí y los comentarios recibidos durante la reapertura del expediente de reglamentación están descritos brevemente aquí y los comentarios recibidos durante la reapertura del expediente de reglamentación están discutidos en detalle a continuación.

1. Sumario de estudios sometidos por HSIA

Exhibit 119 "Cloruro de Metileno: un estudio de inhalación para investigar la toxicidad en los pulmones del ratón usando técnicas morfológicas, bioquímicas y cultivo de célula Clara," J.R. Foster, T. Green, L.L. Smith, S. Tittensor y Wyatt, Toxicology 91 (1994) 221-234.

Este estudio investigó el rol potencial del CM como un carcinógeno pulmonar en ratones via mecanismo no genotóxico y de la célula Clara como la célula de origen en cáncer pulmonar en el ratón. La hipótesis fue que el CM actúa específicamente para producir toxicidad (vacuolización), en células Clara que lleva a la proliferación de células y a la producción de tumores pulmonares en el ratón. Los autores investigaron la toxicidad del CM en células bronquiales Clara midiendo la producción de vacuolos después de la exposición a CM. Los investigadores también midieron la síntesis de DNA en las células Clara aisladas de los ratones expuestos a CM como una medida de proliferación celular.

Los autores observaron una vacuolización transitoria de células bronquiales Clara en ratones expuestos a 2000 y 4000 ppm de CM, pero no en ratones expuestos a 0, 125, 250, 500 o 1000 ppm CM. Cuando el pasaje de oxidasa de función mixta (MFO), fue inhibido, la vacuolización de célula bronquial observada después de la exposición a 2000 y 4000 ppm de CM fue reducida. La inhibición del pasaje de glutatión S-transferasa (GST), no tuvieron efecto sobre la vacuolización de célula Clara. Los investigadores también hallaron que la exposición a ratones a 1000 ppm de CM o mayor por seis horas indujo un aumento en síntesis de DNA en células Clara cultivadas *in vitro* de animales expuestos.

Las células Clara están presentes en ratones, ratas y humanos, pero parecen ser más abundantes en ratones que en otras especies. Las células Clara contienen enzimas para los pasajes de MFO y glutatión S-transferasa (GST) del metabolismo de CM. De acuerdo con los autores, los resultados de este estudio sugieren que el metabolismo de CM via el pasaje MFO induce a una toxicidad transitoria en las células Clara y un aumento transitorio en síntesis de DNA.

Exhibit 120 "Daño al DNA inducido por Cloruro de metileno: una comparación interespecie," R.J. Graves, C. Coutts y T. Green, Carcinogenesis, vol. 16 no. 8 pp. 1919-1926, 1995.

Este estudio investigó el rol del CM como un carcinógeno de ratón via un mecanismo de acción genotóxico. La hipótesis bajo investigación fue que el CM es metabolizado a un carcinógeno genotóxico via el pasaje GST a diferentes extensiones en diferentes especies y que la expresión de esta genotoxicidad se correlaciona al riesgo de desarrollar cáncer a través de las especies y que la expresión de esta genotoxicidad se correlaciona con el riesgo de desarrollar cáncer a través de las especies. Los autores usaron la producción de roturas de DNA de hebra sencilla (ss) como medida de genotoxicidad. Los investigadores midieron las roturas del DNA en células pulmonares y hepáticas de ratones, ratas, cricetos y humanos. Ellos observaron roturas de DNA ss en células pulmonares de ratón, después de la exposición *in vivo* a 2000-8000 ppm CM por seis horas y en células pulmonares de ratón después de la exposición a 2000-6000 ppm de CM. La reducción de glutathione en el hígado (después de la administración de butionina sulfoximina) redujo la cantidad de roturas de ss observadas. No se observó aumento en roturas de hebras ss en las células Clara aisladas de los ratones expuestos a CM *in vivo*. Sin embargo, en experimentos en células Clara aisladas de ratones, los autores observaron aumentos en roturas de ss de DNA en células expuestas a concentraciones de CM de 5 mM y más altas.

No se detectó roturas de ss sobre los niveles de control en el hígado de las ratas después de la exposición a 4000 ppm por seis horas o en pulmones de ratas por tres horas. Tampoco se detectó aumentos de rotura de ss en células hepáticas de cricetos y humanos después de la exposición *in vitro* a concentraciones de hasta 90 y 120 mM.

En células ováricas de cricetos chinos (CHO), el citosol hepático de ratón mas CM (que contiene enzimas GST), también indujo roturas de ss, mientras que la incubación de las células CHO con CM en la presencia de microsomas hepáticos de ratón (que contienen las enzimas MFO), no aumentó las roturas de ss.

Los resultados sugieren que las células hepáticas y pulmonares son más susceptibles a las roturas de ss inducidas por CM que las células de las ratas, ratones o humanos. Asumiendo que las roturas de ss sean una substitución relevante para carcinogenicidad, los autores infieren de este estudio que los humanos, ratas y cricetos son insensibles al cáncer hepático inducido por CM, porque estas especies carecen de actividad metabólica GST de alto nivel hallada en las células hepáticas del ratón y las células Clara pulmonares.

Exhibit 121 "Aislación de dos tetha glutathione S-transferasa activa con cloruro de metileno," G.W. Mainwaring, J.Nash y T. Green, Zeneca Central Toxicology Laboratory, 1995.

Este estudio fue conducido para caracterizar los resultados de isozimas GST de ratón responsables del metabolismo de CM. Los resultados de este trabajo pudieran ser usados para explorar la

hipótesis de que una isozima GST particular fue responsable de metabolizar CM para el metabolito carcinogénico y de que hubiera concentraciones diferentes de esta enzima a través de las especies. Los investigadores usaron una variedad de métodos de cromatografía para aislar dos glutathione S-trasferasa (MT-1 y MT-2, también conocido como T1-1* y T2-2*, respectivamente), el cual metaboliza CM, comparando la actividad de enzima observada con la descrita en ratas. Las ratas se halló previamente que tenían dos isómeros GST en la clase tetha (GST 5-5 y GST 12-12), los cuales metabolizaron CM. Las enzimas MT-1 y MT-2 se halló que están estrechamente relacionadas a la rata GST 5-5 y 12-12 respectivamente, y la actividad específica del ratón MT-2 se halló ser similar a la rata GST 5-5. La GST 12-12 y MT-2 se halló que son extremadamente lábiles durante la purificación y así las actividades específicas de esas isozimas no han sido medidas.

Los resultados de este estudio sugieren la concentración de enzimas GST tetha similares en secuencia de aminoácidos y en actividad específica (GST 5-5 y MT-1). Los autores postularon que la mayor actividad de conjugación vista en ratones en otros estudios es "probablemente debida a la diferencia en expresión de la enzima o a una contribución de MT-2" [Ex. 121].

Exhibit 122 "Metabolismo mediado de glutathione S-trasferasa de hígado de ratón de cloruro de metileno a un mutágeno en el ensayo CHO/HPRT ," R.J. Graves y T. Green, Zeneca Central Toxicology Laboratory, 1995.

Este estudio investigó la mutagenicidad del CM como mecanismo de acción carcinogénica potencial. Los propósitos de este estudio fueron aclarar la capacidad del CM para actuar como mutágeno, porque los estudios en sistemas mamíferos han rendido resultados mixtos en relación a la mutagenicidad del CM y para caracterizar más completamente el metabolito implícitamente responsable de la mutagenicidad del CM comparando los resultados a formaldehído (un metabolito de CM mediante el pasaje GST). La mutagenicidad fue medida evaluando células CHO *in vitro* para mutaciones en el sitio HPRT de DNA. Las roturas de ss de DNA también fueron monitoreadas. Las células fueron expuestas en cultivo a metabolitos citosol de CM de ratón (lo que incluye enzimas metabólicas para GST pero no el pasaje MFO), formaldehído (uno de los metabolitos GST del CM), o 1,2-dibromoetano (1,2-DBE) (una genotoxina de referencia).

Usando técnicas estándar, los metabolitos GST del CM se mostró que son débilmente mutagénicos usando el avalúo CHO/HPRT. El formaldehído también se determinó ser débilmente mutagénico en este avalúo, pero el efecto no fue tan grande como con los metabolitos GST de CM. 1,2-DBE, según esperado, mostró una potente respuesta mutagénica. La mutagenicidad de los metabolitos GST del CM y formaldehído fue aumentada cuando la aumentó la densidad celular, las células fueron expuestas en suspensión en lugar de según adheridas a cultivos y la concentración de citosol fue optimizada.

Los metabolitos citosol hepáticos se observó que aumentan las roturas de ss de DNA en las células CHO expuestas en suspensión, pero causaron sólo aumentos marginales en los eslabones cruzados de proteína DNA. También se vió ligeros aumentos en la rotura de ss de DNA con exposición ya fuera

a CM solo, o a la fracción citosol sola.

Basado sobre una comparación de los efectos mutagénicos de los tres compuestos, particularmente sobre la falta de eslabonado cruzado de proteína DNA inducido por CM, los autores concluyeron que el formaldehído no tiene un rol mayor en la mutagenicidad del CM. De conformidad, los investigadores vieron los resultados de este estudio como que apoyan la hipótesis de que las roturas de ss de DNA inducidas por CM y las mutaciones de DNA resultantes son causadas por la interacción de la S-clorometil-glutathione (formada por el pasaje GST), con DNA.

Exhibit 123 "Análisis de secuencia de DNA de mutaciones HPRT inducidas por cloruro de metileno en células CHO: comparación con el espectro de mutaciones obtenido para 1,2-dibromoetano y formaldehído," R.J. Graves, P. Trueman, S. Jones y T. Green, Zeneca Central Toxicology Laboratory, 1995.

El propósito de este estudio fue describir los tipos de mutaciones inducidas por CM para caracterizar subsiguientemente el metabolito GST con probabilidad de causar mutaciones de CM y por lo tanto, quizá sea responsable de la carcinogenicidad del CM en el ratón. El espectro de mutaciones en el sitio HPRT de DNA de CHO inducidas por CM mas citosol hepático de ratón fue comparado a las mutaciones inducidas por formaldehído (un metabolito GST de CM), o 1,2-dibromoetano (1,2-DBE, una genotoxina de referencia).

Los resultados fueron expresados como análisis de secuencia de 11 mutaciones inducidas por CM y 13 mutaciones inducidas por 1,2-DBE. Al comparar la distribución de tipos de mutaciones, los resultados sugirieron a los investigadores que el daño al DNA inducido por formaldehído puede contribuir a la mutagenicidad del CM, pero que la mayoría de las mutaciones fueron derivadas de otros tipos de daño al DNA, probablemente via una interacción de S-clorometilglutathione con DNA. Los investigadores señalaron que un conjugado de glutathione también representa un papel en la mutagenicidad de 1,2 DBE. Los aumentos sobre la frecuencia de mutación de trasfondo detectados a través de este estudio fueron 24.7 veces para 1,2-DBE, 4.7 veces para formaldehído y 8 veces para CM.

Exhibit 124 "La distribución de glutathione S-transferasa 5-5 en los pulmones e hígado de ratones, ratas y humanos" [Comunicación preliminar, T. Green, 1995].

Exhibit 124A "La distribución de glutathione S-transferasa clase tetha en el hígado de ratón, rata y humano. "G.W. Mainwaring, S.M. Williams, J.R. Foster y T. Green, 1995.

La comunicación preliminar [Ex. 124] y el informe no publicado que siguió [Ex. 124A] resumieron los resultados de un estudio de comparación de la distribución inter e intracelular del RNA mensajero (mRNA), para una isozima glutathione S-transferasa (GST) que metaboliza CM en los pulmones e hígado de ratones, ratas y humanos. El propósito de los experimentos resumidos en estos informes fue describir la distribución del mRNA para la isozima GST tetha que se cree que sea

responsable del metabolismo de CM a un metabolito carcinogénico en diferentes

especies. Los investigadores creyeron que las diferencias en distribución del mRNA para esta isozima se correlacionaría con las diferencias en distribución (y actividad) de la isozima misma, y pudiera explicar las diferencias en las sensibilidades de las especies a la carcinogenicidad del CM.

La distribución de GST theta mRNA fue visualizada usando sondas anti-sentido de oligonucleótidos de DNA complementaria a las secuencias de nucleótidos para las isozimas GST theta. Esta técnica es usada para visualizar la codificación de mRNA transcrita del DNA que contiene el gene para la proteína específica. Después de la transcripción, el mRNA es transportado a la secuencia de aminoácidos que se vuelve la proteína específica (en este caso, la isozima GST theta). La proteína terminada migra entonces a su sitio final de actividad final dentro de la célula. La localización del mRNA no corresponde a la localización de la proteína específica.

Los resultados del estudio mostraron que el mRNA pudiera hallarse en los pulmones e hígado de las tres especies. Las células hepáticas del ratón (particularmente los nucleolos) y las células pulmonares de los ratones parecieron (de fotomicrografías mostradas en el artículo), manchar más fuertemente para el mRNA GST que las células pulmonares o hepáticas de ratas o humanos. Aunque la cantidad de mRNA específica de sitio no fue cuantificada en este estudio, los autores interpretaron las fotografías como que sugieren que " * * * los tejidos de ratón están teñidos mucho más fuertemente que las secciones de rata o humano." Basado sobre la distribución intracelular e intercelular del GEST mRNA, los autores declararon:

Los hallazgos más significativos son la presencia de muy altas concentraciones de GEST 5-5 mRNA en células específicas y nucleolos de hígado y pulmones de ratón. El metabolismo del cloruro de metileno a índices elevados y dentro de los nucleolos a un conjugado glutathione altamente inestable se cree que facilite la alkylation del DNA por este metabolito. La falta de concentraciones de GEST 5-5 altas o nucleares en tejido humano o de rata provee explicación de la falta de genotoxicidad en estas especies. [Ex. 124]

En la carta de submisión de estos estudios resumidos anteriormente a OSHA, HSIA caracterizó los estudios como sigue:

Esta investigación, que ahora está completa, muestra que los ratones B6C3F1 * * * son únicamente sensibles a altos niveles de exposición a cáncer pulmonar y hepático inducido por cloruro de metileno y que otras especies, incluyendo a los humanos, no tienen riesgo similar. [Ex. 117]

Continuaron para concluir que:

Como resultado de este programa de investigación, parece que no hay condiciones previsibles de la exposición humana en las cuales los efectos carcinogénicos vistos en ratones se esperaría que ocurriera en humanos * * * El avalúo de riesgo que es la base para la norma de cloruro de metileno, que a su vez está basado sobre la incidencia aumentada de tumores pulmonares y hepáticos observada en el bioensayo de ratón, deben descartarse a favor de datos científicos que sean

relevantes al riesgo humano.

En respuesta a la petición por HSIA, OSHA ha revisado la identificación de riesgo de cáncer del CM basado sobre toda la evidencia en el expediente de CM, con énfasis particular sobre la validez de la conclusión establecida inmediatamente antes. La revisión se presenta a continuación.

2. Carcinogénesis del cloruro de metileno

a. Evidencia en animales. Se ha conducido varios bioensayos de CM a largo plazo y están resumidos en la sección de Efectos a la salud. Esto incluye estudios los cuales la ruta de exposición fue la inhalación [Burek et al., Ex. 4-25, 4-35] y dos estudios en los cuales la ruta de exposición fue el agua de beber [National Coffee Association Exs. 7-30, 3-31]. Para garantizar la consideración completa de los datos, OSHA analizó en su avalúo preliminar todas las series de datos que mostraron una incidencia elevada en tumores en un grupo expuesto a CM, comparado a controles, ya fuera o no la elevación de respuesta de tumores estadísticamente significativas. Este análisis y las series de datos usados fueron descritos en detalle en el NPRM.

En el bioensayo de NTP [Ex. 4-35], se expuso a grupos de 50 ratones B6C3F1 de cada sexo mediante inhalación a 0, 2000 o 4000 ppm de CM. Se expuso a grupos de 50 ratas F344/N de ocho semanas de cada sexo a CM a concentraciones de 0, 1000, 2000 o 4000 ppm. Las exposiciones por inhalación fueron administradas seis horas al día, cinco días a la semana por 102 semanas. Se proveyó alimento a los animales ad libitum, excepto durante los períodos de exposición, mientras que el agua estuvo disponible en todo tiempo mediante un sistema aguador automático. Todos los animales fueron observados dos veces al día para mortalidad y los animales moribundos fueron sacrificados. Se realizó exámenes clínicos una vez en semana por 3.5 meses, luego dos veces al mes por 4.5 meses y una vez al mes a partir de entonces. Cada animal fue también pesado semanalmente por 12 semanas, luego mensualmente hasta al conclusión del estudio a las 102 semanas. Todos los animales fueron necropsiados e histológicamente examinados. Se observó que tres diferentes lesiones neoplásticas tuvieron incidencia significativamente aumentada sobre los controles: adenomas y carcinomas de los pulmones en ratones machos y hembras, adenomas y carcinomas del hígado en ratones machos y hembras y fibroadenomas de las glándulas mamarias y fibromas en las ratas machos y hembras.

HSIA y otros arguyeron que los tumores benignos, especialmente los tumores mamarios en las ratas, no debieran contarse como una respuesta carcinogénica. El NTP ha tratado el asunto en su Informe Técnico [Ex.4-35] y ha concluido que los tumores benignos mamarios observados en las ratas hembras F344 son "clara evidencia" de carcinogenicidad y señaló que tales tumores pueden proceder a la malignidad. OSHA está de acuerdo con esta determinación y ha considerado los tumores mamarios en ratas como parte de su identificación de riesgo de cáncer para CM. Sin embargo, el avalúo de riesgo cuantitativo de OSHA no considera las respuestas de tumores mamarios en ratas.

OSHA cree que los estudios NTP proveen la evidencia más fuerte de carcinogenicidad de CM en

animales. Muchos comentaristas y participantes en la vista [Exs. 19-46, 7-128, 7-126, 25-E, 126-11, 126-12, 126-16 y otros], apoyaron el uso del estudio de ratón como la base para avalúo de riesgo cuantitativo. Hay varias razones para esto descritas en la propuesta y antes en este documento. Resumiendo, el estudio NTP usaron procedimientos de operación estándar bien establecidos que son generalmente considerados como predictor de una respuesta carcinogénica potencial en humanos. Este estudio también replicado por un segundo bioensayo parcial, conducido por NTP, en los cuales grupos de ratones hembras fueron expuestos a 2000 ppm de CM por dos años. Se observó aumentos estadísticamente significativos en tumores alveolares/bronquiales y hepatocelulares. [Ex. 27].

Antes de la reapertura de 1995 del expediente, algunos comentaristas habían traído argumentos específicos sobre el porqué un estudio de ratón pudiera no precedir una respuesta carcinogénica humana al CM. El Sr. Krenson de Besway Systems [Tr. 397, 9/17/92] objetó a que OSHA usara el estudio de ratón de NTP como las bases para establecer los PELs para CM. El creyó que el ratón era irrelevante al riesgo humano porque las dosis usadas eran "extremadamente altas" y él creyó que las pruebas conducidas en ratas, cricetos y las investigaciones epidemiológicas en humanos no mostraron "prueba concluyente de cáncer en seres humanos." OSHA está en desacuerdo con la conclusión del Sr. Krenson. En general, las altas dosis en los bioensayos de roedores son apropiadas para obtener una respuesta debida a las limitaciones prácticas sobre el número de animales que puede ser usado en un estudio. En CM, no se observó toxicidad aguda a los niveles usados en el estudio, lo que es un indicio de que las dosis no eran demasiado altas. El uso de altas dosis en estudios de bioensayo es común y su necesidad práctica ha sido afirmada por numerosos cuerpos expertos, incluyendo varios comités de la National Academy of Sciences. Además para cada carcinógeno humano conocido, se obtuvo los resultados positivos a altas dosis de roedores. También, la comparaciones cuantitativas, según conducidas por Allen and Cramp en 1988, demostraron que, en general, las observaciones de potencia de cáncer de los estudios epidemiológicos están de acuerdo con los estimados de potencia derivados de los datos de bioensayos de roedores. En el caso de CM, los tumores en exceso significativo fueron observados en ratones después de la exposición sólo 2000 ppm, o sólo cuatro veces el antiguo PEL de 500 ppm (TWA de ocho horas), y el exceso en tumores fue visto en ratas a 4000 ppm. Este nivel está dentro del alcance de las exposiciones humanas experimentadas en los escenarios ocupacionales. Ciertamente, las exposiciones más bajas que muestran efectos substanciales no fueron "extremadamente altas" en relación al límite de exposición, según adujo el Sr. Krenson.

LA HSIA y varios otros [Exs. 117, 126-1, 126-3, 126-5, 126-6, 126-8, 126-10, 126-13, 126-20, 126-21, 126-29), también objetaron al uso de datos sobre ratones como la base para el avalúo del riesgo humano, basado sobre el mecanismo de los estudios de acción sometidos a la Agencia por HSIA el 6 de diciembre de 1995. El análisis de OSHA de los estudios individuales sigue, pero en general, la Agencia ha determinado que los datos sobre cáncer de ratón son apropiados para el avalúo de los riesgos de cáncer a humanos (aunque, según discutido más adelante en esta sección, OSHA ha hecho uso excesivo de los datos sometidos para modificar los estimados de riesgos derivados del modelo de ratón).

b. Evidencia pertinente a los mecanismos de acción del cloruro de metileno. Varias líneas de evidencia se relacionan al mecanismo de carcinogénesis del CM. Los asuntos discutidos en los estudios por HSIA y los comentarios subsiguientes pueden derivarse a los pertinentes a genotoxicidad, aquellos que discuten modelos de acción no genotóxica potencial y aquellos relacionados al metabolismo enzimático del CM. Aunque algunos comentarios traslapan estas divisiones, esta organización es usada para en esta discusión para simplificar la consideración de este asunto.

(1) Genotoxicidad. No se ha demostrado concluyentemente que el CM o sus metabolitos actúen como mediante un mecanismo genotóxico en ratones y ratas. Los aductos específicos de DNA, que están entre la evidencia más fuerte de genotoxicidad directa, no han sido identificados de la exposición a CM. Sin embargo, se ha acumulado evidencia de que el CM es probable que sea carcinogénico a través de un mecanismo de acción genotóxico. Por ejemplo, se ha demostrado el cruce eslabonado de proteína de DNA en hígado de ratón [Ex. 21-16], aumentos en la síntesis de DNA no programada en pulmones de ratón [Ex. 126-25] y se ha observado otra evidencia de interacción de metabólica del CM con DNA de mamífero (tal como aumento en roturas de ss de DNA). No es necesario que una sustancia se enlace covalentemente con DNA para actuar vía un mecanismo genotóxico, aunque la evidencia de enlace covalente es un fuerte indicio de genotoxicidad. En el caso del CM, aunque los metabolitos reactivos se presume que ejerzan un efecto genotóxico mediante el enlace con DNA, aún no se ha identificado aductores metabolito-DNA del CM. Los aductores de RNA han sido identificados después de la exposición a CM, lo que apoya la hipótesis de que el CM actúa como un mecanismo genotóxico. Los aductores específicos de DNA tampoco han sido identificados para otros carcinógenos que se presume que actúen vía mecanismo genotóxico.

Además, según discutido en la sección de Efectos a la salud, se ha hallado que el CM es mutagénico en sistemas bacteriales, levaduras *Drosophila* y mamíferos; asociado a aberraciones cromosomales en células CHO; y asociado con intercambio de cromátidas hermanas en los sistemas de cultivo de células de mamíferos, tales como células CHO y V79.

Las investigaciones del papel de los metabolitos en el pasaje de GEST en la mutagenicidad bacteriana del CM halló cepas deficientes de glutathione de *Salmonella typhimurium*, las mutaciones reducidas por CM fueron reducidas [Ex. L107].

Los índices de mutaciones fueron reducidos a lo normal cuando las bacterias fueron suplementadas con glutathione exógeno. Este estudio apoya la hipótesis de que el CM puede actuar como carcinógeno genotóxico vía sus metabolitos GEST, aunque un estudio de diseño similar por Dillon et al. [Ex. 21-89], no duplican estos resultados.

(i) Mutaciones inducidas por CM. Los estudios sobre el mecanismo de CM de carcinogénesis

incluyeron a dos estudios sobre las mutaciones inducidas por CM en el estudio de CHO/hypoxanthine phosphoribosyl transferasa (HPRT). En el estudio de 1995 por Graves et al. [Ex. 122], los investigadores compararon las mutaciones inducidas por CM con aquellas inducidas por formaldehído y 1,2 dibromoetano. Los autores caracterizaron los resultados de los estudios como sigue:

Usando estudios de CHO/HPRT hemos mostrado que el CM es metabolizado a un mutágeno por cystosol hepático en una reacción que depende de GEST y GSH. La mutagenicidad fue aumentada exponiendo las células a alta densidad en suspensión en vez de como cultivos adheridos, lo que es consistente con la corta vida de los metabolitos críticos.

Los autores también observaron que las mutaciones inducidas por CM estuvieron asociadas con un aumento en roturas de ss de DNA vistas en otros tipos de células están asociadas con daño al DNA que puede llevar a mutación."

Los autores también observaron que las mutaciones inducidas por CM estuvieron asociadas con un aumento en roturas de ss de DNA. Ellos comentaron: "Los resultados sugieren que las roturas de ss de DNA inducidas por CM vistos en otros tipos de células están asociados con daño al DNA que puede llevar a mutación."

En un seguimiento al estudio CHO/HPRT, Graves et al, [Ex. 123] condujeron un análisis de secuencia de mutaciones HPRT en células CHO, comparando el espectro de mutaciones inducidas por CM con aquellas inducidas por 1,2-dibromoetano o formaldehído. Los investigadores analizaron 28 mutaciones HPRT: 13 de experimentos con dibromoetano, 6 de experimentos con formaldehído y 11 de experimentos con CM. Los autores caracterizaron sus resultados como sigue:

Todos los compuestos principalmente mutaciones punto, con un pequeño número de inserciones y eliminaciones. * * * Los resultados de secuencias de mutaciones para CM sugieren que el formaldehído también puede tener un papel en la mutagénesis del CM, aunque la mayoría de las mutaciones surgen de otros tipos de daño al DNA, probablemente aductores de DNA formados por la reacción de S-clorometil glutathione, con DNA.

El Dr. Douglas A. Bell de NIEHS [Ex. 126-26] tenía comentarios específicos en relación al estudio sobre los espectros de mutación [Ex. 123]. El declaró:

Este experimento es extremadamente débil, científicamente y de calidad impublicable. Es improbable que un experimento tan ingenuo pudiera detectar diferencias en espectros entre los diferentes químicos probados. Para probar la hipótesis de que hay mutaciones específicas de químicos requiere el análisis de cientos de mutantes a diferentes dosis. Esta prueba no contiene información útil para avalúo de riesgo.

OSHA está de acuerdo con el Dr. Bell en que hay serios problemas metodológicos con el estudio. La Agencia también está de acuerdo con el Dr. Bell en que la información importante en estos dos estudios es que el CM aumenta la frecuencia de las mutaciones, mostrando un claro efecto genotóxico.

(ii) *Roturas de DNA de hebra sencilla*. En un estudio de 1995, Graves et al. [Ex. 120] investigó el papel de la exposición a CM en el desarrollo de roturas de ss de DNA de hebra sencilla en cultivos de células de los pulmones e hígado de ratones y ratas y en cricetos y humanos. Los autores observaron un aumento transitorio relacionado con dosis en roturas de ss de DNA en hepatocitos de ratón después de la exposición de inhalación a CM. No se observó aumento en roturas de ss de DNA en hígado y pulmones cuando se administró el disminuidor de glutathione a ratones inmediatamente antes de la exposición a CM.

En hepatocitos de ratas y ratones incubados con CM, los autores hallaron aumentos en roturas de ss, pero no aumentos en roturas de ss en los hepatocitos de cricetos y humanos expuestos fueron observados. No se observó aumento en el daño del DNA en las células expuestas a CM más microsomas de hígado de ratón, mientras que el citosol hepático de ratón indujo roturas de DNA detectables.

Los autores caracterizaron sus hallazgos en los pulmones como sigue:

Aquí mostramos que las células Clara son también sensibles a las roturas de ss de DNA y que los metabolitos que dañan el DNA están derivados del pasaje GEST. * * * En general, estos hallazgos apoyan la propuesta de que las células Clara son las células de origen de los tumores pulmonares inducidos por CM.

Para cáncer del hígado, estos investigadores concluyeron:

Estos estudios sugieren que los humanos (y las ratas y los cricetos), son insensibles a cáncer hepático inducido por CM.

Los comentarios trajeron asuntos sobre la relevancia y utilidad de las roturas de ss de DNA al evaluar la genotoxicidad del CM. El Dr. Karl T. Kelsey [Ex. 126-34] y la Dra. Miriam Poirier [Ex. 126-37], trajeron preocupaciones sobre la sensibilidad del estudio de roturas de ss de DNA para detectar los efectos genotóxicos.

Específicamente, el Dr. Kelsey declaró:

Al revisar la literatura, parece caer peso considerable sobre la medida de roturas de hebra sencilla de DNA. Tengo serias preocupaciones sobre este estudio. Es bien conocido que el estudio es extraordinariamente difícil de estandarizar y es sensible sólo a dosis muy altas de compuestos genotóxicos. Estos datos, por lo tanto, ciertamente no son compelentes; persuadir a cualquier científico competente independiente de su relevancia a humanos sería difícil.

La Dra. Poirier se mostró preocupado por la sensibilidad del estudio de roturas de hebra sencilla de DNA a carcinogénesis. Ella comentó que las roturas de ss de DNA y la mutagenicidad son indicadores secundarios de daño al DNA. Ella indicó que una mejor medida de genotoxicidad sería la formación de aductos de DNA. Ella indicó que una mejor medida de genotoxicidad sería la formación de aductos de Dna. El Dr. Errol Zeiger [Ex. 126-28] de NIEHS estuvo de acuerdo, declarando:

Si el mecanismo de carcinogenicidad es a través de un complejo alkylador de S-clorometil GSH, debe haber evidencia de aductos de DNA *in vitro* e *in vivo*.

OSHA está de acuerdo en que los aductos de DNA son fuerte evidencia de genotoxicidad y que las roturas de ss de DNA y mutagenicidad no son tan específicas o relevantes como indicadores de un mecanismo genotóxico de acción. Sin embargo, la Agencia ha determinado que, aún en ausencia de aductos de DNA específicos a CM, la evidencia acumulada sugiere que el CM interactúa con el DNA vía un mecanismo genotóxico de acción y que el pasaje GEST es un pasaje carcinogénico posible.

El Dr. Melnick [Ex. 126-33] declaró: " * * * no ha sido demostrado que la carcinogenicidad del CM en ratones depende únicamente de la inducción de roturas de hebra sencilla de DNA." El Dr. Andrew G. Salmon concurre con este análisis y también trajo una preocupación seria sobre la capacidad del estudio aún para detectar aumentos en roturas de ss, no empece su relevancia:

El recuento de Green establece que "los hepatocitos de ratón eran * * * 20 veces * * * más sensibles a los efectos del cloruro de metileno (i.e., roturas de hebra de DNA), que los hepatocitos de rata * * * " y no se detectó roturas en las células hepáticas de cricetos ni de humanos. Esto se traduce en la discusión a una aseveración de que no sólo los humanos y los cricetos sino que también las ratas son completamente inmunes al efecto carcinogénico del cloruro de metileno. Sin embargo, los datos simplemente no apoyan la aseveración de una diferencia categórica según propuesta por HSIA. Este trabajo particular también trajo un número de otros asuntos, tal como si el hígado es el tejido modelo apropiado y si las roturas de hebra sencilla son un indicador apropiado del tipo de daño genético producido por los metabolitos genotóxicos putativos.

OSHA está de acuerdo en que el estudio de roturas de ss de DNA no es tan sensible como otras metodologías para evaluar el potencial genotóxico del CM en sistemas diferentes y por lo tanto, los datos del estudio de roturas de ss de DNA debe ser interpretado en un contexto cuantitativo, no cualitativo con concesión para incertidumbre en sensibilidad de estudio. Tampoco está claro si las roturas de ss de DNA sea la medida sustituta apropiada para potencial carcinogénico. A la luz de los asuntos traídos por los comentaristas, la Agencia cree que los datos de rotura de ss de DNA deben ser interpretados con cautela.

(iii) *Enlace cruzado de proteína de DNA.* Casanova y Heck [Ex. 21-16] observaron enlaces cruzados de proteína de DNA en hígados de ratón, pero no pulmones de ratón, después de la exposición a 500, 1500 y 4000 ppm. Este estudio indicó que los metabolitos de CM pueden interactuar con DNA. Sin embargo, la cantidad de enlaces cruzados de proteína de DNA no mostraron una fuerte correlación con incidencia de tumor y así los enlaces cruzados de proteína de DNA no fueron usados como sustituto de dosis para CM.

El Chemical Industry Institute of Toxicology (CIIT) [Ex. 126-25] sometió evidencia subsiguiente de que la exposición a CM causa enlaces cruzados de proteína de DNA en hígado de ratón pero no en pulmones de ratón, hígado o pulmones de cricetos. Estos investigadores también observaron aductos de RNA en células de ratón, rata y humanos después de la incubación con CM, pero los enlaces

cruzados de proteína de DNA fueron sólo observados en ratones. Además, ellos sometieron un modelo farmacocinético que modelaba los enlaces cruzados de proteína de DNA como la dosis sustituta para exposición a CM. Finalmente, hicieron una comparación extensa de su modelo con el modelo de PBPK sometido por Clewell [Ex. 96] y el avalúo de riesgo de EPA para CM. El Dr. Roger CM Clellan resumió las conclusiones alcanzadas como sigue:

Los resultados farmacocinéticos sugieren que una concentración muy baja de DCM [cloruro de metileno] es casi linealmente proporcional a la concentración de DCM.

DPX no puede ser usado directamente como sustituto para la dosis interna en humanos, sin embargo, porque la hepatotoxicidad en humanos, a diferencia de los hepatocitos del ratón no parecen formar DPX en cantidades mensurables in vitro. * * * Estos resultados sugieren que el ratón puede no ser un modelo animal apropiado para avalúo de riesgo en humanos debido a su susceptibilidad inusual a la formación de DPX y al hecho de que la proliferación celular es un fenómeno de alta dosis únicamente que puede ocurrir solamente en estas especies.

OSHA cree que este trabajo provee más evidencia de la formación de metabolitos genotóxicos en hígado de ratón después de exposición a CM. Sin embargo, OSHA no está convencida de que los enlaces cruzados sean la sustitución de dosis apropiada para modelado farmacocinético. Uno de los puntos fuertes del modelo Reitz y modelos PBPK subsiguientes fue que el sustituto de dosis usado en el modelado estuvo linealmente relacionado a la incidencia de tumores. Esta es una razón por la cual muchos investigadores han enfocado sobre el pasaje de GST, en lugar del pasaje MFO de metabolismo como pasaje carcinogénico. Según explicado por el Dr. Lorenz Rhomberg [Ex. 126-16]:

* * * si esta proporcionalidad en el caso del GST es rota mediante un análisis más profundo, la razón para enfocar sólo sobre GST debe ser evaluada.

El Dr. Rhomberg se estaba refiriendo a los resultados presentados por HSIA sobre la distribución de GST theta isozimas dentro y entre las células, pero el mismo sentimiento aplica aquí; si OSHA fuera a abandonar el modelado PBPK usando metabolitos GST, todo lo de HSIA y otros estudios tendrían que ser re-evaluados y necesitaría hacerse considerablemente más investigación. Finalmente, en el estudio CIIT, los aductos RNA, una medida más directa de la genotoxicidad que las roturas de ss de genotoxicidad, fueron observados en hepatocitos humanos después de la incubación con CM. La cantidad de aductos de RNA en células humanas fueron sólo tres veces más bajas que la cantidad en hepatocitos de ratón. Es, por lo tanto, claro, que los hepatocitos humanos en este sistema están formando metabolitos después de la exposición a CM.

OSHA señala que en pulmones de ratón, los enlaces cruzados de proteína de DNA no fueron observados, aún a través de una clara relación dosis-respuesta para tumores ha sido establecida en este sitio. OSHA no está convencida de que la explicación para carcinogénesis en ratones sea los enlaces cruzados de proteína de DNA en el hígado. En general, no está claro si la diferencia interespecie en enlaces cruzados de proteína de DNA esté relacionada en algún modo al mecanismo de acción carcinogénica.

OSHA concluye que continúa habiendo fuertes razones para usar los datos de ratón como la base para su avalúo de riesgo cuantitativo porque no hay clara relación dosis-respuesta en los datos sobre incidencia de tumores del hígado y pulmones en ratones; el ratón metaboliza CM por los mismos pasajes que los humanos; se ha desarrollado modelos PBPK que justifican la diferencia interespecie en metabolismo de CM; se ha desarrollado técnicas estadísticas para cuantificar la incertidumbre y la variabilidad en los parámetros usados en los modelos PBPK; y no hay datos que demuestren que el ratón sea un modelo apropiado para avaluar el riesgo de cáncer humano. De hecho, OSHA halla evidencia adicional en estos estudios descritos anteriormente que sugieren que el CM actúa vía un mecanismo genotóxico en células humana así como en ratones y ratas, que apoye adicionalmente el uso de OSHA de la incidencia de tumores en ratón como las bases para el riesgo cuantitativo.

(iv) Interpretando los estudios de genotoxicidad. Varios otros asuntos fueron traídos en relación a la interpretación de los resultados de estos estudios sobre el mecanismo de acción genotóxica del CM. NIOSH y otros [Exs. 126-30, 126-11, 126-32] comentaron que, en general, los datos presentados por HSIA apoyaron la hipótesis de que los metabolitos carcinogénicos de CM fueron derivados del pasaje de GST. Ellos acordaron con la interpretación de HSIA de los datos de que los estudios presentados aquí ayudaron a confirmar que el mecanismo de carcinogénesis de CM es a través de uno o más metabolitos genotóxicos del pasaje GST.

Interpretación de los efectos a corto término al explicar los mecanismos crónicos de acción.

Las preocupaciones traídas sobre la generabilidad de los resultados de los estudios de genotoxicidad a corto término, especialmente cuando el efecto observado es transitorio, como parte de la vacuolización de células Clara, la aparición de roturas de ss de DNA en células hepáticas y pulmonares de ratón, etc. El Dr. Mirer de UAW [Ex. 126-31] comentó:

1. La evidencia citada concierne a los efectos agudos que aparecen después de una cuantas horas de exposición de alto nivel del animal a vapor de cloruro de metileno, o la mezcla en cristalería (in vitro), de tejido humano o animal homogeneizado con el solvente. En un número de estudios el efecto en todo el animal es transitorio.
2. No hay evidencia que conecte el efecto tóxico agudo, o las roturas de hebra sencilla de DNA después de exposición aguda, al efecto crónico de lesión pulmonar o hepática o cáncer. * * *

El Dr. Maronpot [Ex. 126-22] mostró preocupación porque la vacuolización observada en las células Clara no fue reproducido en los estudios mecanísticos NIEHS. HSIA respondió a esta preocupación ripostando que la vacuolización podía sólo hallarse después de exposición única a CM y que la vacuolización de las células Clara también estaba asociada con la síntesis de DNA aumentada en estas células. El hecho de que esta respuesta fuera sólo observada después de exposiciones únicas a CM, nuevamente trae el asunto de la transitoriedad de esta respuesta y su relevancia a la carcinogénesis.

Cambio de células aumentado.

En estos estudios sobre genotoxicidad, los autores comentaron que el cambio de células aumentado fue observado en el pulmón aumentos transitorios en síntesis de DNA después de exposiciones únicas a CM). El Dr. Daniel Byrd [Ex. 126-32] también comentó sobre el asunto de la síntesis de DNA. Citando un estudio de HSIA, el contendió que parecía haber un mecanismo común de acción entre el pulmón y el hígado, ya que se observó la síntesis de DNA aumentada en ambos tejidos. El Dr. Maronpot de NIEHS [Ex. 126-22] estuvo en desacuerdo, declarando:

El "crecimiento hepático" presentado en los ratones expuestos a cloruro de metileno es actualmente un aumento en peso de hígado atribuible a la acumulación de glicógeno dentro de los hepatocitos. No hay evidencia de síntesis duplicadora del DNA (proliferación celular), en el hígado de un ratón tratado con cloruro de metileno y por lo tanto, no ocurrió aumentos actuales en los números de hepatocitos. * * * Es digno de señalarse que la recuperación al peso normal del hígado ocurre a las dos semanas después del cese de la exposición a cloruro de metileno.

OSHA está de acuerdo con el Dr. Maronpot, en que ningún dato en el expediente de reglamentación muestra aumentos en la proliferación de células hepáticas como resultado de exposición a CM, aunque la síntesis de DNA aumentada fue activamente buscada en los estudios mecanísticos de NIEHS y otros estudios. Esta síntesis aumentada de DNA observada en células Clara de ratón es un fenómeno transitorio que no ha sido claramente ligado a la carcinogénesis en el ratón. En cualquier caso, la proliferación de células no está necesariamente relacionada en manera alguna a la carcinogénesis y con frecuencia no está relacionada con las dosis usadas en bioestudios y los índices de tumor mismos. Muchas sustancias que causan proliferación celular prolongada no causan formación de tumor y vice versa [Ex. 126-22] y muchos expertos creen que los aumentos transitorios en proliferación celular, según visto con CM, no justifican el efecto carcinogénico. La discusión adicional sobre el cambio de células como mecanismo de carcinogenicidad está discutido a continuación bajo "Mecanismos no genotóxicos."

Célula Clara como célula de origen de tumor pulmonar en ratón.

Otro asunto traído por los comentaristas concernía a la célula de origen de los tumores pulmonares. El pulmón de ratón tiene una proporción más alta que el pulmón humano. Los investigadores hipotetizaron que si la célula Clara fuera la célula de origen, el estimado de riesgo de datos de tumor pulmonar de ratón puede sobreenfatizar el riesgo humano porque los humanos tienen menos células Clara y por lo tanto, menos células blanco potenciales.

Green et al. ha enfocado mucho de su esfuerzo de investigación en determinar el mecanismo de acción del CM en pulmones e hígado de ratón. En tejido hepático, según descrito anteriormente, se concentraron en experimentos que discutían la hipótesis de que la célula Clara de ratón es la célula de origen de los tumores pulmonares en ratón observada en el bioensayo N/P. El Dr. Daniel Byrd [Ex. 126-32] indicó que creía que los datos presentados apoyaban esta conclusión. El declaró: "Los

tumores pulmonares de ratón con mayor probabilidad surjan de células Clara dañadas, aunque unos cuantos patólogos continúan especulando que los tumores pulmonares de ratón surge de otro tipo de células pulmonares, tales como pneumocitos Tipo II."

En contraste, el Dr. Maronpot de NIEHS [Ex. 126-22] estuvo en desacuerdo con esta declaración, indicando que " * * * la creencia general entre los investigadores es que los tumores pulmonares en los ratones surgen de los pneumocitos Tipo II en vez de células Clara." El Dr. Melnick [Ex. 126-33] sugirió que los datos de HSIA no son consistentes con la hipótesis de que la células Clara son la célula de origen de tumor. El declaró:

El daño al DNA en los pulmones de los ratones expuestos a 2000 ppm de cloruro de metileno; sin embargo, no se observó roturas en células Clara aisladas de ratones expuestos a 4000 ppm de cloruro de metileno. Esta observación no apoya la conclusión de que las células Clara fueron el origen de los tumores pulmonares inducidos por CM en ratón.

En su estudio, Graves et al. [Ex. 120] explicaron sus resultados como sigue:

Los intentos de medir daño al DNA en células Clara aisladas de ratones que habían sido expuestos a CM *in vivo* no fueron exitosas. * * * Es posible que las células extensamente dañadas por CM no sobrevivan a l procedimiento de aislación. La observación de que la vacuolización *in vivo* de las células Clara observadas después del tratamiento de CM no es vista *in vitro* cuando las células son aisladas de los pulmones dañados apoya esta propuesta.

Esto significa que los autores pudieron inducir roturas de ss en el DNA las células Clara *in vitro*, pero en ratones expuestos a CM *in vivo*, no está claro que las roturas de ss de DNA estuvieran concentradas en las células Clara. De hecho, los autores declaran:

Ya que las células Clara representan sólo el 5% de la población celular pulmonar total, las roturas de ss de DNA observadas *in vivo* pueden no resultar exclusivamente de daño a esta población celular.

OSHA cree que estos asuntos traen serias dudas en relación a si la evidencia actual apoya la determinación de que la célula Clara sea el origen de los tumores pulmonares de ratón. Aunque la ausencia de roturas aumentadas de ss no es necesariamente un indicador de falta de genotoxicidad, la presencia de las roturas de ss en tejido pulmonar (y aparentemente no concentrado en las células Clara), revela una inconsistencia en el argumento de HSIA: ya sea que las roturas de ss son irrelevantes o las células Clara no con la célula de origen, o ambas. La discusión de los asuntos que rodean la identificación de la célula Clara como célula de origen para los tumores pulmonares en ratón está contenida a continuación, bajo "Mecanismos no genotóxicos de carcinogénesis."

Capacidad de los metabolitos reactivos del CM para cruzar membranas.

Aunque no se presentaron datos por HSIA para tratar este asunto directamente, varios de los estudios de los estudios de HSIA y las cartas que acompañan postulan que los metabolitos reactivos del pasaje de GST tienen muy corta vida para cruzar membranas. Este argumento es usado en combinación con la reclamación de que las altas concentraciones de mRNA para el GST T1-1* en los núcleos de células de ratón (pero no aquellos de ratas y humanos) para soportar la contención de

que los humanos no están en riesgo de desarrollar cáncer después de la exposición a CM. El razonamiento es como sigue: (1) Los ratones son la única especie que tiene altas concentraciones de GST-T1-1* en el núcleo de las células pulmonares y hepáticas. (2) Los metabolitos reactivos del pasaje GST son de muy corta vida para atravesar la membrana celular. (3) Para producir un efecto carcinogénico, debe producirse metabolitos reactivos dentro del núcleo en proximidad al DNA. (4) Debido a que el ratón tiene altas concentraciones de estas enzimas en el núcleo (y las ratas y los humanos no), el ratón es únicamente susceptible al cáncer pulmonar y hepático después de la exposición a CM. (5) Por lo tanto, no existe el riesgo de contraer cáncer luego al exponerse al CM.

Algunos comentaristas [Exs. 126-12, 126-30, 126-33] mantuvieron que los estudios sometidos por HSIA no apoyan este argumento. Según discutido subsiguientemente, la sonda usada en estos experimentos midió GST T1-1* mRNA, no la isozima misma. No hay necesariamente una correlación entre la concentración de mRNA y la concentración de enzima a un lugar específico. Además, se esperaría que hubiera más alto mRNA fuera del núcleo (ya que es ahí donde la enzima es transcrita del mRNA), aún si la enzima fuera subsiguientemente concentrada dentro del núcleo. Adicionalmente, según discutido previamente, alguna de la evidencia presentada por HSIA sugiere que los metabolitos pueden ser generados fuera de la célula (no simplemente fuera de la membrana nuclear) e interactuar con el DNA. Específicamente, el Dr. Dale Hattis [Ex. 126-12] ha comentado que:

* * * ya que estas reacciones y procesos de detoxificación no pueden ser infinitamente rápidas (y en principio no pueden ser infinitamente rápidas), una fracción finita de las moléculas de metabolitos activados deben alcanzar el DNA y reaccionar. Aunque esta cadena de sucesos está requerida por nuestro entendimiento básico de los procesos cinéticos relevantes, en este caso también tenemos evidencia empírica de que los metabolitos activados no necesitan ser generados en el núcleo de una célula para alcanzar el DNA y hacer daño. Las mutaciones de secuencia de DNA de Graves y Green [Ex. 122] y Graves et al. [Ex. 123] y las roturas de hebras sencillas de DNA informadas por Graves et al. [Ex. 120] para células CHO fueron todas producidas exponiendo células de mamífero a un medio de cultivo de tejido que había sido suplementado con enzimas metabolizadoras de ratón y cloruro de metileno. Los metabolitos activos en estos casos fueron necesariamente generados *de fuera de las células*, no sólo en el citoplasma de las células que manifestaron el daño al DNA. Por lo tanto, la reclamación de que los metabolitos de glutathione transferasa deben ser generados en el núcleo y serían inefectivos si fueran generados en el citoplasma está francamente contradicha por la evidencia de HSIA.

HSIA [Ex. 126-29] desacordó fuertemente que sus resultados debieran ser interpretados de esta manera y contradicha como sigue:

Los investigadores tuvieron que usar un estudio de suspensión para maximizar la razón de concentración de cloruro de metileno a células a alrededor de 10^{14} y para optimizar la actividad de GST de preparación de hígado de ratón. Sólo bajo estas condiciones no fisiológicas extremas con una línea celular transformada pudiera observarse cualquier aumento en frecuencia de mutación. Absolutamente no hay justificación para asumir condiciones similares en humanos, donde la actividad de GST está ausente o en muy bajos niveles en el citoplasma y ausente en el núcleo.

OSHA está en desacuerdo con HSIA, sin embargo, y halla más sólido el razonamiento del Dr. Hattis y los otros comentaristas. Los resultados de estos experimentos indican que los metabolitos de CM son lo suficientemente estables para cruzar la membrana celular y nuclear para interactuar con DNA. La Agencia reconoce que estas no son condiciones fisiológicas, pero las condiciones del experimento no apoyan la asunción de sentido común de que el metabolismo enzimático tiene lugar en el citoplasma de las células de ratón y muestra que alguna fracción del metabolito GST es lo suficientemente estable para cruzar las membranas en la célula. Así, la Agencia cree que esta tumorigénesis en el ratón no es el resultado exclusivo del metabolismo de CM nuclear.

Otros asuntos pertinentes a la genotoxicidad.

Los restantes comentarios sobre estos estudios enfocaron más sobre asuntos más generales, tales como la genotoxicidad del CM y otros factores relacionados al pasaje metabólico y carcinogénesis inducida por CM. El Dr. Melnick [Ex. 126-33] comentaron:

Algunas preguntas fundamentales relacionadas a este mecanismo y su exclusividad a la carcinogénesis de hígado y pulmones de ratón tampoco están discutidas por la presente investigación. Por ejemplo, ¿por qué no se desarrollan tumores en otros órganos en ratones que también tienen altos niveles de GST theta (e.g., riñones)?

OSHA cree que esta es una pregunta importante que reduce la fortaleza de la contención de HSIA de que el ratón responde en una manera única al CM. Los investigadores han intentado explicar las diferencias en potencia del CM con respecto a la carcinogénesis hepática y pulmonar invocando las diferencias en índices de reparación de DNA y metabolismo GST dentro de los núcleos de las células críticas. Sin embargo, hay otros tejidos que, basado sobre la hipótesis HSIA, debieran ser los candidatos principales para carcinogénesis. El riñón, además de tener altos niveles de GST theta, también tiene un índice de reparación de DNA más lento que el hígado. Parecería ser un sitio lógico para carcinogénesis si la hipótesis de HSIA fuera correcta. OSHA cree que la falta de respuesta de tumor en este órgano (y quizás otros sitios lógicos), indican que la hipótesis propuesta por HSIA no justifica todas las observaciones relevantes.

(2) *Mecanismos no genotóxicos de carcinogénesis.* Los mecanismos de acción no genotóxica también han sido hipotetizados para CM. El cambio de células aumentado, debido a la muerte celular causada por toxicidad de CM, pudiera aumentar teóricamente el número disponible de sitios para mutación y formación de tumor subsiguiente. Sin embargo, sólo hay evidencia limitada de cambio celular aumentado después de exposición a CM. Casanova y Heck [Ex. 21-16] observaron síntesis de DNA aumentada en el tejido pulmonar de ratones expuestos a CM. Green et al. [Ex 105] observó vacuolización de células Clara y ambos estudios midieron síntesis de DNA aumentada en el primer día de exposición a CM, pero no los días subsiguientes de la exposición. Las células Clara pueden ser blanco de toxicidad inducida por CM, porque contienen niveles más altos de enzimas metabolizadoras de CM y por lo tanto tienen mayor probabilidad de generar metabolitos tóxicos de CM (por ejemplo, se conoce que el monóxido de carbono envenena las enzimas MFO). Green et al.

sugirieron que las células Clara eran la célula de origen de los tumores pulmonares observados en el estudio de ratones de NTP, debido a las propiedades metabólicas de estas células y el cambio celular aumentado observado al día de exposición a CM (además del daño al DNA descrito anteriormente bajo la sección titulada "Mecanismos genotóxicos de carcinogénesis").

Green et al. sugirieron además que si la célula de origen de los tumores de ratón era la célula Clara, los humanos estarían en substancialmente menos riesgo de cáncer pulmonar, porque los humanos tienen proporcionalmente menos células Clara que los ratones. Sin embargo, OSHA cree que no hay clara evidencia que confirme que las células Clara fueran la célula de origen de los tumores pulmonares en ratón (véase la discusión anterior). Otros tipos de células en el pulmón tales como la célula pulmonar Tipo II, también tienen actividad metabólica relativamente alta y pudieran ser el sitio de origen de los tumores pulmonares. Estas células no han sido estudiadas separadamente. Se necesita de estudios subsiguientes para aclarar el papel de la célula Clara y otros tipos de células pulmonares y células en otros tejidos de la carcinogénesis de CM.

(i) *División celular aumentada.* En 1994, Foster et al. [Ex. 119] investigó la división celular aumentada como el mecanismo de acción de CM en células pulmonares de ratón. Específicamente, ellos examinaron el mecanismo de acción del CM sobre la vacuolización transitoria de las células bronquiolares observaron las siguientes exposiciones sencillas a CM. En ratones expuestos a 2000 y 4000 ppm de CM, ellos observaron los números aumentados de células vacuoladas en el epitelio bronquiolar. El pretratamiento de los ratones con un inhibidor P450 de citocroma disminuyó el número de células vacuoladas, mientras que el tratamiento con disminuidor de glutathione no. En una duplicación de las observaciones hechas por Green et al. y descrita anteriormente, los autores hallaron división celular aumentada (medida como incorporación de [3H]-timidina) en células Clara aisladas de ratones expuestos a 4000 ppm CM. Ellos concluyeron:

Creemos que los resultados fuertemente apoyan la suposición de que la vacuolización de las células Clara se debe a un metabolito tóxico producido por el pasaje CYP [cytochrome P-450] de metabolismo. Más aún, el candidato más probable para inducir el cambio es a través de cloruro de formilo.

OSHA está de acuerdo en que estas observaciones indican que el cambio de células ocurre en las células Clara de los ratones. Esto puede posiblemente ser una explicación parcial del mecanismo, pero sólo una parcial. En casos donde la citotoxicidad ha sido considerada como explicación para que el riesgo ocurra solamente a "altas" dosis, este argumento está confinado a químicos que se cree que actúen de modo no genotóxico. El CM es probable que sea carcinógeno genotóxico, de modo que si la proliferación celular es un factor, el mecanismo de genotoxicidad sería el principal mecanismo de preocupación. Los carcinógenos genotóxicos no se cree generalmente que tengan un umbral y la función dosis-respuesta se cree que sea aproximadamente lineal a bajas dosis. Además, el estudio enfocó sobre un tipo de célula, que pudiera no ser la célula de origen para los tumores pulmonares. La carcinogenicidad en humanos (así como en ratones y ratas), parecen originarse de varios tipos de célula en varios tejidos.

(3) *Metabolismo de CM.* Según descrito anteriormente, los mecanismos para carcinogénesis para CM no son conocidos. Numerosos estudios a través de los años han explorado numerosos mecanismos posibles y han provisto información substancial en relación al metabolismo y el probable metabolito responsable del efecto carcinogénico. Según discutido en la sección de Efectos a la salud, el CM es metabolizado por dos pasajes (MFO) y glutathione S-transferasa (GST). Ambos pasajes producen reactivos inmediatos que pudieran contribuir potencialmente a un mecanismo genotóxico de carcinogenicidad. Durante el desarrollo del modelo PBPK para CM, Reitz et al. halló la incidencia de tumor correlacionada con la cantidad estimada de metabolito GST, así como con la cantidad de compuesto original administrado, pero no con la cantidad de metabolito MFO [Ex. 7-225]. El CM no es probable que actúe como un carcinógeno genotóxico porque es un compuesto poco reactivo. Además, los niveles de CM en sangre en ratones fueron más bajos que en ratas, de modo que el CM era la parte carcinogénica, se esperaría que el riesgo de cáncer en ratas fuera más alto que en ratones, mientras que se observó lo contrario. La consideración de estos factores ha llevado a muchos investigadores a concluir que el pasaje de GST es responsable por la carcinogénesis y que es probable que produzca una parte carcinogénica genotóxica. OSHA ha revisado los datos disponibles sobre el mecanismo de acción y ha concluido que la asunción más aceptable es que el pasaje de GST es responsable de la acción carcinogénica del CM y que esto debiera tomarse en consideración en el avalúo de riesgo cuantitativo. Esto representa un apartamiento específico de caso de la asunción en defecto de que la dosis administrada de compuesto original es la exposición métrica relevante para exposición.

(i) *Isozima(s) GST específicas responsables del metabolito carcinogénico.* Recientes trabajos auspiciados por la HSIA fueron dirigidos a la carcinogenización subsiguiente del metabolismo de CM por el pasaje GST [Exs. 121, 124, 124A]. Específicamente, el trabajo de HSIA sobre el metabolismo de CM ha enfocado sobre la aislación y descripción de isozimas en la clase GST theta de enzimas, lo que HSIA cree que sea responsable del metabolismo de CM a este metabolito carcinogénico en ratones. Mainwaring et al. han mostrado que el isómero GST con la mayor actividad específica para CM es un miembro de la clase GST theta. [Ex.121] En ratas, tres miembros de la clase theta han sido identificados: GST 5-5, GST 12-12 y GST 13-13. En humanos, se ha identificado dos enzimas: GST T1-1 y GST T2-2 y en ratones, se ha descrito dos enzimas theta GST, GST T1-1* y GST T2-2* (también conocidos como GST MT-1 y GST MT-2). Conforme a Mainwaring et al. [Ex. 121], rata GST 5-5 y ratón GST T1-1* tienen actividad específica similar hacia el CM y los estudios secuenciales han mostrado que " * * * la 5-5 de rata, T1-1* de ratón y T1-1 en humanos son proteínas ortólogas, como lo son la 12-12 en rata y T2-2* y T2-2" [Ex. 124A].

La hipótesis bajo investigación en este trabajo fue que la enzima similar a la GST 5-5 de rata (T1-1 de ratón y T1-1 de humano) fue la enzima crítica responsable del metabolismo de CM a metabolito carcinogénico y que las diferencias en las distribuciones interespecies intra e inter celular de esta isozima y las diferencias en genotoxicidad serían importantes para la caracterización del riesgo de carcinogénesis después de la exposición a CM.

Para examinar la distribución las isozimas GST de interés, los investigadores usaron sondas antisentido de oligonucleotida de DNA complementaria a las tres regiones de las secuencias de nucleótidas de proteína de GST 5-5 de rata, GST T1-1* y GST T1-1 de humano para localizar secuencias de mRNA específico en tejidos de hígado y pulmones de ratón, rata y humano. Ellos también usaron un anticuerpo traído contra el GST 12-12 de rata para localizar la proteína misma [Exs. 124, 124A]. En el estudio completo que describe estos experimentos [Ex. 124A], Mainwaring caracterizó los resultados de este estudio, como sigue:

Las enzimas de ratón [T1-1* y T2-2*] estaban presentes en concentraciones significativamente más altas. En hígado de ratón, ambas enzimas estaban localizadas en las placas de hematocito limitante que rodean la vena central, en las células epiteliales del conducto biliar y en los núcleos de hepatocitos. En el hígado de ratón, la distribución de GST12-12 era comparable a la vista para T2-2* en el ratón. No se localizó GST 5-5 en los hematocitos limitantes o en los núcleos del hígado de rata. Los niveles de transferasa humana T1-1 en el hígado fueron muy bajos, con una distribución pareja a través del lóbulo. El anticuerpo GST 12-12 revelaron altas concentraciones de esta enzima en conductos biliares humanos. Las cantidades relativas de las enzimas theta en los pulmones de las tres especies siguieron los patrones vistos en el hígado, con muy altas concentraciones en células Clara y las células ciliadas de pulmón de ratón y niveles mucho más bajos en las células Clara solamente de pulmón de ratón. Se detectó bajos niveles de transferasa humana T1-1 en células Clara y células ciliadas halladas en la juntura alveolar/bronquiolar de una muestra de pulmón humano.

Mainwaring et al. concluyó que:

Este estudio ha demostrado una distribución altamente específica de las GST clase theta 5-5 y 12-12 en tejido de hígado y pulmón de ratones, ratas y humanos * * * fue aparente de estos estudios ambas la distribución y la concentración de estas enzimas difirieron marcadamente de entre las tres especies. Aunque ni los niveles de mRNA ni las concentraciones de proteína correspondían necesariamente a la enzima activa, la distribución mostrada por el mRNA para GST 12-12 fue cuantitativamente reflejada por el anticuerpo a la proteína de esta enzima, sugiriendo que estas técnicas, en este caso, reflejan la distribución de enzima activa. Aunque un anticuerpo a GST 5-5 no está disponible, es razonable asumir que los niveles de mRNA para esta enzima son similarmente representativos de la distribución de la enzima activa.

La comprensión de la distribución celular y subcelular de GST 5-5 ha provisto una explicación para la especificidad de especies de la carcinogenicidad pulmonar y hepática en ratones del cloruro de metileno y ha provisto seguridad de que los humanos no están en riesgo de exposición a este químico.

(ii) Asuntos traídos pertinentes a los estudios metabólicos. Muchos comentaristas felicitaron a HSIA por proveer nueva información sobre el mecanismo de acción del CM y por confirmar los estudios cuantitativos previos de las diferencias entre especies en el metabolismo de CM. Sin embargo, los comentaristas también trajeron varios asuntos específicos en relación a la conducta e interpretación de estos experimentos.

Correlaciones de las concentraciones de mRNA con concentraciones de enzimas.

Mainwaring et al. [Ex. 124A] correlacionó la distribución inter- e intracelular del mRNA para GST 12-12 en la rata con la distribución del anticuerpo para GST 12-12. Ellos declararon que es

razonable de asumir que ya que la proteína y el mRNA para el isómero 12-12 tienen distribuciones similares, la proteína para el isómero 5-5 se distribuiría en la misma manera que el mRNA para el isómero 5-5. En apoyo a esta asunción, ellos señalaron que hay 80% de homología entre los isómeros 5-5 y 12-12. Algunos comentaristas creyeron que esto no era una asunción razonable y que no había razón para creer que la distribución del GST 5-5 mRNA, simplemente porque parece haber una correlación en la proteína del isómero 12-12 y la distribuciones del mRNA [Exs. 126-7, 126-16]. OSHA concurre con estos comentaristas y hasta que haya una medición actual de la proteína GST 5-5, OSHA no cree que la cuestión de la distribución actual de la isozima GST 5-5 se haya dilucidado.

Más importantemente, varios comentaristas enfatizaron que era el mRNA el que se observaba actualmente en estos estudios y que los niveles de mRNA no necesariamente corresponden ni al nivel de proteína, ni a la actividad de proteína dentro de la célula [Exs. 126-7, 126-16, 126-28, 126-30, 126-32]. Aunque Mainwaring et al. reconoció este hecho [Ex. 124A], las conclusiones alcanzadas por los autores aún sugieren que la medición del mRNA es equivalente a la medición de la actividad de enzima. Refiriéndose a las conclusiones obtenidas por Mainwaring et al., el Dr. Lorenz Rhomberg [Ex. 126-16] comentó:

Esta interpretación de la distribución del mRNA está profundamente equivocada y contradice algunas de los principios mejor establecidos y fundamentales de la biología molecular. * * * Hallar mRNA en el núcleo no es sorprendente y no ofrece información sobre la localización eventual de los productos de proteína .

El Dr. Rhomberg también mostró preocupación porque la concentración de GST T1-1* en el núcleo de los ratones pudiera ser un artefacto de las condiciones experimentales, resultando quizá, de una explosión de la síntesis de mRNA. La preocupación de que la concentración nuclear del GST pudiera ser un artefacto halló eco en el Dr. Douglas A. Bell del National Institute for Environmental Health Sciences [Ex. 126-26]. El declaró:

Por qué la distribución (intracelular) deba ser diferente entre especies no está claro ni es inusual. Las diferencias en procesado de la transcripción del RNA nuclear puede ser la causa subyacente de este fenómeno (o quizá haya un pseudógeno transcrito que esté complicando el proceso).

Debido a que los mecanismos celulares específicos que estarían requeridos para concentrar una proteína en el núcleo, el Dr. Rhomberg [Ex. 126-16] indica que la translocación de la proteína GST 5-5 al núcleo sólo en ratones pareció improbable. El declaró:

Parece aceptable * * * que para una serie de proteínas ortólogas, tal localización sería hallada en una especie particular y no en otras especies.

OSHA está de acuerdo con los comentarios hechos por el Dr. Rhomberg y el Dr. Bell sobre este asunto y concluye que la concentración de mRNA en un sitio celular particular no se correlaciona necesariamente con la concentración de la enzima misma. OSHA cree que debe tenerse cautela al

interpretar los resultados de estos experimentos.

Atribución de actividad metabolizadora de GST a una sola isozima.

También hubo preocupación sobre la validez de atribuir todo el metabolismo de la glutathione S-transferasa del CM a un isómero de la clase theta [Exs. 126-7, 126-12]. En particular, el Dr. Dale Hattis señaló que había menos actividad de isozima levigada coincidente con el pico identificado como la forma 5-5 que la que leviga al pH 8, que no se creyó que corresponda a la forma 5-5. El Dr. Ronald Brown describió los resultados de un estudio por Blocki (1994) [Ex. 127-22] que mostró que la "expresión de la isozima (5-5) contribuye 50% del total de actividad de GST hacia este sustrato." Esto deja la pregunta abierta en relación a si las isozimas que puedan tener más baja actividad específica para CM pero que puedan ser expresadas en mucha mayor abundancia (particularmente μ 4-4), pudieran contribuir tanto como el 50% restante del metabolismo de GST total. (véase la Tabla VI-1, reproducida a continuación del comentario del Dr. Brown [Ex. 126-7], fuente original Blocki et al. (1994) [Ex. 127-22]).

Tabla VI-1. Contribución relativa de glutathione S-transferas de hígado de ratón diferente en metabolismo de diclorometano a formaldehído.

				Glutathione S-transferasas		
				α Class	Φ Class	θ Class
Parámetro comparativo (unidades).....	1-1+1-2+2-2	3-3	3-4	4-4	^b 5-5	^b 13k
Actividad específica (nmol/min/mg de proteína).....	<9.1	7	11	23	11,000	9
% Proteína citosólica (% de total en hígado).....	6.4	0.7	0.3	0.6	0.002	0.005
Actividad total (nmol/min/g de proteína de hígado)..	<10	49	3.3	138	22	0.45
% Actividad total ^c	<1.5	11	7	32	50	0.1

^aDatos de Meyers et al., 1991.

^bDatos para glutathione S-transferasa peso molecular 13,000 de Blocki et al., 1992

^c Asumiendo condiciones V-max para cada una.

Además, Mainwaring et al. [Ex. 124A] señaló que la "especificidad sustrato de GST 12-12 está actualmente pobremente caracterizada", aunque la enzima purificada no tiene actividad hacia CM. Según descrito anteriormente, estas enzimas parecen ser muy lábiles al ser purificadas. Por lo tanto, no está claro cuánto del isómero 12-12 mismo puede contribuir al metabolismo CM. Según declaró el Dr. Kenneth T. Bogen, " * * * aunque la especificidad de sustrato del GST 12-12 puede en la actualidad estar pobremente caracterizada, los datos actuales no parecen descartar la especificidad del GST 12-12 hacia CM."

Muestras humanas limitadas y polimorfismo humano en los genes GST theta.

Varios comentaristas expresaron preocupación por el número limitado de muestras humanas (una muestra de pulmón y menos de 40 muestras de hígado humano han sido evaluadas) y el efecto potencial de un polimorfismo humano conocido para los genes clase theta glutathione S-transferasa

en estimaciones de riesgo. [Exs. 126-7, 126-16, 126-26, 126-35]. Específicamente, los comentaristas trajeron preocupaciones de que puede haber una gran subpoblación de conjugadores de GST que puedan estar en riesgo aumentado de exposición a CM que no hayan sido adecuadamente caracterizados en el número limitado de muestras humanas (especialmente muestras pulmonares), que han sido probadas. HSIA objetó a estos comentarios, declarando:

La base de datos sobre tejidos humanos para el metabolismo de cloruro de metileno por el pasaje GST es uno de las mayores, si no la mayor disponible para este tipo avalúo de riesgo. Descartarla sobre las bases de argumentos concernientes a polimorfismos hipotéticos, como el comentarista insta a OSHA, sería contrario al mensaje consistentemente expresado por la National Academy of Sciences y las autoridades reglamentarias por la década pasada.

* * *

De hecho, el informe de la National Academy of Sciences citado por HSIA, "Science and Judgement in Risk Assessment" exhorta a las agencias a hacer uso de modelos con base biológica, pero advierte que usarlos sin considerar adecuadamente la variabilidad humana sería un paso atrás:

EPA no ha justificado suficientemente la variabilidad interindividual en características biológicas cuando ha usado varios modelos de avalúo de riesgo fisiológica o biológicamente basados. La validez de muchos de estos modelos y asunciones depende crucialmente sobre la exactitud y precisión de las características humanas que las dirigen. En una amplia variedad de casos, la variación interindividual puede confundir la simple incertidumbre de medición en modelado que es inherente al derivar estimados para al persona "promedio".

La Academia continúa recomendando específicamente que hacer "inferencias razonables" sobre la variación de interindividualización está *requerido*, en vez de asumir que tal variación no existe:

Aún cuando la alternativa a los modelos por defecto giren sobre una distinción cualitativo en vez de cuantitativa, tal como la posible irrelevancia a humanos del mecanismo alpha-2u-globulina envuelto en la iniciación de los tumores renales de ratas machos, el nuevo modelo debe cotejarse contra la posibilidad de que algunos humanos son cuantitativamente diferentes de la norma. Cualquier asunción alternativa puede ser defectuosa, si resulta que es biológicamente inapropiada para alguna fracción de la población humana.

Cuando EPA propone adoptar una asunción de avalúo de riesgo alternativa, * * * debe considerar la variabilidad interindividual humana al estimar los parámetros modelo o verificar la sunción de "irrelevancia." Si no hay datos disponibles que capacitar a OSHA tomar en cuenta la variabilidad humana, EPA debe estar libre para hacer inferencias razonables sobre su extensión e impacto (en vez de tener que recopilar o aguardar por tales datos), pero debe exhortar a las partes interesadas a recopilar y proveer los datos necesarios.

OSHA cree que HSIA ha malinterpretado las recomendaciones de la NAS y está en desacuerdo además con HSIA en que el polimorfismo sea "hipotético". Los investigadores han demostrado este polimorfismo en GST humano y han mostrado cómo el polimorfismo varia a través de las razas [Exs. 127-7, 127-9, 127-17, 127-21, 127-23, 127-24, 127-25]. OSHA está de acuerdo con los comentaristas en que un polomorfismo humano en los genes theta GST puede aumentar la preocupación por individuos que puedan estar en mayor riesgo de exposición a CM debido a su composición genética. La Agencia ha considerado subpoblaciones sensibles en el desarrollo de normas de salud, incluyendo a esta reglamentación. Por ejemplo, la subpoblación de trabajadores con enfermedad cardíaca silente o sintomática fue considerada al evaluar los riesgos cardíacos del

CM (debido a su metabolismo a monóxido de carbono). La variación en actividad enzimática trae incertidumbre adicional en el uso de datos humanos para apoyar la hipótesis de que los ratones son únicamente sensibles a la carcinogenicidad de CM. Sin embargo, para propósitos de análisis cuantitativo, la Agencia no ha intentado ajustar sistemáticamente el estimado de riesgo basado sobre "alto metabolismo de GST" individual, debido a la frecuencia e impacto de tales polimorfismos no se han resuelto claramente.

Sitio blanco de carcinogénesis CM en ratones versus humanos.

Los Drs. Brown y Melnick [Exs. 126-7, 126-33] también trajeron la posibilidad de que el sitio blanco para la carcinogénesis del CM puede ser diferente en humanos y en ratas y ratones. Específicamente, se describió la investigación de sobre la ocurrencia de isómeros theta de GST en sangre humana. La caracterización del metabolismo GST en eritrocitos humanos [Exs. 127-11, 127-12] sugiere la posibilidad de la médula ósea como posible blanco de carcinogénesis de CM y también el potencial para metabolismo en la sangre y traslocación de los metabolitos a una variedad de blancos potenciales. HSIA desconfió el metabolismo de la sangre humana del CM declarando:

La muy alta capacidad para conjugar cloruro de metileno mencionada por Brown es de hecho, muy baja, aproximadamente 40 veces más baja que la actividad más alta detectada en el hígado humano.

OSHA cree que aunque la actividad específica en la sangre puede ser más baja que la actividad del hígado humano, la actividad total de las enzimas GST en sangre y médula pueden ser significativas cuando también se considera el volumen de estos compartimientos. OSHA también señala que la concordancia de sitios de tumor interespecie no se espera necesariamente y es prudente considerar cualquier tejido humano que pueda tener el potencial para metabolizar CM al carcinógeno putativo.

Concentración de proteína complementaria a GST 12-12 de rata en los conductos biliares humanos.

El Dr. Bogen [Ex. 126-15] comentó específicamente sobre la proteína hepática humana complementaria al anticuerpo a proteína GST 12-12 de rata. En particular, estuvo preocupado porque se informaba de altas concentraciones de esta enzima en los conductos biliares del hígado humano. Señaló:

Con relación al potencial de carcinogenicidad humana del CM relativa a su potencial carcinogénico conocido en ratones, me parece que estos datos particulares no debieran reducir la preocupación, sino aumentar la preocupación reglamentaria, en vista del hecho de que las células epiteliales del conducto biliar son con mayor probabilidad las células de origen para los hepatocitos. * * * Así, las células epiteliales del conducto biliar probablemente tengan un papel en la carcinogénesis del hígado en ratones y en humanos.

OSHA está de acuerdo con las preocupaciones del Dr. Bogen y también señala que en el estudio de cohorte de los trabajadores textiles conducido por Hoescht-Celanese [Ex. 7-260], un exceso de cánceres biliares fue observado en aquellos trabajadores expuestos a las concentraciones más altas de CM y aquellos con los períodos de latencia más largos entre exposición y enfermedad. Si la teoría de

HSIA es correcta (i.e., una sola isozima es la culpable), entonces hallar altas niveles de esta isozima en el conducto biliar humano es fuerte evidencia que implica al CM en la carcinogénesis humana.

Interpretación de datos como diferencias cualitativos versus cuantitativas.

Quizá más importante para el avalúo de riesgo de CM, varios comentaristas comentaron que OSHA debiera tener cautela al interpretar los datos de las submisiones de HSIA, porque cualesquiera diferencias interespecie son correctamente consideradas primero como cuantitativas en vez de cualitativas. En parte, los comentaristas advirtieron que se debe prestar atención especial al umbral de detección en todos los avalúos. Según declaró el Dr. Andrew Salmon:

Green y sus colaboradores han confundido consistentemente su incapacidad para medir un resultado o valor de parámetro debido a su magnitud o la frecuencia de ocurrencia bajo su umbral para detección práctica, con un verdadero valor cero para el parámetro o cero riesgo de una ocurrencia [Ex. 126-36]

OSHA está de acuerdo en que debe tenerse cautela al intentar caracterizar una diferencia entre especies como una diferencia cualitativa absoluta. Se requiere una carga de prueba mucho mayor para apoyar la reclamación de cero riesgo que la del riesgo disminuido. (Esta carga mayor se debe a la necesidad de considerar la sensibilidad de avalúo y otros factores; el hecho de las consecuencias de concluir incorrectamente que los humanos estén en cero riesgo son particularmente abrumadoras sólo añade al ya alto umbral de evidencia científica necesaria para hacer tal reclamación exitosamente). En el caso de CM, los humanos claramente tienen la capacidad de metabolizar CM vía el pasaje GST [Exs. 21-53, 127-16]. Aún si la concentración de enzimas de GST T1-1* mismo ocurre actualmente en sólo en los núcleos de pulmones o hígado de ratón (según opuesto a la concentración de mRNA, que pudiera o pudiera no estar localizado diferentemente dentro de las células de ratón), aún no está claro qué impacto (si alguno), tendría este hecho sobre la caracterización de riesgo de cáncer humano para el CM. OSHA cree que la declaración de que hay diferencias de especie absolutas en la actividad y la distribución intracelular del GST 5-5 es altamente especulativa y no está apoyada por los datos presentados hasta la fecha, porque los datos presentados se refieren a la distribución de mRNA para GST 5-5, no las concentraciones de enzimas o niveles de actividad de la enzima; no hay cuantificación de los niveles intracelulares del mRNA o para GST 5-5, no las concentraciones de enzimas o niveles de actividad de la enzima; no hay cuantificación de los niveles intercelulares del mRNA o niveles de enzima, sólo representaciones fotográficas; y no hay evidencia de alguna evidencia potencial en actividad enzimática (cuando esos experimentos son completados), sería mayor que la diferencia ya predicha de las consideraciones de escalado alométrico.

Conclusiones alcanzadas por la HSIA

HSIA concluyó de estos estudios que debido a una diferencia cualitativa interespecie en la distribución de la enzima GST theta responsable de las carcinogénesis de CM, los humanos no estarían en riesgo de desarrollar cáncer bajo "condiciones de exposición previsibles". Aunque

algunos comentaristas estuvieron de acuerdo con las conclusiones alcanzadas por HSIA [e.g., Exs. 126-10, 126-13, 126-20], muchos comentaristas desacordaron fuertemente con esta interpretación de estos datos pertinentes al avalúo de riesgo para CM. Estos comentaristas [e.g., Exs. 126-7, 126-11, 126-12, 126-15, 126-16, 126-22, 126-30, 126-36] mostraron preocupación porque la cuestión era en realidad un asunto de cuantificación de enzimas, no una diferencia cuantitativa en metabolismo. El Dr. Lorenz Rhomberg comentó:

La pregunta es: ¿Hay base alguna para creer que la diferencia de especie en actividad sugerida por los datos de mRNA es mayor que la supuesta previamente?

Debe enfatizarse que se espera algún grado de diferencia de especie en actividad metabólica aún bajo métodos de extrapolación interespecie. Esto es, al mantener un patrón general de escalado de procesos fisiológicos entre especies, los índices metabólicos generales se presume que estén más bajo sobre las bases de unidad de tejido en animales más grandes. Como en defecto, puede presumirse que este patrón aplique pasajes metabólicos individuales también, aunque están disponibles los datos sobre actividades especie-especie que pueden usarse en lugar de tales defectos.

Si las actividades especie-especie son descubiertas mediante experimento ser menores en humanos que en ratones al grado ya anticipado en alometría, entonces los experimentos simplemente confirman el defecto y no se amerita el cambio en el estimado de riesgo a humanos. Si los humanos tienen una actividad metabólica diferente de la predicción alométrica, la incorporación de tales estimados a modelos PBPK puede mostrar diferencias en riesgos humanos de los predichos por el defecto. La predicción alométrica es que, sobre las bases de tejido por unidad, los humanos deben tener sobre siete veces menor actividad que los ratones y cuatro veces menos actividad que las ratas.

Dado el límite de detección de los métodos de avalúo, la actividad metabólica humana (o niveles de mRNA), en ciertos tejidos debe juzgarse a la luz del hecho que sólo un pequeño cambio de la diferencia alométrica ya reconocida puede hacer con frecuencia que la actividad humana sea indetectable. Una diferencia ratón-humana de 20 veces, por ejemplo, realmente sólo representa una exageración de 3 veces el patrón alométrico, pero muchos avalúos pueden fallar en caracterizar confiablemente una diferencia de 20 veces como una diferencia cuantitativa en vez de una diferencia cualitativa.

Por las razones anteriores, la reclamación de que la actividad metabólica humana en activar cloruro de metileno son tan bajas como para ser esencialmente cualitativas diferentes de los ratones debe ser interpretada con gran cautela. De hecho, los estudios existentes tienen gran dificultad en detectar las diferencias de especies en actividad metabólica lo suficientemente grande para retar marcadamente los avalúos de riesgo existentes.

Otro comentarista discutió el hecho de que los niveles celulares de la isoenzima GST 5-5 se esperaba que estuviera distribuido desigualmente por las células, poniendo algunas células en más riesgo y otras en menos. Esto tendería a promediar en un tejido y estaría mejor descrito por datos de metabolismo de tejido. Otros comentaristas comentaron que no había necesidad de ajustar los estimados de riesgo basado sobre los estudios porque la mayoría de los modelos farmacocinéticos ya justifican las diferencias interespecies en metabolismo. Aunque OSHA ha incorporado datos de estos estudios, especialmente en su "análisis alternativo", OSHA está de acuerdo con el Dr. Rhomberg y los otros comentaristas que han tomado excepción a las conclusiones HSIA.

La Agencia no acepta la caracterización de HSIA de los resultados de los estudios resumidos. OSHA ha determinado que aún no se ha presentado evidencia que demuestre que los humanos no están en

riesgo de desarrollar cáncer después de la exposición a CM. Cuanto más, los estudios presentados sugieren una diferencia cuantitativa interespecie en el metabolismo del CM, que fue establecida en informes científicos previos y que ya ha sido justificada en el modelado PBPK. Según discutido extensamente este documento, OSHA ha concluido que HSIA ha bajo evaluado cierta fuerte evidencia y ha sobreenfatizado algunas hipótesis más especulativas. Sin embargo, como está claro de esta discusión, OSHA ha considerado cuidadosamente toda la evidencia. La evidencia substancial en el expediente claramente apoya las conclusiones de OSHA. Consecuentemente, el enfoque de OSHA de confiar en los datos de tumor de ratón de NTP como base de su avalúo cuantitativo sigue siendo el mejor acercamiento a la estimación de riesgo.

c. Conclusiones en relación a la carcinogénesis del CM. HSIA sometió estos documentos a OSHA con una petición de que la Agencia considere los datos de tumor de ratón a la luz de estos estudios adicionales y rechace el uso de datos de respuesta de tumor de ratón como la base para el avalúo de riesgo cuantitativo de la Agencia. OCHA cree que ha dado el peso apropiado a toda la evidencia, dando mayor peso a lo que es de mayor calidad científica. Sin embargo, a la luz de la petición de HSIA, la Agencia reabrió el expediente de reglamentación y revisó todos los datos nuevos. Después de someter y revisó todos los nuevos datos. Después de someter estos documentos para revisión, HSIA [Ex. 126-29] comentó sobre los comentarios sometidos al sumario por otros científicos:

En general, los comentarios sometidos por R. Maronpot, R. Brown, K. Bogen y D. Hattis, exhibe una renuencia al uso de un gran cuerpo de datos mecanísticos ahora disponibles al evaluar el riesgo carcinogénico potencial presentado por el cloruro de metileno, aunque la mayoría de los otros comentaristas están de acuerdo en que el pasaje responsable de su carcinogenicidad observada en hígado y pulmones de ratones, así como en variaciones de especie en actividad de este pasaje crítico, ahora ha sido identificado. Muchos de los comentarios tratados aquí parecen estar motivados por el deseo de mantener "el status quo" para avaluar el riesgo carcinogénico basado sobre principios de defecto que fueron desarrollados hace veinte años.

HSIA continúa diciendo:

Muchas de las conclusiones alcanzadas por los comentaristas * * * están basadas, con frecuencia erróneamente, sobre aspectos únicos de una u otra de estas publicaciones, en lugar de sobre la base entera, como demandaría el enfoque de "peso de evidencia" y es necesario para comprender los resultados.

OCHA halla difícil comprender por qué HSIA cree que los científicos que listaron estén principalmente interesados en preservar el "status quo". El Dr. Maronpot condujo los estudios mecanísticos sobre CM en NIEHS, los cuales han generado información mecanística útil al proceso de avalúo de riesgo. El Dr. Rhomberg fue instrumental en el desarrollo del enfoque farmacocinético usado por la Environmental Protection Agency en su avalúo de riesgo de CM (un enfoque nunca usado por la Agencia previamente). El Dr. Hattis, Dr. Bogen y Dr. Brown eran todos expertos en la aplicación de modelado farmacocinético para avalúo de riesgo y han pedido repetidamente la incorporación de más datos mecanísticos y fisiológicos a los modelos farmacocinéticos. Estos científicos altamente respetados, entre otros, revisaron las submisiones

las de HSIA, conclusiones que en sí mismas se apartan significativamente del "status quo". Esto no sugiere a OSHA que ellos estén tratando de preservar status quo alguno en el avalúo de riesgo y OSHA no halla nada en los comentarios de estos expertos que sugiera que este sea el caso.

Para responder al deseo de HSIA de que OSHA revise adicionalmente todos los datos, la Agencia ha revisado cada estudio sometido cuidadosa y críticamente en sus méritos para determinar cómo cada pieza de dato encaja en el cuadro general del mecanismo de acción para CM. OSHA cree que en este proceso los asuntos críticos traídos por HSIA han recibido un aereamiento completo y la identificación de riesgo para CM ha sido mejorada debido a ello. OCHA cree, sin embargo, que mirar sólo a los nuevos estudios sometidos por ASIA y examinándolos sin crítica, contradiría todo principio de análisis científico.

En resumen, para aceptar la suposición de ASIA de que el CM no es carcinógeno en humanos, debe creerse lo siguiente:

1. GST 5-5 es la única isozima que puede metabolizar CM a un metabolito carcinogénico.
2. Las roturas de hebra sencilla de DNA son relevantes y una medida suficiente de la tumorigenicidad de un compuesto.
3. La ausencia de aumento detectable en roturas de ss de DNA en un solo experimento significa que de hecho, no hay roturas adicionales de ss.
4. El número limitado de muestras humanas (una muestra de pulmón humano agregada siendo el extremo absoluto de datos "limitados"), usado para determinar los parámetros metabólicos es verdaderamente representativo del alcance de la variabilidad humana.
5. Una aparente correlación en la distribución de la proteína GST 12-12 y mRNA GST 12-12 significa que la distribución de la proteína GST 5-5 se correlacionará similarmente con la distribución de mRNA GST 5-5.
6. La interpretación visual del manchado de fotomicrografías para mRNA GST da una medida verdadera y precisa de la actividad de la GST en la célula.

Y tampoco debe ignorarse las siguientes observaciones contradictorias y conclusiones sobre el mecanismo de acción (además de ignorar la evidencia epidemiológica sugestiva):

1. Los metabolitos de GST pueden cruzar las membranas celulares y nucleares e interactuar con DNA para inducir roturas de ss de DNA y mutaciones.
2. El mRNA GST y mancha de proteína fuertemente en las células del conducto biliar (que se cree que sean las precursoras de los hepatocitos).

3. Se ha mostrado que el tejido pulmonar humano mancha para mRNA GST.
4. Sólo el 50% del metabolismo de GST de CM puede ser justificado mediante la isozima GST 5-5.
5. La capacidad metabólica de la GST 12-12 para CM no ha sido caracterizada.

OSHA concluye que estos estudios, aún poniendo a un lado todas las objeciones técnicas a la metodología e interpretación de estudios individuales, no cambian la conclusión de evidencia substancial que apoya la carcinogenicidad del CM. Los resultados de bioensayos en ratones aún son cualitativa y cuantitativamente relevantes a humanos. Una vez los estudios de ASIA han sido replicados y los componentes clave cuantificados (como la actividad enzimática intercelular) (en vez de los niveles de mRNA) de GST hacia CM), los datos de ASIA pueden ser útiles al caracterizar las diferencias cuantitativas interespecies en sensibilidad. (La actividad específica de GST hacia CM en ratones se estima que sea alrededor de siete veces la de los humanos, basado sobre consideraciones alométricas). OSHA cree que su avalúo de riesgo final, que se basa sobre un análisis de todos los datos de PBPK disponibles, trata ambas interpretaciones posibles.

B. Selección de base de datos para avalúo de riesgo cuantitativo.

1. Bioensayos con animales

El primer paso en realizar un avalúo cuantitativo de riesgo carcinogénico basado sobre datos de animales es elegir una serie o series de datos de los cuales definir la relación dosis-respuesta. En su NPRM, OSHA había elegido los tumores de pulmón e hígado de ratón hembra NTP para determinar el estimado de riesgo. OSHA selecciona estas respuestas porque proveen una clara relación dosis-respuesta, tenía bajos índices de tumor de trasfondo y eran medidas más sensibles de dosis-respuesta que los sitios de tumor correspondiente de ratón macho.

EPA, CPSC y FDA eligieron usar la incidencia combinada de adenomas y carcinomas pulmonares y hepáticos como las bases para su avalúo de riesgo. Específicamente, EPA [Exs. 25-D, 28], enfatizó sobre las especies experimentales y grupo de sexo que mostraba el más alto riesgo; el número de ratones hembras que mostrara adenoma o carcinoma ya fuera en el pulmón o hígado (o ambos). El CPSC [Ex. 25-I] juntó los tumores benignos y malignos de glándulas mamarias, pulmón o hígado y promedió los estimados machos y hembras para derivar un estimado de riesgo general. La FDA [Ex. 6-1] usó respuesta benigna y maligna en ratones hembras. El informe Crump [Ex. 12] señaló que puede ser razonable combinar respuestas pulmonares y hepáticas para dar un indicio de la potencia del CM, debido al hecho de que el metabolismo de CM ocurre mediante el mismo pasaje en ambos pulmón e hígado y así resulta en los mismos metabolitos últimos. Sin embargo, el informe añadió que ya que ambos tejidos tienen diferentes respuestas de trasfondo, el combinar las respuestas puede tender a complicar la interpretación de los estimados de riesgos.

En la regla final de OSHA, el estudio NTP (ratas y ratones, inhalación) fue elegido para avalúo de riesgo cuantitativo porque proveía la mejor información toxicológica y estadística sobre la carcinogenicidad del CM [Exs. 12, 7-127] y porque el estudio fue de la más alta calidad de datos. En el estudio NTP, el CM indujo aumento significativo en la incidencia y multiplicidad de neoplasmas alveolares/bronquiolares y neoplasmas hepatocelulares en ratones machos y hembras, En ratas, también se observó aumentos relacionados con dosis estadísticamente significativos en tumores mamarios. OSHA eligió la respuesta de tumor de ratón hembra como la base de su avalúo de riesgo cuantitativo debido a la alta calidad de los datos, la clara respuesta a dosis de tumores hepáticos y pulmonares y la baja incidencia de tumores de trasfondo. Aunque la respuesta de tumores mamarios de las ratas hembras también estuvo relacionado a dosis, los datos de alta calidad y útiles al avalúo de riesgo cuantitativo, la serie de datos de ratón tenía una más clara respuesta a dosis en tumores hepáticos y pulmonares que la respuesta de tumores mamarios de rata y la incidencia de tumores de trasfondo de ratón era más baja que en la rata, Por lo tanto, se seleccionó la serie de datos de ratón para el análisis cuantitativo.

OSHA incluyó los adenomas pulmonares en el análisis cuantitativo. La evidencia sugiere que la presencia de tumores benignos con el potencial de progresar a malignidades debieran interpretarse como que representan una respuesta carcinogénica potencial. Esta creencia está apoyada por la visión de OSTP sobre carcinogénesis química (50 FR 10371). OSTP declaró que en ciertos sitios de tejido, tal como el pulmón, la mayoría de los tumores diagnosticados como benignos en realidad presentan una etapa en progreso a la malignidad. Adicionalmente, NIOSH, EPA CPSC y FDA también incluyeron las respuestas benignas en sus avalúos. Por lo tanto, es apropiado y a veces necesario combinar ciertos tumores benignos con los malignos que ocurren en el mismo tejido y en el mismo sitio de órgano. En particular, OST también declaró que "el juicio del patólogo en relación a si la lesión es un adenoma o un adenocarcinoma es tan subjetivo que es esencial que sean combinados para propósitos de estadísticas." (50 FR 10371).

OSHA seleccionó los tumores pulmonares en ratones hembras como el sitio específico de tumor para su avalúo de riesgo cuantitativo final. No hay razón *a priori* para preferir la respuesta de tumor pulmonar en ratón sobre la respuesta de tumor hepático, porque ambas series de datos fueron de alta calidad, mostraron una clara relación dosis-respuesta y tuvieron baja incidencia de tumores de trasfondo. De hecho, en el NPRM, la agencia informó estimados de riesgo generados usando ambos sitios. Sin embargo, para reducir la complejidad del análisis de PBPK final, que requería cómputos altamente intensivos, OSHA seleccionó un sitio (la respuesta de tumor pulmonar de ratón hembra), para sus estimados de riesgo finales. Los riesgos calculados usando la respuesta hepática de ratón hembra probablemente sería ligeramente más baja que la calculada usando la respuesta de tumor pulmonar. De la otra mano, el juntar el número total de animales con tumores que tuvieran ya fuera un tumor hepático o pulmonar (o ambos) (lo que es el procedimiento de los defensores de EPA [véase su 1986 Guidelines for Cancer Risk Assessment]), resultaría en estimados de riesgo más altos de los valores finales de OSHA.

El estudio de NTP ha sido descrito en la sección de los efectos a la salud y antes, en la discusión

relacionada a la identificación de riesgo.

2. Datos epidemiológicos

Los datos epidemiológicos no son tan útiles para el avalúo de riesgo cuantitativo como los datos sobre animales porque los datos sobre animales proveen una clara respuesta-dosis, con índices bastante claros de exposición, lo que no puede derivarse de los datos sobre epidemiología. Siendo todas las otras cosas iguales, los evaluadores de riesgo preferirían usar los datos epidemiológicos para evaluar el riesgo de cáncer en humanos sobre los datos de estudios sobre animales siempre que existan buenos datos sobre el riesgo a humanos. Sin embargo, la incertidumbre inherente a los estudios epidemiológicos debe ser justificada; en particular, los estudios "positivos" con frecuencia tienen límites de confiabilidad inferiores, que no anulan la hipótesis de no-efecto, mientras que los estudios ostensiblemente "negativos" con frecuencia tienen UCLs que apoyarían un efecto positivo substancial. OSHA cree que (véase la discusión a continuación), que esta última circunstancia aplica a algunos de los estudios de CM. Otros factores, tales como la duración e intensidad de una exposición química (la cual raramente puede ser controlada y precisamente medida en un estudio epidemiológico), dificultad en definir precisamente la población expuesta y otros factores confusores difuminan el poder predictor del estudio de los verdaderos riesgos.

Frecuentemente, los estudios animales indican una respuesta positiva a un químico particular cuando los estudios epidemiológicos de las exposiciones a un mismo químico fallan en exhibir un aumento estadísticamente significativo en riesgo. Cuando los estudios animales muestran que una substancia es carcinógena pero los estudios epidemiológicos son no-positivos, el riesgo mínimo que pudiera ser detectado por el estudio en humanos debiera ser estimado para evaluar la fortaleza del estudio epidemiológico y justificar su importancia en el proceso de avalúo de riesgo. Similarmente, el estimado de potencia basado sobre animales pueden ser usados para predecir el número muertes humanas que los investigadores probablemente hubieran visto en un estudio epidemiológico si el estimado basado sobre animales estuviera correcto; si el número observado de muertes humanas es marcadamente inconsistente con este número predicho, la relevancia del estimado basado sobre animales pudiera bien ser cuestionada. Si los datos humanos fueran equívocos, o el estudio epidemiológico no fuera suficientemente sensible para identificar un riesgo aumentado predicho por un bioestudio animal bien conducido, es necesario considerar los datos sobre animales para proteger a los trabajadores riesgo significativo. OSHA concluye que los estudios epidemiológicos sobre CM no tiene información adecuada sobre la cual basar un avalúo de riesgo cuantitativo. OSHA, sin embargo, ha usado los datos epidemiológicos analizados para determinar si los resultados son consistentes con aquellos estimados usando modelos de roedores. Esto está discutido más adelante en el documento.

3. Conclusiones

Después de revisar los datos sobre animales y los datos epidemiológicos cuantificables, OSHA ha determinado que la respuesta de tumor pulmonar de los ratones hembras es la serie de datos apropiada sobre la cual basar su avalúo de riesgo cuantitativo, y ha determinado que el modo más

científicamente apropiado para usar estos datos envuelve la construcción de un modelo PBPK para extrapolar de animales a humanos. OSHA cree que los datos epidemiológicos no-positivos, en particular los de Kodak, son de suficiente poder para anular los estimados de riesgo derivados de datos sobre animales.

C. Selección de modelo dosis-respuesta

Se ha usado varios enfoques para estimar el riesgo de cáncer debido a la exposición a agentes tóxicos. Un enfoque estándar usa los modelos matemáticos para describir la relación entre dosis (concentración aerosuspendida o sustituto de dosis de tejido blanco) y respuesta (cáncer). Generalmente, las funciones matemáticas se ajustan a los puntos de datos observados en diferentes niveles de exposición y aquellas funciones son usadas para estimar el riesgo que ocurriría a niveles de exposición bajo los observados. Las formas de estas curvas varían, alcanzando desde extrapolaciones lineales de los puntos observados a través del origen (cero exposición y cero riesgo), a curvas que pueden desviarse de la linealidad en las dosis más altas o más bajas. El uso de un modelo o curva particular puede ser justificado en parte mediante medidas estadísticas de "bondad de ajuste" para observar los puntos de datos. Esto es, hay varias pruebas estadísticas que miden cuán de cerca se ajusta una curva predicha de dosis-respuesta a los datos observados.

El modelo más comúnmente usado para la extrapolación de baja dosis es el modelo multietapa de carcinogénesis. Este modelo, derivado de una teoría propuesta por Armitage and Doll en 1961, está basado sobre la asunción biológica de que el cáncer está inducido por carcinógenos mediante una serie de etapas independientes. La Agencia cree que este modelo se conforme más cercanamente a lo que sabemos sobre la etiología del cáncer. No hay evidencia de que el modelo multietapa sea biológicamente inapropiado, especialmente para carcinógenos genotóxicos, lo que el CM con probabilidad sea. Los datos más recientes sometidos por ASIA [Exs. 117-124A] claramente añaden apoyo substancial al cuerpo de evidencia anterior que indica que uno o más metabolitos del CM es un carcinógeno genotóxico. La característica de linealidad de baja dosis de este modelo está científicamente requerida de cualquier exposición que confiera riesgo adicional sobre un nivel de trasfondo pre-existente de riesgo producido por un mecanismo similar o equivalente. Dada la conexión subyacente entre mutaciones de DNA y cáncer y la incidencia de trasfondo obvias de cáncer en la población humana, el abrumador consenso científico es que las genotoxinas siguen a las funciones lineales de baja dosis.

El modelo multietapa es generalmente considerado como un modelo conservador porque es aproximadamente lineal a baja dosis y porque no asume umbral para carcinogénesis, aunque hay otros modelos aceptables de carcinogénesis que son más conservadores a baja dosis. "No umbral" significa que cualquier cantidad incremental de exposición a un carcinógeno está asociada con alguna cantidad riesgo aumentado. "Aproximadamente lineal a baja dosis" significa que una unidad de cambio en dosis resultará en una unidad de cambio en riesgo a baja dosis.

El enfoque más común para establecer los parámetros en el modelo multietapa es asumir que la curva dosis-respuesta esta descrita por un polinomio de k-1 grados, donde k es el número de grupos de dosis probados. El modelo multietapa toma así la forma $P(\text{Cáncer}) = 1 - \exp(-f(\text{dosis}))$, con $f(\text{dosis})$ dada por: $f(\text{dosis}) = a + b_1(\text{dosis}) + b_2(\text{dosis})^2 + \dots + b_{k-1}(\text{dosis})^{k-1}$.

El número de etapas está especificado por k-1 y los parámetros a (el riesgo de trasfondo) y b_1 son estimados de los datos observados.

Las alternativas al modelo multietapa incluyen modelos de distribución de tolerancia tales como el modelo "probit" y el modelo "logit" y el modelo Weibull. Los modelos de distribución de tolerancia generalmente predicen relaciones de dosis-respuesta que son de forma sigmoideas. Así, estos modelos se acercan a cero más rápidamente que el modelo multietapa lineal. Esto significa que a bajas dosis, estos modelos predecirán riesgos más bajos que un modelo multietapa lineal.

En la reglamentación de CM, la mayoría del avalúo de riesgo sometido a la Agencia usó el modelo multietapa linealizado para predecir el riesgo. La diferencia en estimados de riesgo no se debieron generalmente al modelo de dosis-respuesta usado, sino si al evaluador del riesgo usó modelado farmacocinético para estimar la dosis de tejido blanco, y qué asunciones hayan sido usadas en el modelado farmacocinético.

D. Selección de medida de dosis

1. Estimación de dosis ocupacional

El propósito de la extrapolación de baja dosis es estimar el riesgo de cáncer a una variedad de exposiciones ocupacionales. Esto requiere que las dosis sean convertidas a unidades comparables a aquellas en las cuales la dosis experimental esté medida.

En su NPRM, OSHA primero convirtió la dosis experimental, medida en ppm, a una dosis inhalada, medida en mg/kg/día. El peso de cuerpo de ratón hembra usado en estos cálculos fue 0.0308 kg. El índice de respiración para ratones fue 0.05 m³/día. La Agencia entonces asumió que la dosis equivalente en mg/kg/día llevaría a riesgo equivalente. Una vez la dosis experimental (en ratones) hubo sido convertida a ppm usando el índice respiratorio humano de 9.6 m³/día de trabajo y peso de cuerpo humano de 70 Kg para estimar los riesgos a varios niveles de exposición potenciales. Para determinar la dosis para humanos correspondiente al riesgo estimado de los datos de ratón, OSHA usó las siguientes ecuaciones:

$$\text{Dosis}_M (\text{mg}/\text{m}^3) = \frac{\text{Dosis}_M (\text{ppm})(84.9\text{g}/\text{mol}) (1000 \text{ mg})(1000 \text{ L})}{24.45 \text{ L}/\text{mol} (\text{g})(\text{m}^3)}$$

$$\text{Dosis}_M (\text{mg/Kg/d}) = \frac{\text{Dosis}_M (\text{mg/m}^3)(0.05\text{m}^3/\text{d}) (6\text{hr}/24 \text{ hr})(5\text{d}/7\text{d})}{(0.0308 \text{ kg BW})}$$

OSHA asumió que los estimados de riesgo derivados de ratones a un mg/kg/d dado, sería equivalente a los riesgos experimentados por humanos a esa mg/kg/d. Las dosis en mg/kg/d en humanos fueron convertidas a ppm para determinar el riesgo en varias exposiciones de lugar de trabajo potenciales usando las siguientes ecuaciones:

$$\text{Dosis}_H (\text{mg/m}^3) = \frac{\text{Dosis}_H (\text{mg/kg/d}) (70\text{kg})}{(9.6\text{m}^3/\text{día de trabajo})(5\text{d}/7\text{d})(45\text{año}/70\text{año})}$$

$$\text{Dosis}_H (\text{ppm}) = \text{Dosis}_H (\text{mg.m}^3)(24.45\text{L/mol})/(84.9 \text{ g/mol})$$

Este proceso fue usado por K.S. Crump et al. en su avalúo de riesgo sometido a OSHA [Ex. 12]. El uso de mg/kg/d como medida de dosis ha sido criticado por Harvey Clewell, en representación de U.S. Navy [Ex. 19-59]. El declaró:

Hablando estrictamente, el concepto de dosis mg/kg/día aplica sólo a las exposiciones para las cuales el término "dosis administrada" está bien definido, lo que no incluye la exposición de inhalación a un químico volátil, lipofílico tal como el CM... Si se desea una dosis no farmacocinética sustituta, la elección debe ser la concentración de promedio de tiempo ponderado (ppm), según usada por FDA.

El Sr. Clewell prefirió el uso de sustitutos de dosis calculadas en el modelo PBPK para estimar el riesgo humano. OSHA ha dado cuidadosa consideración a los asuntos traídos por el Sr. Clewell y, en el avalúo de riesgo presentado aquí, consideró los sustitutos de dosis estimados en los modelos PBPK en concentraciones de promedio de tiempo ponderado además de la dosis mg/kg/d presentada en el NPRM.

Para todas las medidas de dosis usadas para estimar el riesgo a humanos, las asunciones usadas por OSHA para pesos de cuerpo y tiempo e índices de exposición fueron aquellos descritos anteriormente. En el avalúo de riesgo final de OSHA, se usó un análisis Bayesian y la distribución previa para índice de respiración estuvo centrada sobre el valor preferido de OSHA de 9.6 m³/d.

2. mg/kg/d Versus otras medidas de exposición

Los avalúos de riesgo cuantitativos basados sobre datos de animales conducidos bajo la asunción de que los animales y los humanos tienen iguales riesgos de las exposiciones vitalicias a químicos cuando la exposición es medida en la misma unidad para ambas especies. Las opiniones varían, sin embargo, sobre cuál sea la medida correcta de exposición. Para tumores de sitio de contacto, se acepta generalmente una conversión de ppm a ppm como medida de dosis. Para tumores sistémicos, las conversiones de dosis comúnmente usadas incluyen mg/kg/día (según usado por OSHA en su NPRM de CM), mg/área de superficie/día (con el área de superficie aproximada por BW^{3/4}/día y mg/kg/vitalicio. Cuando hay disponibles datos farmacocinéticos o metabólicos

adecuados y apropiados, estos datos se usan a veces para estimar la dosis interna. En el caso de CM, se ha recopilado datos metabólicos y se ha usado modelos farmacocinéticos por varios investigadores para estimar la dosis de tejido blanco para CM.

Algunos comentaristas [Exs. 19-28, 19-57] han expresado preocupación por que OSHA ha usado un factor de corrección de área de superficie en su avalúo de riesgo en el NPRM. De hecho, en el NPRM, OSHA extrapoló de ratones a humanos basado sobre peso de cuerpo en lugar de sobre área de superficie. Sin embargo, la Agencia pidió comentario sobre cuál factor de conversión de especie sería apropiado para usarse en el avalúo de riesgo final de OSHA y si la incorporación de información farmacocinética debiera influenciar la elección de factor de conversión. Dos comentaristas [Exs. 19-83, 23-21] se refirieron al documento interagencial sobre escalado interespecie que últimamente recomendó $BW^{3/4}$ como el factor de extrapolación apropiado en ausencia de información farmacocinética apropiada, aunque el documento también indica que los factores de extrapolación basados sobre BW o $BW^{2/3}$ también sería consistente con los datos disponibles (EPA Draft Report: "A cross-species scaling factor for carcinogen risk based on equivalence of mg/kg^{3/4}/día." 57 FR 24152, June 5, 1992).

También hubo consideración considerable sobre si era apropiado aplicar un factor de extrapolación tal como $BW^{3/4}$ o $BW^{2/3}$ además del modelado PBPK de dosis, para justificar las diferencias farmacocinéticas en índices de reparación de DNA y otras diferencias no metabólicas en susceptibilidad interespecie después de la incorporación de los datos de PBPK para CM en su actualización de borrador de 1987 de avalúo de riesgo de CM. En su avalúo de riesgo previo, que no incorpora los datos de PBPK, EPA también usó $BW^{2/3}$ como el factor de extrapolación. Ya que OSHA ha preferido la extrapolación de BW en otros avalúos de riesgo específicos de especie y ha usado BW como el factor de extrapolación en su mejor estimado de riesgo en el NPRM para CM, OSHA está de acuerdo con el avalúo del Dr. Lorenz Rhomberg [Ex. 28] de que OSHA debería continuar usando el peso de cuerpo como factor de extrapolación en su avalúo final de riesgo de CM. Así, el estimado de riesgo de OSHA no hace concesión para posibles diferencias farmacocinéticas entre roedores y humanos, o dentro de las diversas poblaciones humanas.

3. Modelado farmacocinético de dosis

OSHA ha discutido asuntos que relacionan el uso de datos farmacocinéticos en su NPRM. Estos asuntos fueron explorados durante las vistas y en comentarios pre y post vista. En respuesta al ANPR [51 FR 42257], Dow Chemical sometió la documentación de un modelo farmacocinético fisiológicamente basado (PBPK) [Exs. 8-14d y 10-6a], desarrolladas para CM por Reitz and Anderson, los cuales describieron los índices de metabolismo de pasajes de MFO y GST y los niveles de CM y sus metabolitos en varios tejidos de ratas, ratones, cricetos y humanos. Este modelo fue presentado como la base para convertir una dosis aplicada (externa) de CM a una dosis interna de metabolito activo en el pulmón e hígado de en varias especies bajo escenarios de exposición a CM.

Desde la publicación del NPRM, varias partes han sometido modelos farmacocinéticos o comentarios sobre modelado al expediente de reglamentación. Estos están discutidos en detalle a continuación.

a. Asuntos generales en el modelado PBPK. El modelado farmacocinético fisiológicamente basado puede ser una herramienta útil para describir la distribución, metabolismo y eliminación de un compuesto de interés bajo condiciones de exposición actual y, si los datos fueran adecuados, puede permitir la extrapolación a través de los niveles de dosis, a través de rutas de exposición y a través de las especies. Una limitación del uso de PBPK es la falta difundida de datos fisiológicos y metabólicos adecuados y apropiados para definir el modelo. En particular, las dificultades surgen al tratar de definir un modelo para el cual el mecanismo de carcinogénesis no haya sido establecido, cuando no está claro si hubiera habido una concordancia de sitio de tumor entre las especies y cuando los pasajes metabólicos responsables de la carcinogénesis no han sido determinados.

La concentración de un químico en aire o la dosis total inhalada (mg/kg/d), puede no ser la dosis más biológicamente relevante a usarse al comparar la toxicidad a través de las dosis o las especies. La medida de dosis que sería más útil en el avalúo de riesgo es la dosis al tejido blanco del químico o metabolito que se conozca que sea la causa directa del efecto de toxicidad. Generalmente, esta cantidad es desconocida en casi todos los casos debido a la parte carcinogénica próxima es usualmente reactiva y por lo tanto, muy difícil de medir en sistemas biológicos. Ya que el agente tóxico próximo es improbable que sea una cantidad fácilmente medida en el laboratorio, es a veces deseable usar concentraciones sustitutas, calculadas mediante métodos tales como modelado PBPK, para obtener un estimado más directo de una relación dosis-respuesta. Ejemplos de sustitutos de dosis que pueden ser relevantes al mecanismo tóxico de acción de un químico son concentraciones pico de un metabolito particular en un sitio de tejido blanco, área bajo la curva concentración-tiempo del químico madre o un metabolito relevante.

Si la dosis sustituta seleccionada es directamente relevante al mecanismo de acción de un químico, hay mayor confianza en el estimado de riesgo generado usando el sustituto de dosis que aquellos generados usando la concentración inhalada total. Si el mecanismo de acción de un químico es incierto, y por lo tanto la relevancia del sustituto de dosis. Los estimados de riesgo del modelado también puede estar limitado por la calidad y cantidad de los datos metabólicos disponibles. Ya que los estimados dependen directamente de la dosis o sustituto de dosis, todos los parámetros fisiológicos relevantes y todos los pasajes metabólicos relevantes en todos los tejidos blanco de todas las especies bajo investigación son críticos. Además, las medidas de incertidumbre y la variabilidad interindividuo de estos parámetros debe ser generada.

En su NPRM, OSHA solicitó información sobre la adecuacidad del modelado farmacocinético fisiológicamente basado para el avalúo de riesgo de CM. Específicamente, OSHA hizo las siguientes preguntas:

(a)) Cómo puede aplicarse mejor la farmacocinésis al avalúo de riesgo del CM y cuáles son las

limitaciones actuales de este enfoque en la cuantificación de los riesgos a la salud?) Qué peso debiera OSHA dar a sus datos farmacocinéticos en su avalúo de riesgo y por qué?

(b) Dado que cinco avalúos de riesgo separados han utilizado los modelos farmacocinéticos para CM en cinco maneras diferentes (resultando en reducción de 0 a 170 veces en el riesgo final al ser comparado con avalúos que no utilizan datos farmacocinéticos),) cómo puede OSHA utilizar mejor los datos farmacocinéticos existentes y aún tener certidumbre de la protección a la salud de los trabajadores?

(c)) Qué parámetros en los modelos farmacocinéticos son más sensibles a errores en medición o estimación?) Puede una base de datos aumentada reducir las incertidumbres en estos parámetros?

(d)) Cuánta confianza puede darse a los datos sobre metabolismo del CM humano *in vitro*, especialmente para tejido pulmonar?) Cómo afectará la variabilidad humana en estos parámetros a la extrapolación de riesgo de las especies roedoras?

(e)) Hay algún estudio en progreso que intente verificar la capacidad predictora del modelo *in vivo* (e.g., dando dosis en un bioestudio vitalicio que produzca cáncer en una especie distinta del ratón B6C3F1 y las ratas F344 y Sprague-Dawley)?

(f) OSHA reconoce las grandes áreas de incertidumbre que existen en los procedimientos de avalúo de riesgo de dosis aplicada. Si el modelado farmacocinético reduce estas incertidumbres,) puede la reducción en incertidumbre ser cuantificada?) Se introducen incertidumbres al proceso de avalúo de riesgo mediante el uso de modelos farmacocinéticos?

(g) Al usar los modelos farmacocinéticos en el proceso de avalúo de riesgo, se hace la asunción sobre el mecanismo de acción del cloruro de metileno.) Hay algún nuevo estudio sobre el mecanismo carcinogénico de acción del CM que apoye o refute esta asunción?

(h) Si el proceso carcinogénico no es, de hecho, el resultado del metabolito del pasaje GST solamente, sino que se debe a una combinación de metabolitos o a una combinación del compuesto madre mas los metabolitos,) cómo se afectaría el modelo farmacocinético y el avalúo de riesgo subsiguiente?) Pueden estos efectos ser cuantificados?

(i) Una de las asunciones hechas en el modelo farmacocinético es que el tejido blanco para el CM son el hígado y el pulmón.) Puede este modelo predecir incidencias de cáncer en otros sitios? Si no,) hay manera de factorizar la consideración de posibles cánceres humanos inducidos por CM en otros sitios distintivos del hígado y el pulmón?

(j) OSHA solicita información que apoye o refute el escalado alométrico interespecie basado sobre el

peso del cuerpo o el área de superficie del cuerpo.

OSHA revisó los comentarios y testimonios sobre estos asuntos de un perito [Ex. 25-E]; representantes de otras agencias del gobierno de EEUU, incluyendo a NIOSH [Exs. 19-46, 41], EPA [Exs. 25-D, 28], CPSC [Ex. 25-I] y U.S. Navy [Exs. 19-59, 96]; el estado de California [Ex. 19-17]; la Halogenated Solvents Industry Alliance (HSIA) [Exs. 19-45, 19-83, 105]; y la UAW [Exs. 19-22, 23-13, 61]. Los comentarios y testimonios del perito, las otras agencias de gobierno y la Halogenated Solvents Industry en general reflejaron la opinión de que la información farmacocinética estaba suficientemente desarrollada en el caso de CM para justificar su uso en la estimación de los riesgos de cáncer humano. La visión predominante entre estos comentaristas y participantes en las vistas fue que los datos recopilados para CM y el modelo farmacocinético desarrollado por Reitz and Anderson representaron adecuadamente el metabolismo de CM en ratones. Muchos comentaristas también creyeron que era razonable concluir que la incidencia de tumores pulmonares y hepáticos en los ratones B6C3F1 fue el resultado del metabolito GST. Según descrito en mayor detalle a continuación, OSHA en general está de acuerdo en que el enfoque de PBPK es razonable para evaluar los riesgos de cáncer del CM. De hecho, la Agencia ha evaluado los modelos PBPK, determinaron que había varias deficiencias en cada uno de los modelos y los mejoraron en sus cuantificaciones de riesgo finales.

Un participante en la reglamentación se opuso tenazmente a usar datos farmacocinéticos en el avalúo de riesgo de CM. El Dr. Franklin Mirer [Ex. 61], en representación de UAW, declaró:

El modelo farmacocinético avanzado para la carcinogénesis de cloruro de metileno es incorrecto y no debe ser usado para avalúo de riesgo cuantitativo.

El Dr. Mirer mostró preocupación particularmente porque el modelo PBPK ignoró los datos sobre los bioestudios de cáncer de ratas y porque el modelo estaba basado sobre una "hipótesis mecanística."

El Dr. Mirer reiteró sus preocupaciones en respuesta a la reapertura del expediente de reglamentación del 24 de octubre de 1995 [Ex. 126-31], declarando:

El mensaje simple es que OSHA no debiera dar peso adicional al argumento farmacocinético. Que OSHA diera al argumento algún peso adicional significaría que OSHA está ignorando un cuerpo de evidencia substancial en relación a la carcinogenicidad del cloruro de metileno en especies animales adicionales.

El Dr. Mirer continuó:

La hipótesis farmacocinética no es convincente aún como explicación de las diferencias en tumores pulmonares y hepáticos en ratones y ratas.

OSHA comparte las preocupaciones del Dr. Mirer de que el mecanismo de carcinogenicidad para CM no ha sido claramente establecido y que usar el modelado farmacocinético pudiera llevar a

estimados de riesgo que ignoren los datos de tumores de ratas. La Agencia señala que ha usado los datos sobre ratas de NTP en su identificación de riesgo para CM. OSHA también ha determinado, sin embargo, que los datos sobre ratones representan la serie de datos más fuerte sobre la cual basar un avalúo de riesgo cuantitativo y señala que los estimados de riesgo basados sobre los datos de ratas (sin ajuste de dosis basado sobre PBPK), son similares a los estimados de riesgo finales de OSHA usando datos sobre ratones y un análisis PBPK.