

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

**EXPOSICIÓN OCUPACIONAL A
1,3-BUTADIENO**

Federal Register Vol. 61, No. 214, Monday, November 4, 1996/Rules and Regulations

Registro Federal Vol. 61, Núm. 214, lunes, 4 de noviembre de 1996/Reglas y Reglamentos

29 CFR Partes 1910, 1915 y 1926

[Docket No. H-041]

RIN 1218-AAB3

Exposición Ocupacional a 1,3-Butadieno

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

Acción: Regla final.

Sumario: Esta regla final enmienda la norma ocupacional de la Administración de Seguridad y Salud Ocupacional (OSHA), que reglamenta la exposición de los empleados a 1, 3-butadieno (BD).

La base para esta acción es una determinación por el Secretario Auxiliar, basado sobre estudios animales y datos humanos que el límite de exposición permisible (PEL) actual de OSHA, que permite que los empleados estén expuestos a BD en concentraciones de hasta 1,000 parte de BD por millón de partes de aire (1,000 ppm), como un promedio de tiempo ponderado de ocho horas (TWA), no protege adecuadamente la salud de los empleados. Los nuevos límites de OSHA reducen el PEL para BD a un TWA de ocho horas de 1 ppm y un límite de exposición a corto término (STEL) de 5 ppm por 15 minutos. Se incluye un nivel de acción de 0.5 ppm como un TWA de ocho horas en la norma como un mecanismo para eximir a los patronos de algunas cargas administrativas, tales como monitoreo de exposición de empleados y vigilancia médica, en casos donde el patrono pueda demostrar que las exposiciones de los empleados son consistentemente a muy bajos niveles. Para reducir las exposiciones y proteger a los empleados, la norma de BD de OSHA incluye requisitos tales como controles de ingeniería, prácticas de trabajo y equipo de protección personal, medición de las exposiciones de los empleados, adiestramiento, vigilancia médica, comunicación de riesgos, áreas reglamentadas, procedimientos de emergencia y archivo de expedientes.

Fechas: La fecha de vigencia de estas enmiendas es el 3 de febrero de 1997. La fecha de comienzo para los controles de ingeniería es el 4 de noviembre de 1998, y para el programa de meta de exposición el 4 de noviembre de 1999. Las partes afectadas no tienen que cumplir con los requisitos de recopilación de información en § 1910.1051(d) monitoreo de exposición, § 1910.1051(f) métodos de cumplimiento, § 1910.1051(g) programa de meta de exposición, § 1910.1051(h) protección respiratoria, § 1910.1051(j) situaciones de emergencia, § 1910.1051(k) selección y vigilancia médica, § 1910.1051(l) comunicación de BD a los empleados; y § 1910.1051(m) archivo de expedientes, hasta que el Departamento del Trabajo publique un aviso en el **Federal Register** informando al público que OMB ha aprobado estos requisitos de información

bajo la Paperwork Reduction Act de 1995.

Otras fechas: Los comentarios escritos sobre los requisitos de trámites de esta regla final deben ser sometidos en o antes del 3 de enero de 1997.

Direcciones: De acuerdo con el 28 U.C.S. 2112(a), la Agencia designa a las siguientes partes para recibir peticiones de revisión de esta reglamentación: Associate Solicitor for Occupational Safety and Health, Office of the Solicitor, Room S-4004, U.S. Department of Labor, 200 Constitution Ave., NW., Washington, DC 20210. Estas peticiones deben ser sometidas no más tarde de 59no día calendario siguiente a la promulgación de esta reglamentación; véase la sección 6(f) de la Occupational Safety and Health Act de 1970 (Ley OSH), 29 CFR 1911.18(d), y *United Mine Workers of America v. Mine Safety and Health Administration*, 900 F.2d 384 (D.C. Circ. 1990).

Los comentarios en relación a las cargas de trámites de esta reglamentación, las cuales están siendo solicitados por la Agencia según requerido por la Paperwork Reduction Act de 1995, han de ser sometidos a la Docket Office, Docket No. ICR 96-13, U.S. Department of Labor, Room N-2625, 200 Constitution Avenue, NW., Washington DC 20210, teléfono (202) 219-7894. Los comentarios escritos limitados a 10 páginas o menos de longitud también pueden ser transmitido a través de facsímil a (202) 219-5046.

Para más información, comuníquese con: Ms. Anne Cyr, OSHA Office of Public Affairs, United States Department of Labor, Room N-3641, 200 Constitution Avenue, NW., Washington, DC 20210, teléfono (202) 219-8151. Las copias de la petición de los requisitos de información referenciados están disponibles para inspección y copia en la Docket Office y será enviada a las personas que las pidan copias llamando a Vivian Allen al (202) 219-8076. Para copias electrónicas de la 1,3-Butadiene Information Collection Request, comuníquese con la Web Page de OSHA en Internet en [http:// www.osh.gov/](http://www.osh.gov/).

I. Recopilación de Información; Petición de Comentarios

Esta norma final de 1,3-Butadieno contiene los requisitos de recopilación de información que estaban sujetos a revisión por la Office of Management and Budget (OMB), bajo la Paperwork Reduction Act (PRA95) 44 U.S.C. 3501 *et seq.* (véase también 5 CFR parte 1320). PRA95 define la recopilación de información como "obtener, causar que se obtenga, solicite o requiere la divulgación a terceras partes o al público de hechos u opiniones por o para una agencia no empee la forma o formato." (44 U.S.C. 3502 (3)(A))

El título, la necesidad de, y el uso propuesto de la información, un sumario de las recopilaciones de información, descripción de los respondedores, y la frecuencia de las respuesta requerida para

implantar la recopilación de información requerida está descrita a continuación con un estimado de los costos anuales y las cargas de informe (según requerido por 5 CFR 1320.5(a)(1)(iv) y 1320.8(d)(2). Incluido en el estimado está el tiempo para revisar las instrucciones, recopilar y mantener los datos necesarios, y completar y revisar la recopilación de información.

OSHA invita a comentarios sobre si la recopilación de información propuesta:

- Garantiza que la recopilación es necesaria para la ejecución apropiada de las funciones de la agencia, incluyendo si la información vaya a tener utilidad práctica;
- Estima la carga proyectada precisamente, incluyendo si la metodología y asunciones usadas son válidas;
- Mejora la calidad, utilidad y claridad de la información a ser recopilada: y
- Minimiza la carga de la recopilación de información sobre aquellos que hayan de responder, incluyendo el uso de técnicas de recopilación automatizadas, electrónicas, mecánicas u otras formas de tecnología de información, e.g. permitir submisiones electrónicas de respuestas.

Título: 1, 3-Butadieno, 29 CFR 1910.1051.

Descripción: La norma final de 1,3-Butadieno es una norma de seguridad y salud ocupacional que minimizará la exposición ocupacional a BD. Los requisitos de recopilación de información son componentes esenciales que protegerán a los empleados de la exposición ocupacional. La información será usada por los patronos y empleados para implantar la protección requerida por la norma. OSHA usará alguna de la información para determinar el cumplimiento con la norma.

Sumario de la recopilación de información: Las recopilaciones de información contenidas en la norma incluyen las disposiciones concernientes a datos objetivos; expedientes de monitoreo de exposición y notificación a los empleados de los resultados de monitoreo de exposición; planes escritos para cumplimiento, protección respiratoria; meta de exposición; situaciones de emergencia; información al médico; exámenes y expedientes médicos de los empleados; expedientes de pruebas de ajuste de respiradores; y programas de adiestramiento; acceso de los empleados a expedientes de monitoreo y médicos; y transferencia de expedientes a NIOSH.

Respondedores: Los respondedores son patronos cuyos empleados pueden tener exposición ocupacional a BD sobre el nivel de acción. Las principales industrias afectadas son: Producción de polímero de 1,3-Butadieno, purificación de monómeros de 1,3-Butadieno, Terminales Separados de Butadieno y productores de 1,3-Butadieno crudo.

Frecuencia de respuesta: La frecuencia de monitoreo y notificación de resultados de monitoreo dependerá de los resultados de los eventos de monitoreo inicial y subsiguiente y el número de diferentes clasificaciones de trabajo con exposición a BD. Se requiere que se establezca y actualice el Plan de Cumplimiento según sea necesario y que sea revisado al menos anualmente. El Programa de meta de exposición, Programa de protección respiratoria y Planes de emergencia se requiere que sean establecidos y actualizados según sea necesario. Para aquellos que usen respiradores, las pruebas de ajuste están requeridas inicialmente, y al menos anualmente a partir de entonces. La frecuencia de los exámenes médicos dependerá del número de empleado que vayan a estar expuestos en o sobre el nivel de acción o en situaciones de emergencia. Se requiere que se mantenga un expediente de programa de adiestramiento. Aquellos patronos que usen datos objetivos en lugar de monitoreo deben mantener expedientes de los datos objetivos en los que se confía. El patrono debe mantener expedientes de monitoreo de exposición y médicos que incluyan información provista al médico u otro profesional del cuidado de la salud licenciado, de acuerdo con el 29 CFR 1910.20. Debe mantenerse expedientes de pruebas de ajuste para los usuarios de respiradores hasta que se administre la próxima prueba de ajuste.

Costo estimado total: Primer año \$820, 388; Segundo año \$658,949; y Tercer año y años recurrentes \$75,890.

Total de horas de carga : El total de horas de carga para el primer año se estimó en 8,077; para el segundo año, la carga se estimó en 5,342; y para el tercer año y años recurrentes, la carga se estima en 1,587. La Agencia ha sometido una copia de la petición de recopilación de información a OMB para su revisión y aprobación. Se pide a las partes interesadas que manden comentarios en relación a la recopilación de información a la OSHA Docket Office, Docket No. ICR 96-13, U.S. Department of Labor, Room N-2625, 200 Constitution Avenue, NW., Washington, DC 20210. Los comentarios escritos limitados a 10 páginas o menos también pueden ser transmitidos mediante facsímil a (202) 219-5046.

Los comentarios sometidos en respuesta a este aviso estarán sumariados e incluidos en la petición de aprobación a la Office of Management and Budget de la petición final de recopilación de información; también formarán parte del expediente público.

La copia de la petición de recopilación de información referenciada está disponible para inspección y copia en la OSHA Office Docket y será enviada a las personas que pidan copias llamando a Vivian Allen al (202) 219-8076. Hay copia electrónica disponible en la WebPage de OSHA en Internet en <http://www.osha.gov/>.

Federalismo

Esta norma ha sido revisada de acuerdo con la Executive Order 12612, 52 FR 41685 (October 30,

1987), concerniente al federalismo. Esta Orden requiere que las agencias, a la extensión posible, se abstengan de limitar las opciones de política estatales, consulten con los estados para tomar cualesquiera acciones sólo cuando haya clara autoridad constitucional y la presencia de un problema de alcance nacional. Esta orden dispone para el sobreseimiento de la ley estatal sólo cuando haya la 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 Occupational Safety and Health Act (OSH Act), expresa la clara intención del Congreso de sobreseer las leyes estatales con respecto a la cual 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 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 estatales deben, entre otras cosas, ser tan efectivos en proveer empleo y lugares de empleo tan seguros y salubres como las normas federales. Donde tales normas sean aplicables a productos distribuidos o usados en el comercio interestatal, no deben cargar indebidamente al comercio y deben estar justificadas por condiciones local esforzados. (Véase la sección 18(c)(2).)

La norma final de BD está bosquejada de modo que los empleados en todos los estados estén protegidos por normas generales orientadas 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 estatales 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 permite la flexibilidad para que los estados y los patronos provean tanta permisividad como sea posible al usar cumplimiento alternativo.

Esta regla final de BD discute un problema de salud relacionado con exposición ocupacional a BD que tiene alcance nacional.

Aquellos estados que hayan elegido participar bajo la sección 18 de la Ley OSH no serían sobreseidos por esta reglamentación y podrán tratar con condiciones locales especiales dentro del marco de trabajo provisto por esta norma orientada a la ejecución mientras garantiza 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 aprobados por OSHA deben adoptar una norma comparable dentro de los cinco meses de la publicación de la norma final para exposición a 1,3-butadieno o enmendar las normas existentes si no es al menos "tan efectiva" como la norma federal. Los estados y territorios con planes estatales de seguridad y salud ocupacional son: Alaska, Arizona, California, Connecticut (para empleados del gobierno local solamente), Hawaii, Indiana, Iowa, Kentucky, Maryland, Michigan, Minnesota, Nevada,

Nuevo México, 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 sea promulgada una norma estatal, OSHA federal proveerá asistencia de ejecución provisional, según sea apropiado, en los estados y territorios.

Información Suplementaria:

I. Tabla de Contenido

El preámbulo a la norma final sobre exposición ocupacional a BD discute las acciones que llevaron a la regla final, las propiedades físicas y químicas del BD, manufactura y uso de BD, efectos a la salud debidos a la exposición, grado y significado del riesgo presentado, un análisis de la factibilidad tecnológica y económica, análisis de impacto reglamentario y flexibilidad reglamentaria y las razones detrás de las disposiciones específicas establecidas en la norma propuesta. La discusión sigue este bosquejo:

- I. Tabla de Contenido
- II. Autoridad Legal Pertinente
- III. Acciones que llevaron a la regla final
- IV. Identificación química, Producción y Uso
 - A. Monómero
 - B. Polímero
- V. Efectos a la Salud
 - A. Introducción
 - B. Carcinogenicidad
 - 1. Estudios animales
 - 2. Estudios epidemiológicos
 - C. Efectos Reproductores
 - D. Otros Efectos Relevantes
- VI. Avalúo de Riesgo Cuantitativo
- VII. Significado del Riesgo
- VIII. Sumario del Análisis de Impacto Económico Final
- IX. Impacto Ambiental
- X. Sumario y Explicación de la Norma Propuesta

- A. Alcance y Aplicación
- B. Definiciones
- C. Límites de Exposición Permisibles
- D. Monitoreo de Exposición
- E. Áreas Reglamentadas
- F. Métodos de Cumplimiento
- G. Programa de Meta de Exposición
- H. Protección Respiratoria
- I. Equipo de Protección Personal
- J. Situaciones de Emergencia
- K. Selección y Vigilancia Médica
- L. Comunicación de Riesgos
- M. Archivo de Expedientes
- N. Fechas

- O. Apéndices

XI. Regla Final y Apéndices

Apéndice A: Hoja de Información de Seguridad de Materiales para 1,3-Butadieno

Apéndice B: Guías Técnicas de Substancia para 1,3-Butadieno

Apéndice C: Guías de Selección y Vigilancia Médica

Apéndice D: Métodos de Muestreo y Analítico para 1,3-Butadieno

Apéndice E: Procedimientos de Pruebas de Ajuste de Respirador

Apéndice F: Cuestionarios Médicos

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 saludables y preservar nuestros recursos humanos." 29 U.S.C. 651(b). Para alcanzar esta meta, el Congreso autorizó al Secretario del Trabajo a promulgar y ejecutar normas de seguridad y salud ocupacional U.S.C. 655(a) (que autoriza la adopción sumaria de las normas de consenso y federales dentro de los dos años de estatuida la Ley), 655(b) (que autoriza la promulgación de las normas conforme a notificación y comentario), 654(b) (que requiere a los patronos el

cumplimiento con las normas de OSHA.)

Una norma de seguridad o salud es una norma "que requiere condiciones, o la adopción y uso de una o más prácticas, medios, métodos, 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 y efectiva de costo, consistente con las acciones previas de la Agencia o está apoyada por evidencia substancial y es mejor capaz de 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 consideraría un riesgo de muerte de 1/1000 durante una vida de trabajo de 45 años ser un riesgo significativo. *Industrial Union Dep't v. American Petroleum Institute*, 448 U.S. 607, 646 (1980) (norma de benceno). OSHA está de acuerdo en que un riesgo de muerte de 1/1000 durante una vida de trabajo *está muy dentro del alcance de riesgo que* la gente razonable consideraría significativo. Véase, por ejemplo, *International Union, UAW v. Pendergrass*, 878 F.2d 389 (D.C. Cir. 1989) (norma de formaldehído); *Building and Constr. Trades Dep't, AFL-CIO v. Brack*, 838 F. 2d 1258, 1265 (D.C. Cir. 1988) (norma de asbesto).

Una norma es tecnológicamente factible si las medidas de protección que requiere ya existen, pueden crearse con la tecnología disponible, o pueden crearse con la tecnología que pueda razonablemente esperarse que se desarrolle. *American Textile 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 la estructura de rentabilidad o competitividad a largo plazo. Véase *ATMI*, 452 U.S. at 530 n. 55; *AISI*, 939 F. 2d at 980.

Una norma es efectiva de costo si las medidas de protección que requiere son las menos costosas de 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 655, 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 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 los riesgos a la salud. ATMI, 452 U.S. at 509.

La sección 6(b)(5) también dirige a OSHA 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 la consecución del más alto grado de protección de la seguridad y la salud * * * los últimos datos científicos * * * la factibilidad y experiencia obtenida bajo esta y otras leyes de seguridad y salud". *Id.*

La sección 6(b)(7) de la Ley autoriza a OSHA a incluir desde normas requiriendo etiquetas, monitoreo, exámenes médicos y otra información agrupada y provisiones transmitidas.

Finalmente, cualesquiera practica, norma deberá "ser expresada en términos de criterios objetivos y de ejecución deseada." *Id.*

III. Acciones Conducentes a la Norma Final

La norma adoptada para BD por OSHA en 1971, conforme a la Sección 6(a) de la Ley OSH, 29 U.S.C. 655 desde la Walsh-Healey Federal Standard actual requería a los patronos garantizar que la exposición de los empleados no exceda a 1,000 ppm determinado como un TWA de ocho horas (29 CFR 1910.1000, Table Z-1). La fuente de la norma Walsh-Healy fue el Valor Límite de Umbral (TLV) para BD desarrollado en 1968 por la American Conference of Governmental Industrial Hygienists (ACGIH). Este TLV fue adoptado por la ACGIH para evitar irritación y narcosis.

En 1983, la National Toxicology Programa (NTP) reveló los resultados de un estudio animal que indicaba que el BD causa cáncer en roedores. (Ex. 20) Basado sobre la fuerza de los resultados de este estudio animal, ACGIH en 1983 clasificó el BD como carcinógeno a animales y en 1984 recomendó un nuevo TLV de 10 ppm. (Ex. 2-4) Basado sobre la misma evidencia, el 9 de febrero de 1984, el National Institute for Occupational Safety and Health (NIOSH) publicó un Current Intelligence Bulletin (CIB), recomendando que el BD fuera considerado como un carcinógeno ocupacional, teratógeno potencial y un posible riesgo reproductor. (Ex. 23-17) El 5 de enero de 1984, OSHA publicó una Request for Information (RFI), en conjunto con la Environmental Protection Agency (EPA) (49 FR 844) EPA también anunció el inicio de una revisión de 180 días bajo la sección de autoridad de la sección 4(f) de la Toxic Substance Control Act (TSCA) (49 FR 845) para determinar "si iniciar acción apropiada para evitar o reducir el riesgo del químico o para hallar que el riesgo no es irrazonable". Los comentarios debían estar sometidos a OSHA para el 5 de marzo de 1984. El 4 de abril de 1984, OSHA extendió el período de comentarios hasta próximo aviso. (49 FR 13389)

Las peticiones de una Emergency Temporary Standard (ETS) de 1 ppm o menos para la exposición de los trabajadores a BD fueron sometidas a OSHA el 23 de enero de 1984, por la United Rubber,

Cork, Linoleum and Plastic Workers of America (URW), la Oil, Chemical and Atomic Workers (OCAW), la International Chemical Workers Union (ICWU), y la American Federation of Labor and Congress of Industrial Organizations (AFL-CIO). (Ex. 6-4) El 7 de marzo de 1984, OSHA denegó las peticiones sobre el terreno de que la Agencia aún estaba evaluando los datos de salud para determinar si era apropiada una acción reglamentaria.

Basado sobre su revisión de 180 días de BD, EPA publicó el 15 de mayo de 1984, un Advance Notice of Proposed Rulemaking (ANPR) (49 FR 20524), para anunciar el inicio de una acción reglamentaria por EPA para determinar e implantar los medios más efectivos de controlar las exposiciones al BD químico bajo TSCA. EPA estaba trabajando con OSHA porque la evidencia disponible indicaba que la exposición a BD ocurre principalmente dentro del trabajo.

La información recibida en respuesta a este ANPR fue usada por EPA para desarrollar evaluación de riesgos. Subsiguientemente, EPA identificó el BD como un carcinógeno humano probable (Grupo B2), conforme a la clasificación de carcinógenos de EPA y concluyó que las exposiciones actuales durante la manufactura de BD y su procesado a polímeros presentaba un riesgo irrazonable de lesión a la salud humana. (Ex. 17-4) Además, EPA determinó que los riesgos asociados con la exposición a BD puede ser reducida a una extensión suficiente mediante acción tomada bajo la Ley OSH. Siguiendo a estos hallazgos, EPA, de acuerdo con la sección 9(a) de TSCA, el 10 de octubre de 1985 (50 FR 41393), refirió el BD a OSHA para dar a la Agencia la oportunidad de reglamentar el químico bajo la Ley OSH. EPA pidió que OSHA determine si los riesgos descritos en el informe de EPA pudieran ser evitados o reducidos a una extensión suficiente mediante acción tomada bajo la Ley OSH y luego si se hiciera tal determinación, OSHA emita una orden declarando si la manufactura y uso de BD descritos en el informe de EPA presentan el riesgo descrito allí. EPA pidió a OSHA que respondiera dentro de 180 días, para el 8 de abril de 1986. (50 FR 41393).

El 27 de diciembre de 1985, OSHA publicó una notificación solicitando comentarios públicos sobre el informe de referido de EPA. (50 FR 52952). Basado sobre toda la información disponible, OSHA, el 11 de abril de 1986, respondió al informe de referido de EPA haciendo una determinación preliminar (50 FR 12526), de que una norma revisada de OSHA que limitara la exposición a BD pudiera evitar o reducir el riesgo de exposición a BD pudiera evitar o reducir el riesgo de exposición a extensión suficiente y que tales riesgos han sido precisamente descritos por EPA en el informe. El 1ero de octubre de 1986, OSHA publicó un ANPR (51 FR 35003), para iniciar una reglamentación dentro del significado de la sección 9(a) de TSCA. La Agencia pidió que se sometieran los comentarios para el 30 de diciembre de 1986. Veinticuatro comentarios, algunos de ellos que contenían nueva información, fueron recibidos en respuesta al ANPR. (Ex. 28-1 a 28-24) Se recibió seis comentarios adicionales después de la fecha límite. (Ex. 29-1 a 29-6)

OSHA revisó los datos disponibles y condujo avalúo de riesgos, análisis de impacto y flexibilidad

reglamentarios. Estos análisis demuestran que la norma propuesta era tecnológica y económicamente factible y reducía substancialmente el riesgo de cánceres y otros efectos adversos a la salud.

El 10 de agosto de 1990, OSHA publicó su regla propuesta para reglamentar la exposición ocupacional a 1,3-butadieno. (55 FR 32736) Basado sobre la revisión de la Agencia de estudios de animales expuestos y de estudios epidemiológicos y tomando en cuenta las consideraciones de factibilidad tecnológica y económica, OSHA propuso un límite de exposición permisible (PEL) de 2 ppm como un promedio de tiempo ponderado de ocho horas y un límite de exposición a corto término (STEL) de 10 ppm para un período de muestreo de 15 minutos. También se incluyó en la propuesta un "nivel de acción" de 1 ppm que propulsó ciertas disposiciones de la norma tales como vigilancia médica y adiestramiento.

OSHA convocó a vista pública en Washington, DC., del 15-23 de enero de 1991, y en Nueva Orleans, Louisiana, del 20-21 de febrero de 1991. El período postvista para la submisión de resúmenes, argumentos y sumarios había de terminar el 22 de julio de 1991, pero fue extendido por el Juez de Derecho Administrativo hasta el 13 de diciembre de 1991, para dar a los participantes tiempo de revisar los nuevos datos sobre las exposiciones a baja dosis sometidas por NTP y el avalúo de riesgo cuantitativo hecho por NIOSH. El período de comentarios cerró el 10 de febrero de 1992.

En el otoño de 1992, la International Agency for Research on Cancer (IARC) publicó los resultados del Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, el cual revisó el potencial carcinogénico de BD y concluyó que:

Hay evidencia limitada para la carcinogenicidad en humanos del 1,3-butadieno * * * Hay evidencia suficiente para la carcinogenicidad en animales experimentales * * * (Ex. 125)

IARC declaró que su evaluación general los llevó a concluir que "el 1, 3-butadieno es probablemente carcinógeno para humanos (Grupo 2A)." (Ex. 125)

Para asistir a OSHA en emitir una regla final para BD, los representantes de las principales uniones y grupos de industria envueltos en el bosquejo de un acuerdo voluntario alcanzado por las partes con fecha del 29 de enero de 1996, delineando las disposiciones que habían acordado y que recomendaron que fueran incluidas en la regla final. La carta que transmitía el acuerdo estaba firmada por J.L.McGraw para el International Institute of Synthetic Rubber Producers (IISRP), Michael J. Wright para la United Steelworkers of America (USWA), y Michael Sprinker (CWU). El comité que trabajó sobre los asuntos también incluyó a Joseph Holtshouser de la Goodyear Tire and Rubber Company, Carolyn Phillips de la Shell Chemical Company, en representación de la Chemical Manufacturers Association, Robert Richmond de la Firestone Synthetic Rubber and

Latex Company, y Louis Beliczky (anteriormente de la URW) y James L. Frederick de la SWA.

El acuerdo propuso un cambio en los límites de exposición permisible de exposición, disposiciones adicionales para monitoreo de exposición y un programa de meta de exposición diseñado para reducir las exposiciones bajo el nivel de acción. También establece otras modificaciones a las secciones de alcance, protección respiratoria, comunicación de riesgos, vigilancia médica y fechas de comienzo de la regla final.

El 8 de marzo de 1996, OSHA publicó la recomendación laboral/industrial conjunta y reabrió el expediente para permitir al público comentar. (61 FR 9381) En respuesta a las peticiones de las partes al acuerdo, el período de comentario fue extendido hasta el 26 de abril de 1996. (61 FR 15205)

Al comienzo del período de comentarios, OSHA colocó en el expediente de reglamentación un estudio epidemiológico de trabajadores expuestos a BD por Delzell, et al. auspiciado por IISRP, junto con el volumen 127 de IARC "Butadiene and Styrene Assessment of Health Hazards," un estudio publicado por Santos-Burgoa, et al. titulado "Lymphohematopoietic Cancer in Styrene-Butadiene Polymerization Workers," y abstractos de un simposio titulado "Evaluation of Butadiene and Isoprene Health Risks." (Ex. 117-1; 117-2; 117-3; 117-4) El estudio epidemiológico "Evaluation of Butadiene and Isoprene Health Risks." (Ex. 117-1; 117-2; 117-3; 117-4) El estudio epidemiológico también había sido sometido a la EPA en cumplimiento con las disposiciones de la Toxic Substances Control Act.

En respuesta a la reapertura del expediente de BD, se recibió 18 series de comentarios. Las partes del acuerdo laboral/industrial sometieron un borrador del texto reglamentario que puso sus recomendaciones en requisitos específicos. El bosquejo y el borrador del texto reglamentario subsiguientes son el producto exclusivamente del comité de negociación. OSHA no fue parte ni estuvo presente en las negociaciones.

Aunque las respuestas al expediente ayudaron a aclarar la intención de las partes negociadoras, las razones detrás de varios de los cambios no fueron completamente explicados.

El 16 de septiembre de 1996, el juez John M. Vittone, para el juez George J. Pierce, quien presidía sobre las vistas de BD, cerró el expediente de las vistas públicas sobre la norma propuesta para 1,3-butadieno y lo certificó al Secretario Auxiliar del Trabajo. (Ex. 135)

IV. Identificación, Producción y Uso de Químico

A. Monómero

El químico 1, 3-butadieno (BD) (Chemical Abstracts Registry Number 106-99-0), es un gas incoloro, no corrosivo e inflamable con un ligero olor aromático a temperatura y presión ambiente estándar. Tiene una fórmula química de C_4H_6 , un peso molecular de 54.1 y un punto de ebullición $-4.7\text{ }^{\circ}C$ a 760 mm Hg, un límite explosivo inferior de 2% y un límite explosivo superior de 11.5%. Su densidad de vapor es casi el doble de la del aire. Es ligeramente soluble en agua, algo soluble en metanol y etanol y fácilmente soluble en solventes orgánicos menos polares tales como hexano, benceno y tolueno. (Ex. 17-17) Es altamente reactivo, dimeriza a 4-vinilciclohexano y polimeriza fácilmente. Debido a su bajo umbral de olor, alta inflamabilidad y explosividad, el BD ha sido manejado con extremo cuidado en la industria.

En los EEUU, el BD ha sido producido comercialmente mediante tres procesos: Deshidrogenación catalítica de n-butano y n-butano, deshidrogenación oxidante de n-buteno y recuperación como un subproducto de la corriente de coproducto de C_4 del proceso de vapor disociado usado para manufacturar etileno, el cual es el producto principal de la industria petroquímica. Por razones económicas, casi todo el BD actualmente hecho en EEUU es producido mediante el proceso de coproducción de etileno.

En el proceso de disociación para etileno, se diluye un suministro de alimentación de hidrocarburo con vapor, luego calentado rápidamente a una alta temperatura pasándolo mediante tubos por un horno. El vapor resultante, que contiene una amplia mezcla de hidrocarburos de la reacción de pirólisis en los tubos de disociado, más los componentes no reaccionados en el suministro de alimentación, son enfriados y luego procesados a través de una serie de destilaciones y otras operaciones de separación en las cuales los varios productos de la operación de disociación son separados para disposición, reciclado o recuperación.

El proceso de disociación produce entre 0.02 a 0.3 libras de BD por libra de etileno, dependiendo de la composición del suministro de alimentación. El BD es recuperado de la corriente de C_4 por operaciones separadas. La corriente de C_4 contiene de 30 a 50% de BD más butano, butenos y pequeñas fracciones de otros hidrocarburos. Esta corriente de BD crudo de la unidad de etileno puede ser refinado en una unidad en sitio, o transferidos a otra localización, una planta de monómero, propiedad de la misma compañía u otra, para producir BD purificado.

No empuja la fuente del coproducto de BD-etileno crudo, (deshidrogenación, o mezcla de corrientes de C_4 de otras fuentes), los procesos usados por diferentes compañías para refinar BD para uso subsiguiente en la producción de polímeros y similares. La destilación extractora es usada para efectuar la separación básica de BD de los butanos y butenos y se usa operaciones de destilación fraccionadora para conseguir otras separaciones relacionadas. A continuación se describe una planta de monómeros característica.

Los derivados de C_3 y C_4 presentes en la corriente de coproducto de C_4 , son convertidos a

oleofinas pasando la corriente mediante un reactor de hidrogenación. La corriente luego se alimenta a una columna de destilación extractora para separar el BD de los butanos y butenos. Varios diferentes solventes han sido empleados para esta operación, incluyendo n-metilpirrolidona, dimetilformamida, furfural, acetonitrilo, dimetilacetamida y solución de acetato de amonio cuproso. El BD, extraído mediante el solvente es separado de ello en la columna de recuperación de solvente, luego alimentado a otra columna fraccionaria, la columna de metilacetileno, para extraer el acetileno residual. La corriente inferior de la columna de metilacetileno, que contiene el BD, es alimentada a la columna de repasado de BD, de donde se toma el producto de BD purificado. El solvente, recuperado en la columna de recuperación de solvente, es reciclado a la columna de destilación extractora con parte de su destilado para mantener bajo el nivel de polímero. (Ex. 17-17)

Se añade un estabilizador al monómero para inhibir la formación de polímero durante el almacenado. Es almacenado como líquido bajo presión, a veces refrigerado para reducir la presión, generalmente almacenado en una granja de almacenado en esferas dicadas. Es embarcado a los manufactureros de polímeros y otros usuarios mediante tuberías, barcazas, carros tanque o camiones tanque.

El BD es un producto de conveniencia de la industria de la petroquímica. La producción total de BD en 1991 fue 3.0 billones de libras. Aunque el BD es un gas tóxico inflamable, su simple estructura química con bajo peso molecular y alta reactividad química lo hace un útil bloque de construcción para sintetizar otros productos. En "1,3-Butadiene Use and Substitute Analysis", EPA identificó 140 usos principales, menores y potenciales del BD en la industria química, (Ex. 17-15)

Sobre 60% del BD consumido en los EEUU es usado en la manufactura de goma, alrededor de 12% en hacer adiponitrilo, que a su vez es usado para hacer hexametenodiamina (HMDA), un componente del Nylon, aproximadamente 8% en hacer latexes de copolimeros de estireno-butadieno, aproximadamente 7% en producir policloropreno y alrededor de 6% en producir resinas de acrilonitrilo-butadieno-estireno (ABS). Cantidades menores son consumidas en la producción de combustible de cohetes, especialmente resinas de copolimeros de especialidad y latexes para pinturas, revestimientos y aplicaciones adhesivas y polimeros hidrogenados de butadieno-estireno usados como aditivos de aceites lubricantes. Algunas aplicaciones de no-polimeros incluyen la manufactura de fungicidas agrícolas, Captan y Captofol, el solvente industrial sulfolano y tintes de antroquinona.

B. Polímeros

Los elastómeros sintéticos con bases de BD son manufacturados polimerizando BD con otros monómeros para producir copolímeros y produciendo mezclas con otros monómeros para producir copolímeros y produciendo mezclas de estos polímeros. El producto de mayor volumen es el

copolímero de estireno y BD, goma de estireno-butadieno, seguido en volumen por polibutadieno, policloropreno y goma de nitrilo. El polibutadieno es el polímero de monómero de BD por sí mismo. El policloropreno es hecho polimerizando cloropreno, producido por la clorinación de BD. Las gomas de nitrilo son copolímeros de acrilonitrilo y BD.

Cuatro tipos generales de proceso son usados en la polimerización de BD y sus copolímeros: emulsión, suspensión, solución y polimerización al grueso. En la polimerización de emulsión y suspensión, los monómeros y los muchos químicos usados para controlar la reacción son finalmente dispersados o disueltos en agua. En polimerización de solución, los monómeros son disueltos en un solvente orgánico tal como hexano, pentano, tolueno. En la polimerización al grueso, el monómero mismo sirve como solvente para el polímero. El producto de polímero, del cual se manufacturan los productos de uso final, es producido en la forma de migas de polímero (partículas sólidas), látex (una suspensión lechosa en agua), o cemento (una solución).

La polimerización de emulsión es el principal proceso usado para hacer goma sintética. Un proceso para la manufactura de miga de estireno-butadieno es característico de los procesos de emulsión. El estireno y BD son conducidos mediante tuberías al área de proceso desde el área de almacenado. El BD es pasado a través de un depurador de soda cáustica para remover los inhibidores que fueron añadidos para evitar la polimerización prematura. Las corrientes de monómeros frescos de BD son mezcladas con estireno, agentes emulsificantes acuosos, activador, catalítico y modificador y luego se alimenta al primero de un tren de reactores. La reacción procede en forma de pasos en la serie de reactores hasta una conversión de alrededor de 60% de monómero a polímero. En el proceso frío, los reactores son enfriados y la temperatura de reactor es mantenida a 4 °C a 7 °C (40 °F a 45 °F) y la presión a 0 a 15 psig; en los procesos de goma caliente, la temperatura y presión son alrededor de 50 °C (122° F) y 40 a 60 psig, respectivamente.

El látex del tren de reactor es vaporizado para evaporar el BD no reaccionado, el cual es comprimido, condensado y reciclado. Los vapores no condensados son absorbidos en absorbente de kerosén antes de ventilarse y el BD absorbido es removido o recuperado del kerosén mediante alguna otra operación. El vapor de látex es pasado a través de un extractor de vapor, operado al vacío, para remover o recuperar el estireno no reaccionado. El estireno y el agua en el condensado son separados por decantación. La fase de estireno es reciclada al proceso. Los no condensables de la columna de extracción contiene algún BD y son dirigidos a través de las operaciones de recuperación de BD.

El látex extraído, al cual se ha añadido antioxidante, es bombeado a los recipientes de coagulación, donde se añade ácido sulfúrico diluido y solución de cloruro de sodio. La mezcla de ácido y salmuera rompe la emulsión, liberando el polímero en forma de miga. A veces se añade negro de carbón y aceite durante el paso de coagulación, ya que se obtiene mejor dispersión que mezclándolos más tarde.

La miga y la suspensión acuosa de la operación de coagulación son tamizadas para separar la miga. La miga mojada es pasada a través de prensas rotativas para exprimir la mayoría del agua, luego secada con aire caliente en secadores de correa secadora continua. El producto seco es embalado y pesado para embarque.

La producción de látex de estireno butadieno mediante el proceso de polimerización de emulsión es similar al de la miga, pero se lleva a cabo generalmente en escala menor con menos reactores. Para algunos, pero no para todos los productos, la reacción se corre hasta casi completarse, la remoción de monómero es más simple y la recuperación no puede ser practicada.

La goma de polibutadieno es usualmente producida mediante polimerización de solución. El inhibidor es removido del monómero mediante depurador cáustico. El monómero y el solvente son secados mediante destilación fraccionaria, mezclados a la razón deseada y secados en una columna desecante. La polimerización es conducida en una serie de reactores usando iniciadores y catalíticos y es terminado con una solución detenedora. La solución, llamada cemento de goma, es bombeada a los tanques de almacenado para mezclado. La mezcla es precipitada bombeando la solución a agua caliente bajo agitación violenta. El solvente y el monómero son recuperados mediante extracción y destilación similar a los previamente descritos. La miga es tamizada, se le remueve el agua y es embalada.

Los elastómeros de policloropreno (neopreno), son manufacturados mediante la polimerización de cloropreno en un proceso de polimerización de emulsión similar al usado para hacer goma de estireno butadieno. El monómero, cloropreno (2-cloro-BD), es hecho mediante la clorinación de BD para hacer 3,4 diclorobutadieno y deshidroclorinación de este último.

Las gomas de nitrilo, copolímeros de acrilonitrilo y BD, son producidos por polimerización de emulsión similar a la usada para hacer goma de estireno-butadieno.

Cantidades substanciales de BD son usadas en la producción de otros dos polímeros de gran volumen: resinas de Nylon y resina de ABS. Dupont manufactura adiponitrilo de BD y usa el producto para hacer hexametilendiamina, la cual es polimerizada al hacer resinas y fibras de Nylon, incluyendo Nylon 6,6. Acrilonitrilo, BD y estireno son monómeros usados para hacer resina de ABS que es una resina termoplástica principal. Emulsión químicamente compleja, procesos de polimerización de suspensión y al grueso son usadas por diferentes productores para hacer polímero ABS.

V. Efectos a la Salud

A. Introducción

La toxicidad del BD fue considerada por largo tiempo como baja y no acumulativa. Así, la norma de OSHA para BD fue 1,000 ppm sobre las bases de su irritación de las membranas mucosas y narcosis a altos niveles de exposición. Sin embargo, en los años '80, los estudios de carcinogenicidad indicaron que el BD es claramente un carcinógeno en roedores. En 1986, la American Conference of Governmental Industrial Hygienists (ACGIH), fue instada por estos estudios a bajar el valor límite de umbral (TLV) del lugar de trabajo de 1,000 a 10 ppm. (Ex. 2-5)

Los estudios en roedores son ahora concluyentes de que el BD es un carcinógeno animal. Más aún, un cuerpo consistente de estudios epidemiológicos también ha mostrado mortalidad aumentada debida a cánceres hematopoyéticos asociados con la exposición a BD entre los trabajadores de producción expuestos a BD y polímeros de goma de estireno/BD. Estudios complementarios de productos metabólicos y genotoxicidad apoyan estos hallazgos de cáncer. OSHA también mostró preocupación por la evidencia de que el BD la célula germinal así cómo la célula somática y qué toxicidad reproductora potencial pudiera resultar de la exposición a BD. Ya que el BD en sí mismo no parece ser carcinogénico, pero puede ser metabolizado a una forma activa, OSHA también revisó los estudios sobre el metabolismo del BD para determinar si pudieran ayudar a explicar las diferencias explicadas en la incidencia de cáncer entre las especies.

Las siguientes secciones discuten los efectos de la exposición a BD, ambos en sistemas humanos y animales.

B. Carcinogenicidad

1. Estudios Animales

En la regla propuesta de BD, OSHA discutió los resultados de dos bioensayos vitalicios en animales, uno sobre la rata Sprague-Dawley y otro sobre el ratón B6C3F₁. (55 FR 32736-327340), Ambos estudios hayaron evidencia de carcinogenicidad de BD, con mayor respuesta en el ratón. El estudio de rata envolvió niveles de exposición de 0, 1000 , o 8000 ppm BD, comenzando a las cinco semanas de edad, a grupos de 100 ratas Sprague-Dawley hembra o 100 ratas macho por seis horas al día, cinco días a la semana, por 105 semanas. La mortalidad fue aumentada sobre los controles en las ratas hembra expuestas a 1000 ppm y en ambos grupos de exposición de machos. Los sitios de respuesta de tumor significativos incluyeron adenomas exocrina y carcinoma (combinado) del páncreas en el grupo de más alta exposición (3, 1, y 11 tumores en los grupos de 0, 1000 y 8000 ppm, respectivamente); y tumores de la célula Leydig de los testículos (0, 3 y 8 en los mismos grupos, respectivamente). En las ratas hembra, la respuesta de tumor significativamente aumentada también ocurrió en el grupo de más alta exposición; los cánceres vistos incluyeron adenoma de la célula folicular y carcinomas (combinados) de la glándula tiroides (0,4 y 11 tumores en los tres grupos expuestos, respectivamente), y tumores benignos y malignos de las glándulas mamarias (combinados) (50, 79 y 81), en los mismos grupos

de exposición. En menor grado también hubo sarcomas del útero (1,4, 5 tumores en los tres grupos expuestos), y de la glándula Zymbal (0, 0, 4 tumores en los mismos grupos de exposición, respectivamente). Aunque sólo la respuesta de tumores de grupo de alta exposición fue estadísticamente significativa, las pruebas de tendencia también fueron significativas.

En contraste con el aumento de respuesta de tumor generalmente menor de 10% vista en la rata Sprague-Dawley a niveles muy por encima de la saturación metabólica de BD en el ratón B6C3F₁ en el estudio del National Toxicology Programa (NTP I) fue extenso. (Ex. 23-1) En este estudio, los grupos de 50 ratones hembra y 50 ratones macho fueron expuestos vía inhalación a 0, 625 o 1250 ppm BD por seis horas al día, cinco días a la semana en un estudio originalmente diseñado para durar dos años. Sin embargo, la alta respuesta de carcinogenicidad incluyó múltiples cánceres primarios, con cortos períodos de latencia y llevó a la terminación temprana del estudio (60-61), debido a la alta mortalidad por cáncer en ambos grupos de exposición de 625 ppm y 1250 ppm de ambos sexos. Esta mortalidad fue debida a linfomas linfocíticos y hemangiosarcomas del corazón, ambos de los cuales ocurrieron característicamente temprano y rápidamente fatal. Esta gran respuesta carcinogénica y rápidamente fatal llevó al NTP y a la industria a emprender estudios adicionales para mejor comprender el mecanismo envuelto.

Algunos comentaristas han asociado las diferencias cualitativas y cuantitativas en la carcinogenicidad BD en ratas y ratones, con las diferencias en el metabolismo de las ratas y los ratones. Muchos estudios publicados y sometidos al expediente de BD desde la regla propuesta ha buscado caracterizar mejor los procesos metabólicos, distributivos y eliminatorios envueltos, y algunos han atribuido a la diferencia de especie (al menos en parte), a las diferencias metabólicas. Estas serán tratadas separadamente en la sección de metabolismo.

Otro factor hipotetizado para justificar las diferencias entre la carcinogenicidad entre ratas y ratones fue el rol de la activación del retrovirus ecotrópico en los tejidos hematopoyéticos en respuestas de tumores en el ratón B6C3F₁. Este virus es endógeno al ratón B6C3F₁ y se hipotetizó que potencie la respuesta de linfoma de BD en esta cepa. Para estudiar esta hipótesis, Irons y sus colaboradores expusieron 60 ratones B6C3F₁ macho (aquellos con el virus endógeno) y 60 machos NIH Swiss (aquellos sin el virus endógeno), ya fuera a 0 o 1250 ppm BD, por seis horas/día, 5 días a la semana por 52 semanas. (Ex. 32-28D) Un tercer grupo de 50 ratones B6C3F₁ macho recibieron 1250 ppm por sólo 12 semanas y fue observado hasta la terminación del estudio a las 52 semanas. Los resultados del estudio mostraron linfomas tímicos significativamente aumentados en todos los grupos expuestos, pero una respuesta significativamente mayor en el ratón B6C3F₁- 1 tumor/60 (2%), en el grupo de control (cero exposición), 10/48 (21%) en el grupo de exposición de 12 semanas y 34/60 (57%) en el grupo de exposición de 52 semanas -vs. el ratón NIH Swiss, que desarrolló 0 tumores/60 en el grupo de control, y 8 tumores/57 (14%) en el grupo expuesto a BD. Hemangiosarcomas del corazón también fueron observados en ambas cepas expuestas a BD por 52 semanas-5/60 (8%) en el ratón B6C3F₁ vs.1/57 en el ratón NIH Swiss. (Ex. 32-28D). La respuesta B6C3F₁ fue muy similar a la respuesta del grupo de alta exposición, verificando ese

estudio anterior. Las respuestas de linfoma similar cualitativa a las dos cepas también confirmó que el sistema hematopoyético del ratón es altamente susceptible a los efectos carcinogénicos del BD, aunque cuantitativamente las cepas pueden diferir. La respuesta de linfoma de 21 % de un año en el grupo de B6C3F₁ de exposición de 12 semanas también aumentó las preocupaciones sobre las exposiciones a altas concentraciones, de corta duración.

Estudio NTP II

Concurrente con los estudios industriales, el NTP, con el propósito de mejor caracterizar la experiencia de dosis-respuesta y la experiencia vitalicia, condujeron un segundo esfuerzo de investigación mucho mayor durante un alcance de dosis mucho mayor. (Ex. 90; 96) Estos estudios de toxicología y carcinogénesis incluyeron un grupo de exposición 100 veces más bajo (6.25 ppm), que NTP I, varios grupos de exposición intermedios, un estudio de dosis-efecto que usaba varios grupos de alta concentración vitalicia parcial (parada-), y grupos de sacrificio provisionales planificados. Otras partes del estudio incluyeron estudios de patología clínica (con sacrificios provisionales de 9 y 15 meses, estudios de metabolismo y examen de los animales con tumores para oncogénesis activada).

Para los estudios de carcinogénesis vitalicia, los grupos de 70 ratones B6C3F₁ cada sexo fueron expuestos vía inhalación a niveles de BD de 0, 6.25, 20, 62.5, 200 o 625 ppm (90 de cada sexo en este grupo más alto), por seis horas por día, 5 días por semana por hasta dos años. Hasta 10 animales seleccionados al azar en cada grupo fueron sacrificados después de 9 a 15 meses de exposición y estos animales fueron evaluados para efectos de carcinogenicidad y hematológicos.

Para el estudio de parada de exposición, un grupo diferente de 50 ratones machos fueron expuestos a seis horas por día, cinco días a la semana a concentraciones de 200 ppm por 40 semanas, 625 ppm por 13 semanas, 312 ppm por 52 semanas o 625 ppm por 26 semanas. Siguiendo al período de exposición de BD los animales expuestos fueron luego observados por el resto del estudio de dos años. Los primeros dos grupos de parada de exposición recibieron una exposición total de (concentración por duración) de 8,000 ppm-semana, mientras que los dos últimos grupos recibieron aproximadamente 16,000 ppm-semanas de exposición. Para el análisis discutido a continuación, los grupos son comparados ambos entre sí para efectos de dosis-índice y con los grupos de exposición vitalicia (dos años) para efectos de recuperación.

Metodología

Los ratones machos tenían de 6-8 semanas de edad y los ratones hembras tenían 7-8 semanas de edad cuando comenzó la exposición. Los animales fueron expuestos en unidades de jaula de tela metálica individuales en cámaras Hazelton 2000 de acero inoxidable (2.3 m³). La fase de exposición se extendió desde enero de 1986, a enero de 1988. Los animales fueron albergados individualmente; con agua disponible *ad libitum*, excepto durante los períodos de exposición; alimento de dieta NIH-07 también estuvo disponible *ad libitum*, excepto durante los períodos de exposición. Los animales fueron observados dos veces al día para moribundidad y mortalidad; los animales fueron pesados semanalmente por las primeras 13 semanas y mensualmente a partir de entonces. La hematología incluía contajes de células rojas (RBC), y contaje de células blancas (WBC). El estudio fue conducido en cumplimiento con las Good Laboratory Practice Regulations de la Food and Drug Administration (FDA), con garantías de calidad retrospectivas.

Los resultados del estudio presentados a continuación para los estudios de dos años y de exposición de parada. Se hace comparaciones de grupo de estudio donde se considera apropiado. Se coloca énfasis sobre los efectos neoplásicos.

Resultados

Estudio de dos años

Aunque los aumentos de peso en los ratones hembras y machos expuestos fueron similares a los del grupo de control, los neoplasmas malignos relacionados con la exposición fueron responsables de la supervivencia disminuida en todos los grupos de exposición de ambos sexos expuestos a concentraciones de 20 ppm o sobre. Excluyendo los animales sacrificados entretanto, la supervivencia de dos años disminuyó uniformemente con la exposición en aumento para la hembras (37/50, 33/50, 11/50, 0/50, 0/70), y cercanamente uniformemente para machos (35/50, 39/50, 42/50, 22/50, 4/50, 0/70). Al igual que con el estudio anterior de NTP, todos los animales en el grupo de 625 ppm estaban muertos para la semana 65, mayormente como resultado de linfomas o hemangiosarcomas del corazón. Los grupos de exposición de 200 ppm de ambos sexos también tenían mortalidad mucho más alta, pero significativamente menor que el grupo de 625 ppm. La supervivencia del grupo de exposición más baja (6.25 ppm), fue ligeramente mejor que los controles para los ratones machos, ligeramente menor para los ratones hembras. La supervivencia media relacionada con exposición para los machos fue 597, 611, 575, 558, 502, y 280 días; para las hembras fue similarmente 608, 597, 573, 584, 441 y 320 días. Esta supervivencia disminuida con la exposición aumentada fue debida casi totalmente a letalidad de tumor.

Carcinogenicidad

Nueve sitios diferentes mostraron tipos de tumor primario asociado con exposiciones a butadieno, siete de los ratones machos y ocho en los ratones hembras. Estos fueron linfoma, hemangiosarcoma del corazón, adenoma alveolar-bronquiolar y carcinoma combinados, papiloma y arresto cardíaco en antrum y carcinoma, adenoma de la glándula Harderian y adenocarcinoma, adenoma y carcinoma de la glándula prepucial (machos solamente), adenoma y carcinoma hepatocelular, y tumores ováricos y mamarios (hembras solamente). Estos están mostrados en la Tabla V-1 adaptada de Melnick et al. (Ex. 125) De esta tabla se ve que seis de estos sitios de tumores son estadísticamente significativamente aumentados en los machos de más alta exposición, y cinco fueron estadísticamente significativamente aumentados en las hembras de más alta exposición. Dos sitios adicionales que mostraron aumentos significativos a bajas exposiciones mostraron una declinación en las altas exposiciones porque otros tumores eran más rápidamente fatales. A 200 ppm los adenomas y carcinomas combinados de la glándula prepucial fueron significativamente aumentados en los machos ($p < .05$; 0/70 (0%) control vs. 5/70 (7%) en el grupo de 200 ppm) y el adenoma y carcinoma hepatocelulares fueron aumentados para ambos machos y hembras expuestos. En la concentración de exposición más baja, 6.25 ppm, sólo los tumores pulmonares en los ratones hembras (adenoma y carcinoma combinados), mostraron significado estadístico $< .05$; 10/70 (15%) en controles vs. 18/70 (26%) en el grupo de 20 ppm; tumores del hígado, $p < .05$; 17/70 (24%) en controles vs. 23/70 (33%) en el grupo de ppm), y a 62.5 ppm, tumores en otros varios sitios fueron también aumentados significativamente. . En general, aunque hubo algunas diferencias en cantidad de respuesta de tumores entre los ratones machos y hembras, hay un patrón consistente de tipo de tumor en ambos sexos, para los seis sitios de órganos no sexuales.

Tabla V-1.-Incidencias de Tumor (I) e Indices de tumores de porcentaje ajustado a mortalidad (R) en ratones expuestos a 1,3-Butadieno por hasta dos años.

[Adaptado del Ex. 125]

Tumor	Sexo	Exposure concentration (ppm)											
		0		6,25		20		62,5		200		625	
		I	R ^c	I	R	I	R	I	R	I	R	I	R
Linfoma.....	M	4/70	820	3/70	6	8/70	19	11/70	^a 25	9/70	^a 27	69/90	^a 97
	F	10/70	004	14/70	30	^a 18/70	41	10/70	26	19/70	^a 58	43/90	^a 89
Corazón-Hemangiosarcoma.....	M	0/70	682	0/70	0	1/70	0	5/70	^a 13	20/70	^a 57	6/90	^a 53
	F	0/70	413	0/70	0	0/70	2	1/70	3	20/70	^a 64	26/90	84
Pulmones-adenoma y carcinoma alveolar-bronquiolar....	M	22/70	180	23/70	48	20/70	45	33/70	^a 72	42/70	^a 87	12/90	^a 73
	F	4/70	900	15/70	32 ^a	10/70	44 ^a	27/70	^a 61	32/70	^a 81	25/90	^a 83
En antrum-papiloma y carcinoma.....	M	1/70	000	0/70	0	1/70	2	5/70	13	13/90	^a 36	13/90	^a 75
	F	2/70		2/70	4	3/70	8	4/70	12	28/90	^a 31	28/90	^a 85
Glándula Harderian-Adenoma y adenocarcinoma.....	M	6/70		7/70	15	11/70	25	24/70	^a 53	33/70	^a 77	7/90	^a 58
	F	9/70		10/70	21	7/70	17	16/70	^a 40	22/70	^a 67	7/90	48
Glándula prepucial-Adenoma y carcinoma.....	M	0/70		0/70	0	0/70	0	0/70	0	5/70	^a 17	0/90	0
	F	31/70		27/70	54	35/70	68	32/70	69	40/70	^a 87	12/90	75/2
Hígado-adenoma y carcinoma hepatocelular.....	M	17/70		20/70	41	24/70	^a 52	24/79	^a 60	20/70	^a 68	3/90	8
	F	0/70		2/70	4	2/70	5	6/70	^a 16	13/70	^a 47	13/90	^a 66
Glándula mamaria-Adenocarcinoma.....	M	1/70		0/70	0	0/70	0	9/70	^a 24	11/70	^a 44	6/90	44
	F	0/70		0/70	0	0/70	0	0/70	0	0/70	0	0/90	0
Ovario-tumores benignos y malignos de célula granulosa.	M	0/70		0/70	0	0/70	0	0/70	0	0/70	0	0/90	0
	F	1/70		0/70	0	0/70	0	0/70	0	0/70	0	0/90	0

^a Aumentado comparado con controles de cámara (0 ppm), $p < 0.05$, basado sobre análisis de regresión logística.

^b The Working Group señaló que la incidencia en machos y hembras de control estuvo en el alcance de eso en los controles históricos (Haseman et al., 1985).

^c Los índices de tumores de mortalidad ajustada están ajustados para causas de mortalidad en competencia, tal como muerte debida a otros tumores, cuyos índices difieren por grupo de exposición.

El hemangiosarcoma del corazón con metástasis de otros órganos fue observado inicialmente a 20 ppm en un macho (los controles históricos para esta cepa son 1/2373 en machos y 1/2443 en hembras), en 5 machos y 1 hembra a 62.5 ppm y 20 machos y 20 hembras a 200 ppm; a 625 ppm estos índices de tumores disminuyeron según otros tumores, especialmente linfomas, se tornaron dominantes. Los linfomas linfáticos aumentaron a significado estadístico primero en las hembras a 20 ppm y fueron usualmente rápidamente fatales, apareciendo el primer tumor en la semana 23, probablemente prevaleciendo a algunos de los tumores que aparecieron posteriormente en los grupos de más alta exposición. Debido a la plétora de tumores primarios y los diferentes patrones de tiempo observados en el comienzo de cada tipo, varias tendencias de tumor dosis-respuesta no aparecen tan fuertes como de otro modo debieran ser.

Efectos No-neoplásicos

Se observó varios efectos tóxicos no cancerosos en los grupos expuestos, reflejando muchos de los mismos sitios de blanco para los cuales se vieron los efectos neoplásicos. (Ex. 90; 96; 25).

Aunque el número informado difiere ligeramente en los diferentes "exhibits", los aumentos generalmente relacionados con dosis en hiperplasia fueron observados en el corazón, pulmones, "forestomach" y la glándula Harderian, en el estudio de dos años (ambos sexos) y en el estudio de parada de exposición (conducido en machos solamente). Además, se observó atrofia testicular en los ratones de dos años y en los de parada de exposición, pero quedó en el alcance de 6%-10% excepto por el grupo de exposición de 625 ppm, donde fue 74%. Hiperplasia germinal ovárica (2/49 (control), 3/49 (6.2.5 ppm), 8/48 (20 ppm), 15/50 (62.5 ppm), 15/50 (200 ppm), 18/79 (625 ppm), atrofia ovárica (4/49, 19/49, 32/48, 42/50, 43/50, 69/79), y atrofia uterina (1/50, 0/49, 1/50, 1/49, 8/50, 41/78), fueron también relacionada a dosis, con la atrofia ovárica significativamente aumentada en la más baja exposición a BD de 6.25 ppm. Estos efectos tóxicos a los órganos reproductores están discutidos en mayor detalle en la sección de los efectos reproductores de este preámbulo. La atrofia de la médula ósea fue señalada sólo en los grupos de más alta exposición, que ocurrió en 23/73 ratones machos y 11/79 ratones hembras.

Estudio de parada de exposición

Como con el estudio de dos años, los pesos de cuerpo de los cuatro grupos tratados en el estudio de parada de exposición fueron similares a los controles. Todos los grupos de exposición exhibieron supervivencia marcadamente más baja que los controles y solamente mejor supervivencia que las de los grupos de exposición vitalicia comparable. La mortalidad pareció estar más relacionada a la dosis total que a la concentración de exposición. La mayoría de las muertes fueron causadas por tumores.

Efectos Neoplásticos

Todos los grupos de parada de exposición exhibieron un perfil de tumor muy similar al de los grupos de alta exposición vitalicia, con la sola excepción de tumores del hígado, que fueron aumentados sólo en el grupo de exposición vitalicia; todos los otros tumores primarios múltiples fueron observados a niveles aumentados en ambos grupos de exposición, de parada y vitalicia, Tabla V-2. (Ex. 125) Además, el grupo de exposición de 625 ppm, 26 semanas tuvo índices más altos para varios de los tipos de tumores comparado con el grupo de 625 ppm vitalicio, posiblemente debido a la ligera mejor supervivencia del grupo más corto. El tipo de tumor prevaleciente, linfoma, también mostró un efecto de dosis-índice, ya que la incidencia de tumor fue mayor para la exposición a concentraciones más altas a corto término comparado con la exposición más baja a corto término ($p = .01$; 24/50 a 625 ppm por 13 semanas vs. 12/50 a 200 ppm por 40 semanas: $p < .0001$; 37/50 a 625 ppm por 26 semanas vs. 15/50 a 312 ppm por 52 semanas). El mismo patrón fue visto con los tumores de "forestomach" y los carcinomas de la glándula prepucial. A la inversa, los hemangiosarcomas del corazón y los tumores alveolar-bronquiolar mostraron una tendencia opuesta, ya que las bajas exposiciones por más largo tiempo resultaron en incidencia significativamente mayor de estos tumores que las mismas exposiciones acumulativas durante un tiempo más corto (ajustado-supervivencia, según opuesto a la incidencia cruda de tumores pulmonares, actualmente no sugiere tendencias dosis-respuesta.) Estas tendencias inconsistentes con diferentes sitios de tumores pueden resultar de múltiples mecanismos de carcinogenicidad o parcialmente debidos a la rápida muerte causada por los linfomas linfocíticos en los grupos de exposición a corto término. Al igual que con el estudio vitalicio, los angiosarcomas del corazón y linfomas presentaron riesgos competitivos en los ratones altamente expuestos.

Tabla V-2.-Incidencias de tumor (I) e índices de porcentaje de tumor ajustado a mortalidad (R) en ratones machos expuestos a 1,3 butadieno en estudios de parada de exposición. (Después de que las exposiciones fueron terminadas, los animales fueron colocados en cámaras de control hasta el fin del estudio de 104 semanas.)

[Adaptado del Ex. 125]

Tumor	Exposición									
	0		200 ppm, 40 wk		625 ppm, 13 wk		312 ppm, 52 wk		625 ppm, 26 wk	
	I	R	I	R	I	R	I	R	I	R
Linfoma.....	4/70	804	12/50	^a 35	24/50	^a 61	15/50	^a 55	37/50	^a 90
Corazón-Hemangiosarcoma.....	0/70	621	7/50	^a 47	7/50	^a 31	33/50	^a 87	13/50	^a 76
Pulmón-Adenoma y carcinoma alveolar-bronquiolar.....	22/70	300	35/50	^a 88	27/50	^a 87	32/50	^a 88	18/50	^a 89
"Forestomach" papiloma de célula escamosa y carcinoma.....	1/70		6/50	^a 20	8/50	^a 33	13/50	^a 52	11/50	^a 63
Glándula Harderian-Adenoma y adenocarcinoma.....	6/70		27/50	^a 72	23/50	^a 82	28/50	^a 86	11/50	^a 70
Glándula prepucial-Carcinoma.....	0/70		1/50	3	5/50	^a 21	4/50	^a 21	3/50	^a 31
Riñón-Adenoma tubular renal.....	0/70		5/50	^a 16	1/50	5	3/50	^a 15	1/50	11

De Melnick et al (1990).

^a Aumentado comparado con los controles de cámara (0 ppm), $p < 0.05$, basado sobre análisis de regresión logística.

^c Los índices de tumor ajustados a mortalidad para causas de mortalidad en competencia, tales como muerte debida a otros tumores, cuyos índices difieren por grupo de exposición.

Oncogenes activados

La presencia de oncogenes activados en los grupos expuestos que difieren de aquellos vistos en tumores en el grupo de control pueden ayudar a identificar un eslabón mecanístico para carcinogenicidad de BD. Más aún, ciertos oncogenes activados son vistos en tumores activados humanos y *K-ras* es el oncogene más comúnmente detectado en humanos, en estudios independientes, los tumores de este estudio fueron evaluados para presencia de protooncogenes activados. (Ex. 129) Los oncogenes *K-ras* activados fueron hallados en 6 de 9 adenocarcinomas pulmonares, 3 de 12 cánceres hepatocelulares y 2 de 11 linfomas en ratones expuestos a BD. Nueve de estas 11 mutaciones *K-ras*, incluyendo las seis vistas en los tumores pulmonares, fueron conversiones G a C en el codón 13. La activación de los genes *K-ras* por mutación del codón 13 no ha sido detectada en los tumores pulmonares o hepáticos o linfomas en los ratones B6C3F₁, pero activación por mutación del codón 12 fue observada en tumores pulmonares de 1 a 10 en ratones no expuestos. (Ex. 129)

Conclusión

Todos los cuatro bioestudios sobre animales (uno de ratas, tres de ratones), hallan una clara respuesta carcinogénica; juntos proveen evidencia suficiente para declarar el BD como un carcinógeno y un probable carcinógeno en humanos. Los tres estudios sobre ratones, todos con respuesta de linfoma positivo, apoyan además el hallazgo de que el ratón es un buen modelo para tumorigenicidad linfática/hematopoyético y de otros sitios relacionada con BD. El estudio NTP II más reciente confirma y fortalece el NTP I previo y los estudios de ratón de Irons et al. y presenta clara evidencia de que el BD es un potente carcinógeno multisitio en ratones B6C3F₁ de ambos sexos. (Ex. 23-1; 32-28D, Irons) El hallazgo de tumores pulmonares en exposiciones tan bajas como 6.25 ppm, 100 veces más bajo que la exposición más del estudio NTP I y un nivel que está en el alcance de exposición ocupacional, aumenta la preocupación por la salud de los trabajadores. Dos otras preocupaciones traídas por el segundo estudio de NTP y el estudio de Irons et al. son: (1) se halla carcinogenicidad substancial con exposiciones menos que vitalicias (tan bajas como 12 o 13 semanas) para linfomas y hemangiosarcomas, al menos a concentraciones más altas y (2) para linfomas y al menos otros dos sitios, parece haber un efecto dosis-índice, donde las exposiciones a concentraciones más altas por un tiempo más corto resulta en respuesta de tumor más alta (por un factor de tanto como 2-3), que la exposición total comparable distribuida sobre un tiempo más largo. Estos hallazgos sugieren que aún las exposiciones a corto término deben ser tan bajas como sea posible. Los estudios positivos para carcinogenicidad y la detección de oncogenes *K-ras* activados en varios de estos tumores inducidos en ratones, incluyendo linfomas, hígado y pulmón, sugieren un mecanismo mutagénico para carcinogenicidad, y la seguridad de apoyo sobre un procedimiento de extrapolación de baja dosis (sobre las bases de la teoría de mutagénesis de multietapa), al menos para estos sitios de tumor. El hallazgo de oncogenes *K-ras* activados en estos tumores de ratón también puede ser relevante a humanos porque el *K-ras* es el oncogene más comúnmente detectado en humanos.

Las diferentes tendencias dosis-índice para los diferentes sitios de tumor sugieren que hay diferentes mecanismos envueltos en diferentes sitios. La observación de una respuesta-exposición altamente no lineal para linfomas a niveles de exposición de 625 ppm y más sugiere un mecanismo de alta exposición secundario también, no meramente una saturación metabólica, según se sospecha en con la alta saturación vista en las ratas Spague-Dawley. (Ex. 34-6 Owen and Glasiter) Emerge el cuadro de BD como un potente carcinógeno genotóxico multisitio en ratones, mucho más potente en ratones que en ratas.

Con respecto a los sitios de tumor apropiados para arriesgar la extrapolación de ratones a humanos, Melnick y Huff han presentado información comparando las respuestas de tumores animales para cinco carcinógenos humanos conocidos o sospechados- BD, benceno, óxido de etileno, cloruro de vinilo y acrilonitrilo. (Ex. 117-2) BD, benceno y óxido de etileno todos tienen fuerte evidencia ocupacional epidemiológica de mortalidad de cáncer linfático/hematopoyético aumentado (LHC) y los tres causan LHC, tumores de la glándula Harderian y tumores de las glándulas mamarias en ratones, más varios otros tumores primarios (véase la Tabla V-3) . Sólo el

BD y el cloruro de vinilo causan hemangiosarcomas en ratones, BD en el corazón y cloruro de vinilo en el hígado. En ratas, aunque los cinco carcinógenos causan tumores en sitios múltiples, sólo los tumores cerebrales y de la glándula Zymbal están asociados con tantos como cuatro de los compuestos. En general los ratones y las ratas son afectados en diferentes sitios de tumor por estos carcinógenos. LHC, pulmones, glándula Harderian, glándulas mamarias y posiblemente hemangiosarcomas son sitios en los ratones que se correlacionan bien con LHC humano. Esto sugiere que los ratones, ratas y humanos pueden tener diferentes sitios como objetivo para los mismos carcinógenos, pero que los compuestos que son carcinógenos multisitio en los ratones ratas tienen probabilidad de ser carcinógenos humanos también. Basado sobre la fuerte asociación de LHC del BD en humanos, y su carcinogenicidad multisitio en el ratón, incluyendo la ocurrencia en varios de los mismos sitios de órgano como objetivo, vistos con otros carcinógenos, OSHA concluye que el ratón es un buen modelo animal para predecir carcinogénesis de BD en humanos.

Tabla V-3.-Sitios en los cuales el 1,4-butadieno causa neoplasmas en ratones y ratas: Comparación con los resultados de los estudios con benceno, óxido de etileno, cloruro de vinilo y acrilonitrilo

[De Ex. 117-2]

Sitio	1,3-Butadieno		Benceno		Oxido de etileno		Cloruro de vinilo		Actinolita	
	ratones	ratas	ratones	ratas	ratones	ratas	ratones	ratas	ratones	ratas
Linfático/hematopoyético...	•		•		•	•			NS	
Pulmones.....	•		•		•		•			
Corazón.....	•									
Hígado.....	•		•				a •	a •		
"Fore stomach".....	•		•	•				•		•
Glándula Harderian.....	•		•		•					
Ovario	•		•							
Glándulas mamarias.....	•	•	•		•		•			•
Glándula prepucial.....	•		•							
Cerebro.....		•				•		•		•
Glándula Zymbal.....		•	•	•				•		•
Utero.....		•	•	•	•					
Páncreas.....		•								
Testículos.....		•								
Glándula tiroides.....		•								

NS, no estudiado
Hemangiosarcoma

2. Estudios Epidemiológicos

(i) *Introducción.* OSHA ha concluido que los estudios epidemiológicos contenidos en este expediente, así como el testimonio de vistas y las submisiones de expediente relacionados, muestran que la exposición ocupacional a BD está asociada con un riesgo aumentado de muerte debida a cánceres del sistema linfohematopoyético (LH). Sin embargo, en contraste con los datos de toxicología disponibles, nuestro entendimiento de epidemiología de BD está basado sobre

estudios de observación, no experimentales. En otras palabras, los investigadores que condujeron estos estudios epidemiológicos no tenían control sobre el status de exposición de los trabajadores individuales. Pudieron, sin embargo, seleccionar las poblaciones y el diseño de estudio de observación.

Los estudios de grupo y casos de control son dos tipos de diseños de estudios de observación. Cada uno de estos diseños tiene puntos fuertes y débiles que debieran considerarse cuando los resultados son interpretados. Los estudios de grupo, por ejemplo, tienen la ventaja de disminuir la posibilidad del error de selección en relación al status de exposición. Las desventajas de los estudios de grupo incluyen el gran número de sujetos que son necesarios para estudiar enfermedades raras y la duración potencialmente larga requerida para el seguimiento. En comparación, los estudios de caso de control son apropiados para el estudio de enfermedades raras y requieren menos sujetos. Las desventajas de los casos de control, sin embargo, incluyen la dificultad de seleccionar un grupo de control apropiado, y la dependencia sobre la recordación o registro de información sobre pasadas exposiciones. No empuja el diseño del estudio de observación, la mayor limitación de los estudios epidemiológicos ocupacionales es su capacidad para medir y clasificar la exposición.

A pesar de las limitaciones inherentes de los estudios epidemiológicos de observación, se ha desarrollado guías para juzgar las asociaciones entre la exposición y el resultado. Los criterios comúnmente usados para distinguir las asociaciones causales de las no causales incluyen: La fuerza de la asociación según medida por la razón de riesgo relativo o las probabilidades de razón; la consistencia de la asociación en diferentes poblaciones; la especificidad de la asociación entre la causa y el efecto; la relación temporal entre la exposición y enfermedad lo que requiere que la causa preceda al efecto, la admisibilidad de la asociación entre la exposición y la enfermedad; la presencia de la relación dosis-respuesta entre la exposición y la enfermedad; y la coherencia con el conocimiento presente de la historia natural y la biología de la enfermedad. Estos criterios han sido considerados por OSHA en el desarrollo de su conclusión en relación a la asociación entre BD y cáncer del sistema LH.

Según establecido previamente, cada tipo de diseño de estudio epidemiológico tiene sus puntos fuertes y débiles. Ya que los estudios epidemiológicos son de observación y no experimentales, cada estudio tendrá sus fortalezas y debilidades inherentes; no hay un estudio epidemiológico perfecto. La evidencia más convincente de la validez y confiabilidad de cualquier estudio epidemiológico viene con la duplicación de los resultados del estudio.

Hay seis estudios epidemiológicos principales en el expediente que han sido examinados en relación entre la exposición ocupacional a BD y el cáncer humano. Estos estudios incluyen: Un estudio de Carolina del Norte de los trabajadores de la goma (Ex.23-41; 23-42; 23-4; 2-28; 23-27; 23-3), un estudio de Texaco de los trabajadores en la facilidad de producción de BD en Texas (Ex. 17-33; 34-4; 34-4); un estudio de NIOSH de dos plantas en la industria de la goma de estireno-

butadieno (SBR) (Ex. 2-26; 32-25); el estudio de grupo Matanoski de los trabajadores en la manufactura de SBR (Ex. 9; 34-4); el estudio de caso-control de los trabajadores en la manufactura de SBR conducido por Matanoski y Santos-Burgoa (Ex. 23-109); y un estudio de seguimiento de los trabajadores de goma sintética recientemente completado por Delzell et al. (Ex. 117-1). Varios comentarios en el expediente han concluido que estos estudios demuestran una asociación positiva entre la exposición ocupacional a BD y cánceres LH. Sin embargo, OSHA

ha sido criticada por la Chemical Manufacturers Association (CMA) y el International Institute of Synthetic Rubber Producers, Inc. (IISRP), por su interpretación de estos estudios como que muestran una asociación positiva; las principales críticas serán discutidas a continuación. (Ex. 112 y 113)

La consideración final de OSHA de los estudios epidemiológicos de BD está organizada y presentada de acuerdo a lo que ha sido identificado como asuntos clave. Estos son los estudios epidemiológicos que fueron traídos y considerados durante la reglamentación. También son los asuntos más pertinentes a las conclusiones de OSHA. Estos asuntos claves que rodean a la exposición a BD y cáncer LH son: Evidencia de una asociación; observación de una relación dosis-respuesta; observación de cortos períodos de latencia; el rol potencial de confundir las exposiciones y los resultados del estudio observados; la base biológica para agrupar los cánceres LH relacionados; la relevancia de los análisis de subgrupo; y la adecuacidad de las poblaciones de referencia seleccionadas.

(ii) Evidencia de Asociación entre BD y Cáncer LH. Cada uno de los estudios listados anteriormente contribuye al conocimiento epidemiológico sobre el cual la conclusión de OSHA concerniente a la relación de exposición a BD y cáncer LH ha sido desarrollada.

(a) Estudios de Carolina del Norte. Estas series de estudios fueron emprendidas para examinar los problemas de salud relacionados con el trabajo de una población de trabajadores en una planta principal manufacturera de yantas. No fueron diseñados para ver específicamente los riesgos a la salud del BD. (Tr. 1/15/91, p.117). Sin embargo, en el área de trabajo que envolvía la producción de elastómeros, incluyendo SBR, se halló riesgos relativos de 5.6 para malignidad linfática y hematopoyético y 3.7 para leucemia linfática entre los trabajadores empleados por más de cinco años. La International Agency for Research on Cancer (IARC), concluyó que este estudio sugiere una asociación entre la malignidad linfática y hematopoyético y el trabajo en la manufactura de SBR. (Tr. 1/15/91, página 117) Sin embargo, la IISRP aseveró que estos estudios no proveen "evidencia significativa de una asociación entre butadieno y cáncer." (Ex. 113, página A-23) OSHA reconoce que los investigadores que condujeron estos estudios pueden haber tenido exposiciones a solventes orgánicos, incluyendo benceno, un leuquemógeno conocido, según señalado por IISRP. (Ex. 113, página A-24)

(b) *Estudio Texaco*. Los dos estudios de Texaco examinaron la mortalidad de una población de trabajadores en una facilidad de manufactura de BD en Texas. (Ex. 17-33; 34-4 Vol. III, H-2; Divine 34-4, Vol. III, H-1) Un método cualitativo de clasificación de exposición, basado sobre códigos de departamento y juicios de consensos peritos fue usado en el estudio Downs. (Ex. 17-33; 34-4, Vol. III, H-2) De esta metodología se definieron cuatro grupos de exposición: Baja exposición, la cual incluía trabajadores de utilidad, soldadores, electricistas y trabajadores de oficina; exposición de rutina, la cual incluía trabajadores de proceso, personal de laboratorio, y trabajadores de recibo, almacenado y transporte; exposición no rutinaria, la cual incluía trabajadores de mantenimiento diestros; y exposición desconocida, la cual incluía a supervisores e ingenieros. Es la opinión de OSHA que aunque este es un enfoque rudimentario a la clasificación de exposición, hay hallazgos importantes en este estudio que contribuyen a nuestro entendimiento de la epidemiología del BD.

En el estudio Downs (Ex. 34-4, Vol. III, H-2), la razón de mortalidad estandarizada (SMR), para todas las causas de muerte en toda el grupo de estudio fue baja (SMR 80; $p < .05$), al ser comparada con los índices de población nacional. Sin embargo, un exceso estadísticamente significativo de muertes fue observado para linfoma y sarcoma de célula reticular combinados (SMR 235; 95% de intervalo de confiabilidad (CI) = 101,463), al ser comparado con los índices de población nacional. (El asunto de la selección de la población de referencia está discutido a continuación en el párrafo (viii).)

Al ser analizado por duración de empleo, el SMR para la categoría de todos los neoplasmas LH fue más alto en los trabajadores con menos de cinco años de empleo (SMR=167), que para aquellos con más de cinco años de empleo (SMR=127). (Ex. 34-4, Vol. III, H-2) Sin embargo, ninguno de estos hallazgos fue estadísticamente significativo. Alternativamente, se ha sugerido que quizá los trabajadores a corto término fueron trabajadores del tiempo de la guerra y que esos trabajadores estuvieron actualmente expuestos a niveles más altos de BD, aunque por un tiempo más corto. (Tr. 1/15/91, página 119)

Los análisis de los cuatro grupos de exposición también mostraron SMRs elevados, pero no estadísticamente significativos. El grupo de exposición de rutina tenía un SMR de 187 para todos los neoplasmas LH, explicados principalmente por el exceso en la enfermedad de Hodgkin (SMR=197) y otros linfomas (SMR=197) y otros linfomas (SMR=282). (Ex. 34-4, Vol. III, H-2) Aquellos trabajadores en el grupo de exposición no rutinaria también tenían SMR elevado para todos los neoplasmas LH (SMR=167), con un exceso de mortalidad para la enfermedad de Hodgkin's (SMR=130), leucemias (SMR=201), y otras linfomas (SMR=150) (Ex. 34-4, Vol. III, H-2).

Estos datos fueron actualizados por Divine extendiendo el período de seguimiento de 1979 a 1985. (Ex. 34-4, Vol. III, H-1) El SMR para todas las causas de mortalidad permaneció bajo (SMR =

84, 95% CI=79,90), al igual que la mortalidad para todos los cánceres (SMR= 80, 95% CI= 69,94). (Ex. 34-4, Vol, III, H-1) Sin embargo, el SMR para linfoma y reticulosarcoma combinado fue elevado y estadísticamente significativo (SMR= 229, 95% CI=104,435). Este hallazgo fue consistente con los análisis previos hechos por Downs (Tr. 1/15/91, página 120).

Los análisis de grupos de exposición también fueron consistentes con los hallazgos previos por Downs. Los niveles más altos de exceso de mortalidad debido a malignidad linfática y hematopoyético fueron vistos nuevamente en los grupos de exposición de rutina y no rutina. El grupo de exposición rutinaria que estuvo "siempre empleado" tenía un exceso estadísticamente significativo de linfoma (SMR = 561, 95% CI= 181,1310), que justificaba la mayoría del exceso de LH. (Ex. 34-4, Vol. III, H-1). El grupo de trabajadores empleados antes de 1946

(trabajadores de tiempo de guerra), también demostró un exceso estadísticamente significativo de mortalidad debido a linfoma y reticulosarcoma combinados (SMR=269, 95% CI = 108,555). (Ex. 34-4, Vol. III, H-2)

En resumen, el estudio Texaco provee varios resultados notables. El primero de estos hallazgos es la mortalidad consistentemente elevada para linfoma. Este hallazgo es consistente el exceso de linfomas observados en los ratones experimentales. (Ex. 23-92) Segundo, el exceso de riesgo de mortalidad fue hallado en los grupos de exposición de rutina y no rutinaria. Basado sobre los tipos de trabajos que tenían los trabajadores en estos dos grupos de exposición, este hallazgo sugiere que la incidencia de malignidad linfática es más alta en los grupos con la mayor exposición ocupacional a BD. (Tr. 1/15/91, página 121) El tercer resultado notable de este estudio fue el índice significativamente elevado de malignidad en los trabajadores empleados por menos de 10 años.

(c) *Estudio NIOSH.* El estudio de NIOSH fue emprendido en enero de 1976 en respuesta al informe de las muertes de dos trabajadores varones debido a leucemia. (Ex. 2-26; 32-25) Estos trabajadores habían sido empleados en dos facilidades SBR adyacentes (Planta A y Planta B) en Port Neches, Texas. La hipótesis probada por este estudio es que:

El empleo en la industria de la producción de SBR estaba asociado, específicamente, con un riesgo aumentado de leucemia y más generalmente, con un riesgo aumentado de otras malignidades de los tejidos hematopoyéticos y linfáticos. (Ex. 2-26)

Este estudio no examina específicamente la asociación entre BD y todos los cánceres LH. Así OSHA está de acuerdo en que la crítica de que este estudio en sí mismo no demuestra que la exposición ocupacional a BD *causa* cáncer. (Ex. 113, pp. A-13, A-19) Sin embargo, los hallazgos en este estudio son consistentes con los patrones observados en otros estudios epidemiológicos discutidos en esta sección. En la Planta A, la mortalidad general fue

significativamente disminuida (SMR=80, $p < 0.05$). (Ex. 2-26) El SMR para todos los neoplasmas malignos también estuvieron disminuidos (SMR=78), pero este resultado no fue estadísticamente significativo. (Ex. 2-26) El SMR para cánceres LH fue elevado (SMR=155), como lo fue para linfosarcoma y sarcoma de célula retícula (SMR=181) y leucemia (SMR=203), pero ninguno de estos resultados fue estadísticamente significativo. (Ex. 2-26)

El patrón de mortalidad para un subgrupo de trabajadores de tiempo de guerra también fue examinado para la población de la Planta A. Para este grupo de varones blancos, empleados al menos seis meses entre el comienzo de enero de 1943 y el final de diciembre de 1945, hubo un SMR elevado de neoplasmas linfáticos y hematopoyéticos (SMR = 212), que fue estadísticamente significativo al nivel de $0.05 < p < 0.1$. (Ex. 2-26) Del mismo modo, el SMR para leucemia fue aumentado (SMR=278), también con significado estadístico al nivel de $0.05 < p < 0.1$. (Ex.2-26)

En la planta B, la mortalidad general fue baja (SMR=66, $p < 0.05$), como fue muerte de todo neoplasma maligno (SMR=53, $p < 0.05$). (Ex. 2-26) El SMR para cáncer LH también fue bajo (SMR = 78), pero este hallazgo no fue estadísticamente significativo. (Ex. 2-26) .

Cuando este estudio fue actualizado, los patrones de mortalidad permanecieron sin cambios. (Ex. 32-25). Los hallazgos más notable del estudio de NIOSH son el exceso de mortalidad para malignidades del sistema LH y el exceso de estos cánceres en los trabajadores empleados durante los años de tiempo de guerra.

(d) *Estudio de grupo Matanoski*. El estudio de grupo conducido por Matanoski et al. comprende dos períodos de seguimiento: En el estudio original, completado en junio de 1982, el grupo fue seguido desde 1943 hasta 1979; y en la actualización, completada en marzo de 1988, el período de seguimiento de el grupo fue extendido hasta 1982. (Ex. 9; 23-39; 34-4, Vol.III, H-3 y H-6, respectivamente) El estudio original analizó datos de mortalidad para 13,920 trabajadores varones empleados por más de un año en ocho plantas de producción SBR en los EEUU y Canadá. Aunque los datos de exposición cuantitativos históricos no estaban disponibles, la creación de un diccionario de trabajo hizo posible designar cuatro actividades de trabajo general como sustitutos de exposición: Producción; utilidades; mantenimiento y una categoría combinada de todos los otros trabajos. Las actividades de trabajo con las exposiciones más altas a BD fueron producción y mantenimiento. (Ex. 16-39) La duración total trabajada fue medida por las fechas del primero y el último empleo.

La experiencia de mortalidad para el grupo de estudio original, según comparada con los índices de muerte para los varones en EEUU, fue baja para todas las causas (SMR=81) y todos los cánceres (SMR=84). (Ex. 9; 23-39) El SMR para todos los cánceres LH también fueron bajos (SMR=85). (Ex. 9; 23-39) El índice de mortalidad para la enfermedad de Hodgkin fue

ligeramente elevado (SMR = 120), pero no fue estadísticamente significativo. (Ex. 9; 23-39) De hecho, no hubo exceso estadísticamente significativo en la mortalidad debida a cáncer en cualquier sitio hallado en este estudio de grupo original.

Estos datos iniciales también fueron analizados de acuerdo a las principales áreas de trabajo. No hubo elevaciones de índice de mortalidad para la categoría de todos los cánceres LH. (Ex. 9; 23-39). Para los trabajadores de producción, el SMR para los cánceres linfáticos fue elevado (SMR=202), pero no fue estadísticamente significativo. (Ex. 9; 23-39) El SMR para leucemia en el grupo de trabajo de utilidades también fue elevado (SMR=198), pero estuvo basado sólo sobre dos muertes y no fue estadísticamente significativo. (Ex. 9; 23-39) Se vio ligeros excesos, ninguno de los cuales fue estadísticamente significativo, para la enfermedad de Hodgkin en cada uno de los cuatro categorías de grupos de trabajo. (Ex. 9; 23-39)

OSHA ha sido criticada por su opinión expresada en el preámbulo de la regla propuesta de BD, de que el estudio de grupo original de Matanoski no tenía suficiente poder para detectar la diferencia en el SMR de cáncer, si en la actualidad existiera uno. (Ex. 113, pp. A-10-11) El poder estadístico de la menos 80% es la regla básica aceptada para diseño de estudio de investigación epidemiológica. Los cálculos provistos por Matanoski indican que, para los resultados de mayor preocupación para OSHA, el poder estadístico fue con frecuencia bajo el nivel de 80%. (Ex. 9). Para leucemia, el poder estadístico para detectar aumentos de mortalidad de 25% y 50% fue sólo 27% y 62% respectivamente. (Ex. 9) El poder para detectar un aumento de 25% en mortalidad para todos los cánceres hematopoyéticos fue sólo 49%. (Ex. 9) Sin embargo, el estudio no tenía poder estadístico de 93% para detectar un SMR de 150 para todos los cánceres LH. (Ex. 9) Así, para todos los cánceres de mayor interés para OSHA, este estudio tenía poder estadístico limitado para detectar excesos de mortalidad que fueran menos del doble. OSHA no puede considerar que esto sea un "estándar de aceptabilidad irrealistamente estricto," según alegado por el IISRP, sino parte de una crítica concienzuda de un estudio epidemiológico con "resultados negativos." (Ex. 113, página A-11)

La actualización del estudio original de Matanoski extiende el período de seguimiento de grupo de 1979 a 1982, proveyendo 40 años de experiencia de mortalidad para análisis. La actualización de grupo de estudio difería de el grupo original en dos maneras adicionales: los trabajadores canadienses con relativa exposición a corto término fueron removidos de el grupo; y la proporción de trabajadores perdidos para el seguimiento fue reducido. La extensión del seguimiento resultó en hallazgos de exceso de mortalidad debido a cánceres linfáticos y hematopoyéticos que no habían sido observados en el análisis original. (Ex. 34-4, Vol. III, H-6)

El SMR para todas las causas de mortalidad permaneció bajo (SMR=81, 95% CI = 78,85), según permaneció para muerte de todos los cánceres (SMR = 85, 95% CI = 78, 93). (Ex. 34-4, Vol. III, H-6) Para cánceres linfáticos y hematopoyéticos, el SMR general para varones blancos no fue aumentado (SMR = 92, 95% CI = 68,123). (Ex. 34-4, Vol.III, H-6) Sin embargo, para

varones negros, el SMR para todos los cánceres LH fue elevado (SMR = 146, 95% CI=59,301). (Ex. 34-4, Vol. III, H-6) También se halló aumentos específicos para linfoma (SMR=132), leucemia (SMR=218, 95% CI= 59,560) y otros neoplasmas linfáticos (SMR=116, 95% CI= 14,420). (Ex. 34-4, Vol. III, H-6) Estos aumentos estuvieron basados sobre el pequeño número de muertes observado.

Los análisis conducidos en los cuatro grupos de exposición también produjeron alguna evidencia de exceso de mortalidad. Para el grupo total de trabajadores de producción, se observó un SMR elevado para todos los cánceres linfopoyéticos (SMR = 146, 95% CI= 88, 227). (Ex. 34-4, Vol. III, H-6) Para los trabajadores de producción blancos, el SMR para esa categoría fue 110, explicado principalmente por el exceso de mortalidad debido a otros neoplasmas linfáticos (SMR=230, 95% CI=92,473). (Ex. 34-4, Vol. III, H-6) Aunque basado sobre pequeñas cifras, los resultados para los trabajadores de producción negros fueron más pronunciados y estadísticamente significativos: El SMR para todos los cánceres linfáticos y hematopoyéticos fue 507 (95% CI= 187, 1107). (Ex. 34-4, Vol. III, H-6) Ese aumento general en trabajadores negros reflejó exceso de mortalidad debido a linfoma (SMR=532), leucemia (SMR=656, 95% CI= 135, 1906), y otros cánceres linfáticos (SMR= 482, 95% CI= 59,1762). (Ex. 34-4, Vol. III, H-6)

También se vió un patrón de exceso de mortalidad en los trabajadores de utilidad (SMR = 203, 95% CI=66,474). (Ex. 34-4, Vol. III, H-6) Ese SMR elevado puede ser explicado mediante los elevados índices para leucemia (SMR=192, 95% CI=23,695) y otros cánceres linfáticos (SMR=313, 95% CI=62,695). (Ex. 34-4, Vol. III, H-6) No se vio aumento en malignidad LH en otros grupos de exposición, i.e., mantenimiento u otros trabajadores.

De estos resultados de estudio Matanoski et al concluyó:

Las muertes debidas a cánceres del sistema hematopoyético y linfopoyético son más altas que lo esperado en los trabajadores de producción con excesos significativos para leucemia en los trabajadores negros y otros linfomas en todos los trabajadores (producción). (Ex. 334-4, Vol. III, H-6, p.116)

En respuesta a la crítica de IISRP de que OSHA colocó demasiado énfasis sobre los hallazgos en el grupo de trabajadores de producción, OSHA está al tanto de la declaración ofrecida por los investigadores de que debido al potencial de error de la mala clasificación de raza: " * * * el total de SMRs son probablemente la más correcta representación del riesgo." (Ex. 34-4, Vol. III, H-6) Sin embargo, OSHA también está de acuerdo con los autores de que el riesgo de muerte de cánceres LH parece ser más alto en las poblaciones de la industria SBR que en la población general y estas causas de muerte parecen estar asociadas con las diferentes áreas de trabajo. Estos hallazgos de estudio de grupo estimularon el diseño y la implantación del estudio de caso de control integrado de Santos-Burgoa y Matanoski.

(e) *Estudio de caso-control integrado Santos-Burgoa y Matanoski.* Para investigar además los

hallazgos del estudio de grupo, Santos-Burgoa y Matanoski et al. diseñaron y condujeron un estudio de caso-control de cánceres LH en los trabajadores en la industria manufacturera de polímero de estireno-butadieno. (Ex. 23-109; 34-4, Vol. III, H-4) Estas preguntas específicas discutidas por este estudio de investigación son: "¿Hay riesgo de algún cáncer linfático o hematopoyético que esté asociado con la exposición a BD o estireno o ambos?"; y "¿hay riesgo de que estos cánceres relacionados a la exposición en trabajos dentro de la industria?" (Ex. 34-4, Vol. III, H-4) Este es el primer estudio que investiga específicamente la asociación entre cánceres LH y la exposición de trabajador individual a BD, que es lo que, contrario a la opinión de IISRP, OSHA coloca tanto "peso" sobre estos resultados. (Ex. 113, pp. A-25-34)

Los sujetos en este estudio de caso-control fueron "integrados" o contenidos dentro de la población del estudio de el grupo original. Los "casos" en este estudio fueron definidos como varones que trabajaron un año o más en cualquiera de las ocho plantas de producción de polímeros de goma sintética y quienes murieron de o con un cáncer linfopoyético. Estos cánceres incluyen: Linfosarcoma y sarcoma de célula reticular, linfoma de Hodgkin, linfoma no Hodgkin, todas las leucemias, mieloma múltiple, policitemia vera y mielofibrosis. Sesentaún casos fueron identificados, pero dos casos fueron omitidos del análisis, resultando en un total de 59 casos. Un caso fue omitido debido a que no pudo ser pareado con los controles y el otro caso carecía de expedientes de trabajo de los cuales pudiera identificarse la exposición.

Los controles "elegibles" incluyeron trabajadores que estaban vivos o habían muerto de cualquier causa distinta de neoplasmas malignos, que habían sido empleados en una de las ocho plantas SBR, y quienes no habían estado perdidos al seguimiento. Estos controles fueron individualmente pareados a casos en los siguientes criterios: Planta; edad; año de reclutamiento; empleo tan largo o más largo que el caso; y supervivencia a la muerte del caso. La meta del estudio era seleccionar cuatro controles por caso. Aunque esto no siempre fue posible, hubo, en promedio, sobre tres controles por caso en cada grupo de cáncer linfopoyético. El número total de controles fue 193.

A diferencia de los estudios previos, en este estudio de investigación un valor de medición de exposición para BD (y también para estireno), fue determinado para cada caso y control. Este valor fue determinado por un proceso de múltiples pasos. Primero, los expedientes de trabajo para cada sujeto fueron revisados y se determinó el número de meses que se sostuvo cada trabajo. Segundo, el nivel de BD (y estireno) asociado con el trabajo fue estimado por un panel de cinco peritos industriales, i.e., ingenieros con experiencia a largo plazo en la producción de SBR. El nivel de exposición para BD (y estireno), para cada trabajo estuvo basado sobre una escala de cero al 10, el 10 siendo el rango asignado a la mayor exposición. El próximo paso en el desarrollo de cada matriz de trabajo individual fue añadir todas las exposiciones a los químicos para todos los meses que se mantuvo un trabajo específico y luego la suma de las exposiciones durante una vida de trabajo. Este procedimiento resultó en un valor de exposición a BD acumulativo para cada caso de control.

La distribución de los estimados de exposición acumulativa para la población de estudio no fue normalmente distribuida, i.e., hubo algunos valores extremos. Para aproximar una distribución normal, se hizo una transformación logarítmica de estos valores. (Ex. 34-4, Vol. III, H-4) La exposición fue analizada como una variable dicótoma, i.e., alguna vez/nunca expuesto. Los trabajadores "expuestos" fueron definidos como aquellos con una clasificación de puntuación de exposición acumulativa sobre la media de las puntuaciones para la población entera de casos y controles dentro de un subtipo de cáncer; los trabajadores "no expuestos" fueron aquellos con una puntuación bajo la media.

Hubo varios hallazgos importantes en este estudio. Primero, en el análisis no pareado de casos y controles, el subgrupo de leucemia tiene un exceso de riesgo significativo de 6.8 veces para exposición a BD y entre los casos comparados a los controles (Odds Ratio (OR)=6.82, 95% CI=1.10, 42.23). (Ex. 34-4, Vol. III, H-4) Los resultados fueron aún más fuertes en el análisis de par pareado. En ese análisis de exposición a BD, el OR fue 9.36 (95% CI=2.05, 22.94) en el subgrupo de leucemia. (Ex. 34-4, Vol. III, H-4) Este resultado puede ser interpretado como que significa que los casos con leucemia eran más de nueve veces tan probables como sus controles para estar expuestos a BD. Además, los datos en este análisis indican que la exposición a BD sobre la media de grupo es 2.3 veces (OR=2.30, 95% CI=1.13, 4.71), más comunes entre casos con todos los cánceres linfopoyéticos al ser comparados a una exposición similar en los controles. (Ex. 34-4, Vol. III, H-4)

Este estudio de caso-control ha sido el tema de críticas que han estado centradas sobre la validez y la confiabilidad. (Ex. 23-68; 113) Por ejemplo, los datos de este estudio han sido criticados como "inconsistentes" con los resultados de el estudio de grupo de Matanoski. (Ex. 23-68; 113, página A-25) Más aún, se ha sugerido que "los resultados de estudio no son confiables y OSHA no debe confiar en ellos." (Ex. 113, página A-25) OSHA rechaza estos criticismos por las razones discutidas a continuación.

Primero, en relación al asunto de la inconsistencia, un estudio de caso control integrado no prueba las mismas hipótesis o hace las mismas comparaciones que un estudio de grupo. (Ex. 32-24; Tr. 1/15/91, página 161; Tr. 1/16/91, página 347) De hecho, según presentado en las discusiones anteriores de los estudios, se pregunta y contesta a diferentes preguntas de investigación. Por ejemplo, el estudio de grupo preguntó si todos los trabajadores de SBR tienen un riesgo de leucemia diferente del de la población general, y el estudio de caso control preguntaba si los trabajadores con leucemia tenían diferentes exposiciones dentro del marco industrial del de los trabajadores sin leucemia. (Ex. 32-24) Así, la crítica de que los resultados de estos dos estudios son incompatibles y por lo tanto no válidos, es irrelevante. (Ex. 32-24)

Segundo, el reto dirigido a la confiabilidad del estudio caso control no se sostiene bajo escrutinio estricto. Este criticismo está basado sobre cuatro "issues": Transformación de bitácora de los

datos de exposición; inestabilidad de los resultados; patrón de dosis-respuesta irregular; y los criterios de selección de los "controles." (Ex. 113, A-29-34) En relación a la transformación de bitácora de los datos de información, IISRP asevera que no hay una razón sólida para este enfoque al análisis de datos. (Ex. 113, A-29-30) Sin embargo, Santos-Burgoa ofreció la siguiente explicación de este procedimiento en su testimonio:

Para análisis, las exposiciones fueron categorizadas por adelantado sobre y bajo la media de la exposición acumulativa bajo para los sujetos de estudio. Este límite fue definido desde el principio del diseño de análisis como sigue. Las exposiciones acumulativas totales, como sucede en las mayoría de las exposiciones ambientales, mostraron una distribución desviada con muchas observaciones en los bajo niveles y pocas en los altos niveles. Ya que la media geométrica es el mejor estimado del punto de tendencia central en datos de bitácora normal, tales exposiciones acumulativas fueron transformadas por el logaritmo, y luego la media fue calculada. (Ex. 40, pp. 12-13)

La opinión de OSHA es que, dada la distribución normal de bitácora de los datos de exposición, Santos-Burgoa seleccionó el mejor enfoque para el análisis de datos.

El estudio de caso-control también ha sido criticado por producir "resultados altamente inestables y por lo tanto no confiables." (Ex. 113, A-30). Por ejemplo, el subgrupo de leucemia (análisis de par- pareado) OR de 9.36 con un intervalo de confiabilidad de 95 % de 2.05-22.94 has sido usado para ilustrar la inestabilidad estadística de los datos (Ex. 113, A-31) Sin embargo, según discutido previamente, "todos los cánceres linfopoyéticos" (análisis par-pareado), tenía un OR de 2.30 con un intervalo de confiabilidad de 1.13-4.71. Así, es la opinión de OSHA que, aunque algunas razones probables específicas pueden tener intervalos de confiabilidad amplios, los resultados del estudio como entero son confiables.

El IISRP también criticó el estudio caso-control por " * * * omitir la demostración de una relación de dosis-respuesta * * * " (Ex. 113, A-32) Sin embargo, la prueba de tendencia lineal, i.e., prueba de dosis-respuesta, muestra una tendencia estadísticamente significativa, pero irregular, en las probabilidades de leucemia con niveles aumentados de exposición a BD. Específicamente, según aumentan los niveles de exposición el patrón de razones de probabilidad es: 7.2; 4.9; 13.0; 2.5; y 10.3 (Ex. 23-109, Table 10) Aunque esta no es una dosis-respuesta lineal forzado, en la opinión de OSHA, sugiere un patrón de riesgo de enfermedad aumentado a niveles de exposición en aumento.

La aplicación inconsistente de los criterios de selección de control es la crítica final dirigida al estudio de caso-control por el IISRP. (Ex. 113, A-33) Sin embargo, la revisión cuidadosa de las pruebas del sumario relacionado con el estudio de caso-control revela que esta crítica es infundada. En esta disertación, Santos-Burgoa establece claramente el protocolo para selección de control:

Todos los sujetos de los grupos fueron dispuestos en grupos por plantas, fecha de nacimiento, fecha de reclutamiento, duración del trabajo y duración del seguimiento. Se relajó un período de dos años y medio alrededor de cada variable de tiempo en unos cuantos casos donde no había más controles disponibles. Un caso de linfoma se perdió, ya que no se halló pareo para la fecha de nacimiento, aún haciendo una concesión de tres años y medio alrededor de la fecha. Este fue el único caso perdido al análisis debido a la falta de un control pareado (Ex. 32-25, página 80)

Con sólo 59 casos, Santos-Burgoa estaba correctamente preocupado por la pérdida de datos valiosos de ser necesaria la eliminación de cualesquiera casos adicionales debido a la falta de otro pareo. También, en relación al potencial de distorsión, los abstractores fueron cegados al status de control o caso donde los datos de empleo estaban siendo recogidos. (Ex. 34-4, Vol. III, App. H-5) Así, es más probable que cualquier distorsión de mal cálculo no fuera diferencial, distorsionando los resultados del estudio hacia la nulidad.

(f) *Estudio de Seguimiento de Delzell et al. para el IISRP.* El estudio más reciente de los trabajadores de goma sintética fue conducido por Delzell et al. (Ex. 117-1) Este estudio fue actualizado y expandió la investigación sobre los trabajadores de SBR conducido por NIOSH, Matanoski et al., y Santos-Burgoa. Más específicamente, el estudio de Delzell et al. consiste en trabajadores en siete de ocho plantas previamente estudiadas por los investigadores de Johns Hopkins University (JHU), y las dos plantas incluidas en el estudio de NIOSH.

Este estudio de grupo retrospectivo evaluó las asociaciones entre la exposición ocupacional a BD, estireno y benceno y la mortalidad debida a cáncer y otras enfermedades entre los trabajadores de SBR. Hubo cinco objetivos de estudio:

- (1) Evaluar las experiencias de mortalidad general y específica de causa de los trabajadores de SBR en relación a la de la poblaciones en general de Canadá;
- (2) Avaluar la experiencia de incidencia de cáncer de los trabajadores de la goma sintética de Canadá en relación a la de la población general de Ontario.
- (3) Determinar si los patrones de mortalidad general y específicos de causa varían por características de sujeto tales como edad, tiempo calendario, planta, período de reclutamiento, duración del empleo, tiempo desde el reclutamiento y status de nómina (por hora o asalariado);
- (4) Examinar la relaciones entre las áreas de trabajo dentro de las plantas de estudio de SBR y los patrones de mortalidad específicos de causa;
- (5) Evaluar la relación entre la exposición a BD y (estireno) y la ocurrencia de leucemia y otros cánceres linfopoyéticos entre los trabajadores de SBR (Ex. 117-1 p.10)

El estudio de población para esta investigación incluyó 17,964 trabajadores varones de goma sintética empleados en una de las ocho plantas ya fuera en EEUU o Canadá. Para ser elegible para la inclusión, el trabajador tenía que haber estado empleado por un total de al menos un año antes de la fecha de cierre del estudio, el 1ero de enero de 1992. Se desarrolló criterios de elegibilidad además para las plantas seleccionadas debido a las limitaciones en disponibilidad de expedientes de planta y seguimiento de los sujetos. Los criterios de elegibilidad en este estudio fueron considerados por los investigadores como más restrictivos que en los estudios de JHU o NIOSH. (Ex. 117-1, p.13) La mayoría de las exclusiones estuvieron basadas sobre menos de un año de empleo. Durante el período de estudio de 1943 a 1991, hubo 4,665 muertes en la población de estudio.

Los métodos usados en este estudio incluyeron el desarrollo de información de historial de trabajo y estimados de exposición cuantitativos retrospectivos para los miembros individuales de la población de estudio. La información de trabajo completa estuvo disponible para aproximadamente 97% de el grupo de estudio. Hubo un total de 8,281 combinaciones de "área de trabajo/trabajo" únicas para todas las plantas combinadas, con un alcance de 199 a 4,850. Además, se definieron 308 grupos de área de trabajo basado sobre información de planta individual concerniente a producción, mantenimiento y otras operaciones, así como trabajos y tareas dentro de cada tipo de operación. Cinco "grupos de proceso" y siete "subgrupos de proceso" fueron derivados de los grupos de área de trabajo. Los grupos de proceso incluyen: Producción de SBR, polimerización de solución (SP), polimerización líquida (LP), y producción de látex; mantenimiento; trabajo; laboratorios y otras operaciones.

Seis plantas tenían información de historial de trabajo individual suficientemente detallado para usarse en el desarrollo de estimados de exposición cuantitativa retrospectiva para BD y estireno, El proceso usado para producir estos estimados de exposición incluyeron: Estudios de recorridos de profundidad de cada planta; reuniones con la gerencia de cada planta; entrevistas con expertos claves en la planta, tales como individuos empleados por largo tiempo. Las entrevistas fueron usadas para recoger información en relación al proceso de producción, tareas de trabajo específicas y potencial de exposición. además, se obtuvo los resultados del monitoreo de higiene industrial. El estimado de exposición actual estuvieron basados sobre:

La especificación del modelo de exposición; el estimado de las intensidades para tareas específicas en diferentes períodos de tiempo; el estimado de las intensidades de exposición para tareas específicas en diferentes períodos de tiempo; el estimado de las intensidades de exposición para títulos de trabajo genéricos (no específicos) (e.g., "trabajador de laboratorio"), en diferentes períodos de tiempo; validación de los estimados de intensidad de producción; el cómputo de índices sumarios de período de tiempo específico; y la recopilación de matrices de exposición de trabajo (JEMs), para BD, (estireno), y (benceno) y el enlace con los historias de trabajo de los sujetos. (Ex. 117-1, pp. 27-28)

Se condujo una validación limitada de los estimados de exposición cuantitativa, las cuales resultaron en la revisión de los estimados usados para análisis en los estimados usados en el estudio Delzell et al. (Ex. 117-1)

Los principales hallazgos de este estudio han sido informados por Delzell et al. en cinco categorías: Patrones de mortalidad general; mortalidad entre los sujetos de USA comparado con las poblaciones estatales; incidencia de cáncer; patrones de mortalidad por exposición estimada a monómeros. Los resultados clave de cada una de estas categorías, especialmente si están relacionadas con leucemia y otros cánceres LH, están brevemente presentados.

Primero, en relación a los patrones de mortalidad general, hubo déficits en todas las causas (SMR=87, 95% CI=85,90) y todos los cánceres (SMR =93, 95% CI=87, 99), para el grupo entero. (Ex. 117-1, p.53) De los cánceres LH. El exceso de mortalidad fue sólo observado para leucemia (SMR=131, 95% CI=97-174). (EX. 117-1, p.53) En un subgrupo de grupo que tenía 10 años o más de empleo y 20 años o más desde su reclutamiento, el exceso de muertes por leucemia fue aún mayor (SMR=201, 95% CI=134,288). (Ex. 117-1, p.54)

También se condujo análisis para explorar la posibilidad de diferencias raciales en los patrones de mortalidad general. En relación a la mortalidad debida a leucemia, los SMRs fueron más altos para los negros que para los blancos. En un subgrupo de trabajadores "siempre por hora" con 10 o más años de trabajo y 20 o más años desde su reclutamiento, los SMRs para leucemia fueron 192 (95% CI=119,294) para blancos y 436 (95% CI=176,901) para negros. (Ex. 117-1, p.55)

Además, se hizo análisis para grupos específicos de cánceres LH; Linfosarcoma, leucemia, y otros cánceres linfopoyéticos. Para el grupo general, hubo un exceso de mortalidad debida a linfosarcoma en aquellos miembros que murieron en 1985 y más allá (SMR=215, 95% CI=59,551). (Ex. 117-1, p.116) Este exceso fue observado en hombres blancos "siempre por hora"; no hubo muertes por linfosarcoma en negros. (Ex. 117-1, página 119)

En los "otras categorías de cánceres linfopoyéticos, el grupo general tuvo un ligero déficit de mortalidad (SMR=97, 95% CI=70,132)". (Ex. 117-1, p.116) Al ser analizado de acuerdo a grupos raciales, también se observó que los blancos tiene un déficit de mortalidad de este grupo de cánceres (SMR=91, 95% CI=63,127). (Ex. 117-1, página 118) Los negros, sin embargo, tenían un aumento de mortalidad de "otros cánceres linfopoyéticos" (SMR=142, 95% CI=61, 279). (Ex. 117-1, página 120)

Los análisis para mortalidad por leucemia en el grupo general mostraron un modesto aumento (SMR=131, 95% CI=97, 174). (Ex. 117-1, página 116) El aumento en mortalidad se halló principalmente en los subgrupos de los trabajadores que murieron en 1985 o más tarde, y aquellos que trabajaron por 10 o más años, y aquellos con 20 o más años desde su reclutamiento. Se

observó un tipo de patrón de dosis- respuesta entre los sujetos "siempre por hora" en el análisis de la relación de leucemia y la duración del empleo; Menos de 10 años trabajados, el SMR=95 (95 % CI=53,157); 10-19 años trabajados, el SMR=170 (95 % CI=85,304); y 20 o más años trabajados, el SMR=204 (95 % CI=123,318). (Ex. 117-1, p.117)

La mortalidad por leucemia también fue analizada para diferencias raciales entre los hombres "siempre por hora". En general, el SMR fue más alto para los sujetos negros (SMR=227, 95 % CI=104,431), que para los sujetos blancos (SMR=130, 95 % CI=91, 181). (Ex. 117-1, página 122) De hecho, hubo elevaciones estadísticamente significativas en el SMR para leucemia para hombres negros "siempre por hora" con 20 o más años trabajados (SMR=417, 95 % CI=135,972), y 20 a 29 años desde el reclutamiento (SMR=446, 95 % CI=145,1042). (Ex. 117-1, página 122)

Segundo, Delzell et al. analizó los datos de mortalidad del subgrupo de el grupo de USA usando los índices de población estatal general para comparación. El patrón general de estos análisis fue el de los SMRs "ligeramente más bajos" cuando se usó los índices de población estatal general. (Ex. 117-1, página 60) Por ejemplo, en el análisis para mortalidad por leucemia, el SMR usando los índices de USA fue 131 (95 % CI no provisto), y disminuyó a 129 (95 % CI=92, 176) cuando se aplicó los índices estatales. (Ex. 117-1, pp. 61, 136)

Tercero, los resultados del estudio Delzell et al. incluyen un análisis de la incidencia de cáncer en la planta canadiense (planta 8). No empece si la experiencia de cáncer de los trabajadores terminados fuera incluida o excluida, la incidencia de cáncer en general no fue elevada en este subgrupo de grupo (SIR=105, 95 % CI=93, 117; SIR=106, 95 % CI=94,119, respectivamente). (Ex. 117-1, pp. 61-62) Sin embargo, el análisis de este subgrupo de grupo, con los trabajadores terminado incluidos "revelaron un exceso de cánceres de leucemia antes de 1980 (grupo general 6 observados/ 3.0 esperados; siempre por hora; 6 observados/2.9 esperados)" (no se proveyó datos adicionales). (Ex. 117-1, p.62).

Cuarto, Delzell at al. examinó los patrones de mortalidad por grupo de trabajadores de proceso. Estos análisis produjeron SMRs elevados para linfomas y leucemia. Hubo un exceso de mortalidad por linfoma en los trabajadores de mantenimiento de campo (SMR=219, 95 % CI=88, 451), los trabajadores de producción (SMR=263, 95 % CI=32,951), y trabajadores de mantenimiento (SMR=188, 95 % CI=39,548). (Ex. 117-1, pp. 65-66) Sin embargo, estos resultados no fueron estadísticamente significativos y pueden ser debidos al azar. Para leucemia, los resultados fueron más notorios; Los trabajadores de polimerización tenían un SMR de 251 (95 % CI=140, 414); los trabajadores en coagulación tenían un SMR de 248 (95 % CI=100,511); los trabajadores de mantenimiento tenían un SMR de 265 (95 % CI=141,453); y los trabajadores en los laboratorios tenían un SMR de 431 (95 % CI=207,793). (Ex. 117-1, pp. 66,151) Debe señalarse que el exceso de mortalidad por grupo de trabajadores de proceso también fue observado

para otros cánceres, i.e., cáncer pulmonar y cáncer de la laringe.

Quinto, la serie final de análisis realizada por Delzell et al. estuvo diseñada para examinar los patrones de mortalidad por exposición estimada a monómero, i.e., BD, estireno y benceno. Los análisis de regresión Poisson conducidos para explorar la asociación entre "BD ppm-años" y leucemia indicaron una relación de dosis-respuesta positiva, después de controlar para "ppm-años" de estireno, edad, años desde el reclutamiento, período calendario y raza. Específicamente, en el grupo de grupo que incluía toda persona-años y leucemia codificada como la causa subyacente o contribuyente de muerte, las razones de índice (RRs), fueron: 1.0, 1.1 (95% CI=0.4, 5.0), 1.8 (95% CI=0.6,5.4), 2.1 (95% CI=0.6,7.1), y 3.6 (95% CI=1.0,13.2) para grupos de exposición a BD ppm-años de 0, >0-19, 20-99, 100-199 y 200+ respectivamente. (Ex. 117-1, pp.68-69; 158) Los análisis de regresión Poisson también fueron conducidos usando categorías de exposición variadas de BD ppm-años. Estos análisis demostraron una relación más fuerte y consistente entre BD y leucemia que entre estireno y leucemia. (Ex.117-1, página 69, 159) Aunque una relación claramente positiva entre "años-pico" de BD y leucemia fue observado de los análisis de regresión Poisson adicionales, aún después de controlar para ppm-años de BD, ppm-años de estireno y los pico-años de estireno, la relación de dosis-respuesta fue menos clara, (Ex. 117-1, pp.71, 162)

En resumen, uno de los más importantes hallazgos de la investigación de Delzell et al. fue la fuerte y consistente evidencia de que el empleo en la industria de SBR producía un exceso de leucemia. En las propias palabras del autor:

Este estudio halló una asociación positiva entre el empleo en la industria de SBR y leucemia. La consistencia interna y la precisión de los resultados indicaron que la asociación es debida a la exposición ocupacional. El agente causal más probable es BD, o una combinación de BD y (estireno). La exposición a [benceno] no explicó el exceso de leucemia. (Ex. 117-1, página 85)

(g) *Sumario*. Estos estudios proveen un cuerpo de evidencia científica en relación a la asociación entre BD y cánceres de LH. Según discutido previamente, dos de los criterios comúnmente usados para determinar las relaciones causales son consistencia de la asociación y la fortaleza de la asociación. El criterio de consistencia para causalidad se refiere a la observación repetida de una asociación en diferentes poblaciones bajo diferentes circunstancias. La consistencia es quizá la

observación más notoria a ser hecha por esta colección de estudios. "Cada uno de estos estudios en mayor o menor extensión haya índices de exceso de muertes debidas a tumores del sistema linfático y hematopoyético." (Tr. 1/15/91, p.129)

La fortaleza de la asociación está determinada por la magnitud y la precisión del estimado de riesgo. En general, a mayor el estimado de riesgo, e.g., SMR o razones de probabilidad, y a más estrechos los intervalos de confiabilidad alrededor del estimado, mayor probabilidad de asociación causal. En el estudio de caso-control integrado, aunque los intervalos de confiabilidad fueron amplios, las razones de probabilidad proveen evidencia de una fuerte asociación entre leucemia y

la exposición ocupacional a BD.

(iii) *Observación de una Relación de Dosis-Respuesta.* Hay presente una relación de dosis-respuesta cuando un aumento en la medida del efecto (respuesta), e.g., SMR o razón de probabilidad, está positivamente correlacionada con un aumento en la exposición, i.e., dosis estimada. Cuando se observa tal relación, se da seria consideración al proceso de determinar causalidad. Sin embargo, la ausencia de una relación de dosis-respuesta no indica necesariamente la ausencia de una relación causal.

OSHA ha sido criticada por su conclusión de que los datos epidemiológicos sugieren una relación de dosis-respuesta. (Ex. 113) El IISRP ofrece una interpretación diferente de los datos. En su opinión, los datos proveen un "hallazgo consistente de una relación inversa entre la duración del empleo y la mortalidad por cáncer." (Ex. 113, A-34) Esta observación está descrita subsiguientemente por John F. Acquavella, Ph.D., Senior Epidemiology Consultant, Monsanto Company, como "la paradoja de la epidemiología de butadieno." (Ex. 34-4, Vol. I, Appendix A) Esta interpretación asume que la exposición ocupacional acumulativa a BD aumentará con la duración del empleo y así, la mortalidad por cáncer aumentará con el aumento en la duración del empleo. (Ex. 113, A-35-39)

En la opinión de OSHA, esta es una asunción errónea: los datos epidemiológicos para BD cuentan una historia diferente. Para los trabajadores en estos estudios epidemiológicos, es improbable que la exposición ocupacional a BD sea constante durante la duración del empleo. De acuerdo con Landrigan, las exposiciones a BD fueron probablemente más altas durante los años de guerra que en los años subsiguientes. (Tr. 1/15/91, página 146) Es lógico que las exposiciones serían específicamente intensas durante este período de tiempo debido a la presión de producción del tiempo de guerra, el comienzo del proceso de producción en una nueva industria y la carencia general de controles de higiene industrial durante esa fase de la historia industrial. Desafortunadamente, sin datos de monitoreo cuantitativos de higiene industrial, los verdaderos niveles de exposición a BD para los trabajadores del tiempo de guerra no pueden ser verificados. En ausencia de tales datos, sin embargo, OSHA cree que es razonable considerar a los trabajadores del tiempo de guerra como un subgrupo ocupacional altamente expuestos. (Tr. 1/15/91, página 121; Tr. 1/16/91, pp. 225-227) Así, el exceso de mortalidad visto entre estos trabajadores provee otra pieza de evidencia para apoyar una relación de dosis respuesta entre la exposición ocupacional a BD y cánceres LH.

Apoyo adicional a que el exceso de mortalidad, entre los trabajadores expuestos a BD está relacionada a dosis puede hallarse en el análisis de los grupos de exposición de área de trabajo. Los estudios por Divine, Matanoski y Matanoski y Santos-Burgoa todos proveen evidencia de que el exceso de mortalidad es mayor entre los trabajadores de producción. (Ex.34-4, Vol. III, H-1; 34-4, Vol. III, H-6; 23-109, respectivamente. Los trabajadores de producción son característicamente los trabajadores más fuertemente expuestos a sustancias potencialmente tóxicas. (Ex. 34-4)

Los datos más impulsados que apoyan la existencia de una relación dosis-respuesta para exposición ocupacional a BD y cánceres LH son aquellos en el estudio de Delzell et al. (Ex. 117-1) Los análisis de la exposición a BD en ppm-años indica un riesgo relativo para todas las leucemias que aumenta positivamente con la exposición en aumento. Esta relación está presente aún con el ajuste estadístico para edad, años desde el reclutamiento, período calendario, raza y exposición a estireno. Es la opinión de OSHA que la identificación de una dosis-respuesta positiva en un estudio epidemiológico es una observación muy poderosa en términos de causalidad.

(iv) *Observación de Períodos Cortos de Latencia.* Los cortos períodos de latencia, i.e., tiempo desde la exposición inicial a BD y la muerte, fueron vistos en dos estudios epidemiológicos. En el estudio de NIOSH, tres de seis casos de leucemia tenían un período de latencia de tres a cuatro años. (Ex. 2-26) además, cinco de estos seis trabajadores fueron empleados antes de 1945. (Ex. 2-26)

En la actualización del estudio de Texaco, se vio un período de latencia de menos de 10 años en cuatro de 10 casos de linfoma no Hodgkin (linfosarcoma), y siete de estos trabajadores también estuvieron empleados durante el tiempo de guerra. (Ex. 34-4, Vol. III, H-1)

De acuerdo con el perito de OSHA, Dr. Dennis D. Weisenburger:

estos hallazgos son contrarios a la creencia aceptada de que, si un carcinógeno es activo en un ambiente, debe esperarse que los * * * SMRs sean más altos para los trabajadores a largo término que para los trabajadores a corto término (i.e., dosis acumulativas mayores). (Ex. 39, página 9)

Así, se ha argumentado que estos hallazgos parecen carecer de coherencia con lo que se conoce como historia natural y biología de los cánceres LH. (Ex. 113, A-40-42) Más aún, estos hallazgos han sido revisados como evidencia contra una asociación causal entre BD y estos cánceres LH. (Ex. 113, A-42)

En la opinión de OSHA, hay otras opiniones posibles para estas observaciones. Primero, según expresado por el Dr. Weisenburger, se ha hallado un período de latencia mediano de alrededor de siete años para leucemia en estudios de víctimas de bombas atómicas, pacientes de radioterapia y pacientes de quimioterapia que han recibido exposiciones de alta dosis a corto término. (Ex. 39) En contraste, el Dr. Weisenburger señala que una exposición de baja dosis a un carcinógeno ambiental, tal como benceno, tiene un período de latencia medio para leucemia de alrededor de 15-20 años. (Ex. 39) El concluye que las exposiciones de alta dosis a corto término pueden estar asociadas con un corto período de latencia, mientras que las exposiciones a largo término pueden estar asociadas con un largo período de latencia.

Segundo, la ocurrencia de largos períodos de latencia para mortalidad de cáncer LH en estos dos

estudios estuvo concentrada en los trabajadores empleados inicialmente durante los años del tiempo de guerra. Según previamente discutido, es posible que las exposiciones a BD durante los años del tiempo de guerra fuera mayor que en los años subsiguientes. (Ex. 39; Tr. 1/15/91, página 121)

El Dr. Weisenburger sugiere que "los cortos períodos de latencia para cáncer LH en estos estudios pueden ser explicados mediante las intensas exposiciones a BD durante un período de tiempo relativamente corto." (Ex. 39, p.10)

En su testimonio, el Dr. Landrigan, otro perito de OSHA, establece el punto de que "la duración del empleo es realmente una cruda sustitución de las exposiciones acumulativas en total, no una medida de exposición en si misma." (Tr. 1/15/91, página 121). En otras palabras, es posible que los trabajadores a corto término empleados durante los años del tiempo de guerra puedan actualmente haber tenido exposiciones a BD mayores que los trabajadores a largo término. (Tr. 1/15/91, pp.115-205). Al ser interexaminado, el Dr. Landrigan advirtió contra "asumir que la duración de la exposición se relaciona directamente con la exposición acumulativa." (Tr. 1/15/91, página 180) También declaró enfáticamente que un riesgo aumentado de cáncer en los trabajadores a corto término no sería inconsistente con una asociación causal. (Tr. 1/15/91, página 204)

(v) *El rol potencial de confundir las exposiciones y los resultados observados.* En los estudios epidemiológicos, "confundir" puede llevar a resultados inválidos. La confusión ocurre cuando hay una mezcla de efectos. Más específicamente, la confusión puede producir una situación donde una medida del efecto sobre una exposición sobre riesgo, e.g., SMR, RR están distorsionados debido a la asociación de la exposición con otros factores que influyen el resultado bajo estudio.

Por ejemplo, el IISPR ha sugerido que confundir las exposiciones de otro empleo fue responsable de los cánceres LH observados en los estudios de epidemiología de BD. (Ex. 113, A-43) Este argumento está basado sobre la pasada práctica de usar trabajadores de industria de la petroquímica, quienes también estuvieron expuestos a benceno, para comenzar las plantas de producción de SBR y BD. El IISRP halla apoyo para su posición en la observación de los elevados SMRs en los trabajadores a corto término empleados durante los años de tiempo de guerra, precisamente aquellos con mayor probabilidad de ser interempleados. (Ex. 113, A-43)

Sin embargo, hay un número de métodos de investigación en epidemiología ocupacional que están disponibles para controlar los factores confusores potenciales. Los métodos de investigación que eliminan el efecto de las variables confusoras incluyen: Pareo de casos y controles; ajuste de datos; y análisis de regresión. En el estudio de caso-control integrado, por ejemplo, los casos y los controles fueron pareados sobre variables que de otro modo pudieran haber confundido los resultados del estudio. En el testimonio provisto por Santos-Burgoa, el establece que "el esquema de pareo nos permitió controlar el potencial de confusores y concentrar sólo en la variación de exposición," (Ex. 40, página 12)

Sobre el interexamen, Landrigan también trató el rol potencial de las exposiciones confusoras y los resultados de estudio observados. Primero, él observó que el Dr. Phillip Cole, Profesor del Departamento de Epidemiología, Escuela de Salud Pública, Universidad de Alabama en Birmingham, uno de los críticos abiertos de la regla propuesta de OSHA, no halló evidencia para confusión en su revisión del estudio de Matanoski. (Tr. 1/15/91, página 178) Segundo, el Dr. Landrigan desechó la noción de exposición previa a benceno como el agente causante de los resultados observados en los trabajadores a corto término. (Tr. 1/15/91, página 178-179)

En sus análisis de patrones de mortalidad por exposición estimada a monómero, Delzel et al. usó regresión Poisson para controlar el potencial de factores confusores. (Ex. 117-1) Según previamente establecido, el análisis conducido para determinar la asociación entre BD y ppm-años y leucemia indicó una relación de dosis-respuesta positiva, aún después de controlar para ppm-años de estireno, edad, años desde el reclutamiento, período calendario y raza. En la opinión de los investigadores, la exposición a benceno no explica el exceso de riesgo de leucemia y el BD es el más probable agente causal. (Ex. 117-1, página 85)

(vi) *La base biológica para agrupar los cánceres LH relacionados.* Los estudios epidemiológicos que han examinado la asociación entre exposición ocupacional a BD y el exceso de mortalidad han agrupado los cánceres LH relacionados en su análisis. Este enfoque ha sido criticado como evidencia de una falta de "consistencia con respecto al tipo de célula", lo que "argumenta contra un agente etiológico común." (Ex. 113, A-45) En otras palabras, estos críticos sugieren que la relación entre BD y el exceso de mortalidad no cumple con el requisito de especificidad de asociación para una relación causal. Este requisito establece que la probabilidad de una relación causal está fortalecida cuando la exposición lleva a un efecto único, no a efectos múltiples y estos hallazgos también ocurren en otros estudios.

Más específicamente, OSHA ha sido criticada por su posición de que "amplias categorías, tales como 'leucemia' o 'todo LHC' deben ser usadas para evaluar los datos epidemiológicos." (Ex. 113, A-46) El Dr. Cole, por ejemplo, comentó que:

En un principio de la epidemiología - y de la investigación de enfermedad en general-que las entidades deben estar divididas tan finamente como sea posible para maximizar la posibilidad se ha delineado una entidad etiológica homogénea.. Las entidades pueden ser agrupadas para propósitos de investigación sólo cuando hay evidencia substancial de que comparten una etiología común. (Ex. 63, p.11)

Es la opinión del Dr. Coleman que los cánceres LH son "enfermedades distintas" con etiologías "heterogéneas y multifactoriales." (Ex. 63, página 47)

El Dr. Weisenburger, perito de OSHA en hematopatología, proveyó testimonio de lo contrario. (Ex. 39, pp. 7-8) De acuerdo con el Dr. Weisenburger, "LH (cáncer) no puede ser fácilmente agrupado en categorías 'etiológicas' ", ya que las etiologías y patogénesis precisas de LA (cáncer), no están bien comprendidas." (Ex. 39, página 7) En su opinión, debido a que los cánceres LA

"están relacionadas de cerca unas a otras y surgen de células comunes y/o células progenitoras, es válido agrupar los varios tipos de LA (cáncer), en categorías muy relacionadas para estudio epidemiológico." (Ex. 39. página 7)

El asunto de agrupar los cánceres LA para observar un efecto único también fue tratado por el Dr. Landrigan en su testimonio. (Tr. 1/15/91, pp. 131-133) El primer punto traído por el Dr. Landrigan es que las "categorías de diagnóstico [para cánceres LA] son imprecisas y * * * se traslapan." (Tr. 1/15/91, p.131) Por ejemplo, él explicó que en las prácticas clínicas, puede observarse las transiciones de los linfomas y mielomas a leucemias. En tal caso, un médico puede registrar las muertes como debidas a linfomas y otro puede listar leucemia como la causa de la muerte. (Tr. 1/15/91, p.131-132) además, el Dr. Landrigan testificó que "algunos pacientes con linfomas o mieloma múltiple pueden desarrollar subsiguientemente leucemia como resultado de sus tratamientos con radiación o drogas citotóxicas." (Tr. 1/15/91, página 132)

Estos registros de transición de enfermedad están además complicados por los cambios históricos que han ocurrido en la nomenclatura y la codificación de la International Classification of Disease (ICD). De acuerdo con el Dr. Landrigan:

ciertos linfomas y * * * leucemias, tales como leucemia linfática crónica son ahora consideradas por algunos investigadores * * * que representan diferentes expresiones clínicas del mismo proceso neoplástico. Ha habido recientes estudios inmunológicos y citogenéticos que indican que hay células de sostén que parecen tener la capacidad de desarrollarse variadamente a todas las varias clases de células hematopoyéticas, incluyendo linfocitos T, células de plasma, granulocitos, eritrocitos y monocitos. (Tr. 1/15/91, página 132)

El Dr. Landrigan resumió su testimonio sobre este asunto estableciendo que "estos tipos de células diferentes comparten un ancestro común * * * hay suficiente razón biológica para pensar que tengan factores etiológicos en común." (Tr. 1/15/91, pp. 132-133)

OSHA mantiene la opinión, la cual está bien apoyada por el expediente, de que hay base biológica y razón metodológica para agrupar los cánceres LA relacionados. Más aún, OSHA rechaza la crítica de que la observación de diferentes subtipos de cánceres LA argumenta contra la consistencia y especificidad de los hallazgos epidemiológicos.

(vii) *Relevancia de los análisis de los subgrupos de trabajo.* OSHA ha sido criticada por enfocarse sobre y enfatizar los "pocos resultados positivos" vistos en los resultados de los análisis de subgrupo de trabajadores. (Ex. 113, A-48) Se ha señalado, por ejemplo, que en la actualización del estudio de grupo Matanoski "que había cientos de SMRs computados en ese estudio y no es sorprendente que uno o dos o aún más serían hallados estadísticamente significativos aún cuando de hecho no esté pasando algo." (Tr. 1/22/91, página 1444) además, se ha sugerido que OSHA

ha ignorado los "resultados negativos claramente generales" de los estudios epidemiológicos. (Ex. 113, A-48)

OSHA está de acuerdo con la observación de que cuando se hace muchos análisis estadísticos en una base de datos, es posible que algunos resultados negativos puedan deberse al azar. Sin embargo, OSHA rechaza la crítica de que la Agencia se ha concentrado inapropiadamente sobre los resultados positivos y no ha considerado los resultados negativos. Es la opinión de OSHA que hay un patrón forzado de los resultados en los estudios epidemiológicos.

Más aún, una explicación razonable para el SMR elevado para los trabajadores de producción negros en la actualización del estudio de grupo Matanoski es que esta subserie de la población en la actualidad tuvo una fuerte exposición a BD. El apoyo a esta explicación puede hallarse en los resultados de estudio de higiene industrial de Fajen et al. (Ex. 34-4) En este caso, entonces, el riesgo de exceso de mortalidad puede ser concentrado en la pequeña subserie de trabajadores de otro modo saludables e inexpuestos que sería diluido cuando los análisis estén basados sobre el grupo entero que esté siendo estudiado. El único modo de observar el riesgo en la subserie más altamente expuesta sería analizar los datos por subgrupos de la población.

(viii) *Adecuación de las poblaciones de referencia seleccionadas.* OSHA también ha sido criticada por "ignorar el hecho de que la mayoría de los estudios epidemiológicos de los trabajadores expuestos a butadieno sólo usaron índices de mortalidad de cáncer para comparación con la mortalidad de los trabajadores." (Ex. 113, A-49) El significado de esta crítica está basado sobre la observación por Down de que el "uso de los índices de (mortalidad) local para (comparación) tendía a traer el SMR cerca de 100." (Ex. 17-33, p.14) Este hallazgo resulta de índices de cáncer a lo largo de la costa del Golfo de Texas, que son más altos que los índices nacionales. (Ex. 17-33) En otras palabras, se ha argumentado que los índices de comparación nacionales inflan artificialmente los SMRs, mientras que los índices locales proveen un cuadro más preciso de la experiencia de mortalidad de los trabajadores con exposición ocupacional a BD. (Ex. 113, A-50)

El Dr. Landrigan capturó la esencia de este asunto en su testimonio sobre interexamen:

Este es un debate perenne en epidemiología de sobre si el uso de índices de comparaciones locales o regionales o nacionales, y hay (sic) argumentos para los dos lados. (Tr. 1/15/91. página 154)

El presentó varios argumentos para usar los índices nacionales. Primero, los índices de mortalidad de los EEUU están basados sobre la población entera, de modo que son más estables. Segundo, los índices nacionales son más comúnmente usados, de modo que es más fácil comparar los resultados de los diferentes estudios.

De la otra mano, el argumento en favor del uso de los índices locales se centra sobre el hecho de

que la gente en un área local puede ser verdaderamente diferente de la población total o las poblaciones regionales. Así, comparar una subpoblación local con la población local entera puede proveer resultados más precisos. Sin embargo, la debilidad de este argumento fue resaltada por el Dr. Landrigan cuando dijo que:

* * * si hay factores que actúen sobre la población local, tal como contaminación ambiental, que pueda elevar los índices en el área local, entonces teóricamente al menos, se puede argüir que la población local está sobrepreada, demasiado similar a la población de empleados y que el uso del grupo de comparación nacional actualmente da un mejor reflejo de la realidad. (Tr. 1/15/91, página 155)

De hecho, continuó señalando que las plantas de BD han sido identificadas por la Environmental Protection Agency (EPA), como contaminadores principales del ambiente local con BD. (Tr. 1/15/91, página 155)

OSHA reconoce que hay pros y contras a ambos enfoques de la selección de la población de referencia. Sin embargo, en el estudio por Delzell et al., los datos de mortalidad del subgrupo de el grupo de EEUU fueron analizados usando varios índices de poblaciones estatales, i.e., local, general e índices de la población general (Ex. 117-1) Según previamente establecido, hubo poca diferencia en el patrón de estos análisis. (Ex. 117-1, página 60) Además, el estudio de caso control integrado de Santos-Burgoa usó el grupo de comparación más apropiado de todos: Aquellos empleados en las mismas facilidades. (Ex. 23-109 y 34-4, Vol. III, H-4) Así, dados los datos disponibles en el expediente, OSHA es de la opinión de que no puede ignorar los hallazgos de exceso de mortalidad que están basados sobre los índices de comparación nacional.

(ix) *Sumario y conclusiones.* (a) *Sumario.* La Tabla V-4 listan los criterios que pueden ser usados para juzgar la presencia de una asociación causal entre la exposición ocupacional a BD y cáncer del sistema hematopoyético. Cuando los resultados de estudio epidemiológico son examinados de esta manera, hay fuerte evidencia de causalidad. Los datos llenan todos los criterios listados: Relación temporal; consistencia; fuerza de asociación; relación dosis-respuesta; especificidad de relación; admisibilidad biológica; y coherencia.

En su testimonio el perito epidemiólogo de OSHA estuvo de acuerdo en que hay "evidencia definitiva para el hecho de que la exposición ocupacional a 1,3-Butadieno puede causar cáncer humano de los órganos hematopoyético y linfáticos." (Tr. 1/15/91, página 133) El Dr. Weisenburger, perito de OSHA en hematopatología, también concluyó que "sería prudente tratar el BD como si fuera un carcinógeno humano." (Ex. 39, p.11)

Tabla V-4 Evidencia de que el 1,3-Butadieno es un carcinógeno humano

Criterio para causalidad	Cumplido por BD
Relación temporal.....	Si.
Consistencia.....	Si.
Relación dosis-respuesta.....	Si.
Especificidad de asociación.....	Si.
Admisibilidad biológica.....	Si.
Coherencia.....	Si.

(b) *Conclusión.* Sobre las bases del análisis precedente, OSHA concluye que hay fuerte evidencia de que la exposición de lugar de trabajo a BD presenta un riesgo aumentado de muerte debido a cánceres del sistema linfo hematopoyético. Los hallazgos epidemiológicos suplementan los hallazgos de los estudios animales que demuestran una dosis-respuesta para tumores múltiples y particularmente para linfomas en ratones expuestos a BD.

C. Efectos reproductores

Además de los efectos carcinogénicos establecidos de la exposición a BD, varios informes han llevado la preocupación sobre los efectos reproductores y desarrolladores potenciales de la exposición a BD. El término efectos reproductores se refiere a aquellos sobre los sistemas reproductores femenino y masculino y el término desarrollador se refiere a los efectos sobre el feto en desarrollo.

La toxicidad reproductora masculina es generalmente definida como la ocurrencia de efectos adversos sobre el sistema reproductor masculino que pudiera resultar de la exposición a agentes químicos, biológicos o físicos. La toxicidad puede ser expresada como alteraciones a los órganos reproductores masculinos y/o el sistema endocrino asociado. Por ejemplo, las exposiciones tóxicas pueden interferir con la espermatogénesis (la producción de esperma), resultando en efectos adversos sobre el número, morfología o función del esperma. Esto puede afectar adversamente la fertilidad.

Los machos humanos producen esperma desde la pubertad por el resto de la vida y así el riesgo de espermatogénesis alterada es de preocupación para la toda la vida adulta del hombre.

La toxicidad reproductora femenina es generalmente definida como la ocurrencia de efectos adversos sobre el sistema reproductor femenino que pudieran resultar de la exposición a agentes químicos, biológicos o físicos. Esto incluye efectos adversos en el comportamiento sexual, el

comienzo de la pubertad, ovulación, ciclo menstrual, fertilidad, gestación, partos (nacimiento del feto), lactancia o envejecimiento reproductor prematuro.

La toxicidad desarrolladora está definida como efectos adversos en el organismo en desarrollo que pudiera resultar de la exposición a antes de la concepción (cualquiera de los padres), durante el desarrollo prenatal o postnatalmente al tiempo de la maduración sexual. Los efectos desarrolladores inducidos por la exposición antes de la concepción pueden ocurrir, por ejemplo, cuando las mutaciones son químicamente inducidas en el espermatozoides. Si el espermatozoides mutado fertiliza un óvulo, los efectos desarrolladores adversos pueden ser manifestados en los fetos en desarrollo. Las mutaciones también pueden ser inducidas en los óvulos. Las principales mutaciones de toxicidad del desarrollo incluyen la muerte del feto en desarrollo, anomalía estructural, crecimiento alterado y deficiencia funcional.

Para determinar si una condición de exposición presenta un riesgo reproductor o desarrollador, hay dos categorías de estudios de investigación sobre los cuales basarse: Epidemiológicos, o estudios humanos, y toxicológicos, o estudios experimentales de los animales expuestos u otros sistemas biológicos.

Muchos resultados, tales como la pérdida embrionaria temprana o el aborto espontáneo no son fácilmente detectables en las poblaciones humanas. Más aún, algunos efectos adversos pueden ser muy raros y requieren poblaciones de estudio muy grandes, para tener el poder estadístico adecuado para detectar un efecto, si de hecho hay uno presente. Con frecuencia, estas poblaciones no están disponibles para estudio. Además, hay muchos resultados que pueden ser fácilmente medidos en humanos, según comparado a animales de laboratorio. No hay estudios humanos disponibles para tratar los efectos reproductores y desarrolladores de la exposición a BD a los trabajadores. Así, la evidencia sobre la toxicidad reproductora y desarrolladora del BD viene de los estudios toxicológicos realizados usando principalmente ratones.

Los estudios con animales han resultado útiles para estudiar los resultados reproductores/desarrolladores para predecir el riesgo en humanos. Una ventaja muy importante del enfoque toxicológico es la capacidad del experimentador para cuantificar completamente la concentración y condiciones de la exposición. Aunque la extrapolación de los riesgos humanos sobre una base cuantitativa está aceptada, la extrapolación cuantitativa de los resultados de estudio es más compleja. Esto incluye los efectos adversos en el comportamiento sexual, el comienzo de la pubertad, ovulación, ciclo menstrual, fertilidad, gestación, parto (nacimiento del feto), lactancia o envejecimiento reproductor prematuro (envejecimiento).

La toxicidad desarrolladora está definida como efectos adversos sobre el organismo en desarrollo que pudiera resultar de la exposición antes de la concepción (cualquiera de los padres), durante el desarrollo prenatal, o postnatalmente al tiempo de la maduración sexual. Los efectos desarrolladores inducidos por la exposición antes de la concepción pueden ocurrir, por ejemplo,

cuando las mutaciones son químicamente inducidas en el esperma. Si el esperma mutado fertiliza el óvulo, los efectos desarrolladores adversos pueden manifestarse en los fetos en desarrollo. Las mutaciones también pueden ser inducidas en los óvulos. Las principales manifestaciones del desarrollo de toxicidad incluyen la muerte del feto en desarrollo, la anormalidad estructural, el crecimiento alterado y la deficiencia funcional.

Para determinar si una condición de exposición presenta un riesgo de desarrollo o reproductor, hay dos categorías de estudios de investigación sobre los cuales basarse: Epidemiológicos o estudios de humanos y toxicológicos, o estudios experimentales de animales expuestos u otros sistemas biológicos.

Muchos resultados, tales como la pérdida embrionaria temprana o los abortos espontáneos no son necesariamente detectables en poblaciones humanas. Más aún, algunos efectos adversos pueden ser muy raros y requerir poblaciones de estudio muy grandes para tener el poder estadístico adecuado para detectar un efecto, si en efecto estuviera presente. Con frecuencia, estas poblaciones no están disponibles para estudio. Además, hay muy pocos resultados que puedan ser factiblemente medidos en humanos, comparado con los animales de laboratorio. Por ejemplo, la pérdida embrionaria temprana es difícil de medir en el estudio de humanos, pero puede ser medida en animales experimentales. No hay estudios de humanos disponibles para tratar los efectos reproductores y del desarrollo de la exposición a BD de los trabajadores. Así, la evidencia sobre la toxicidad reproductora y del desarrollo del BD viene de los estudios toxicológicos realizados usando principalmente ratones.

Los estudios con animales fueron útiles para estudiar los resultados reproductores y desarrolladores para predecir los riesgos humanos. Una ventaja importante al enfoque toxicológico es la capacidad del experimentador de cuantificar completamente la concentración y condiciones de la exposición. Aunque la extrapolación del riesgo a humanos sobre bases cualitativas está aceptada, la extrapolación cuantitativa de los resultados de estudio es más compleja.

En su testimonio, el perito de OSHA, Dr. Marvin Legator, un toxicólogo genético internacionalmente reconocido de la University of Texas Medical Branch en Galveston, advirtió que al evaluar el riesgo "los humanos en general han resultado ser mucho más sensibles que los animales * * * a agentes caracterizados como tóxicos desarrolladores." (Ex. 72) También señaló "de los 21 agentes considerados ser directamente toxinas desarrolladoras humana en 19 * * * se ha mostrado que los humanos son más sensibles que los animales * * * " También señaló que la posibilidad de los subgrupos de la población humana puede ser aún más altamente sensible que la población promedio.

OSHA cree que los estudios de inhalación con animales diseñados para determinar el efecto del BD sobre la reproducción y el desarrollo de estos animales indicó que el BD causa efectos

adversos sobre los sistemas reproductores de los animales machos y hembras y produce efectos desarrolladores adversos. Estos estudios están brevemente resumidos y discutidos a continuación.

Toxicidad a los órganos reproductores.

En el primer bioensayo de NTP, se observó una incidencia aumentada de atrofia testicular en los ratones machos expuestos a concentraciones atmosféricas de BD de 625 ppm. (Ex. 23-1) En ratones hembra, se observó una incidencia aumentada de atrofia ovárica a 625 y 1,250 ppm. Estos efectos adversos fueron confirmados en informes del segundo estudio de NTP, que usó concentraciones más bajas de exposición. Este último bioensayo vitalicio expuso a los ratones machos y hembras B3C6F1 a 0, 6.25, 20, 62.5, 200 y 625 ppm de BD. (Ex. 114, página 115) Véase la Tabla V-5. La atrofia testicular en machos fue significativamente aumentada en la dosis más alta probada, 625 ppm, y se observó pérdida de peso testicular de exposiciones de 200 ppm de BD. (Ex. 96) Estos últimos datos no están mostrados en la Tabla. En los ratones hembras, al sacrificio terminal, 103 semanas, la atrofia ovárica fue significativamente aumentada en todos los niveles de exposición, incluyendo la dosis más baja probada, 6.25 ppm, comparado con los controles. La evidencia de toxicidad ovárica también fue vista entre los sacrificios durante el estudio, pero en estos casos fue el resultado de más altos niveles de exposición. Después de 65 semanas de exposición, 90% de los ratones expuestos a 62.5 ppm experimentaron atrofia ovárica.

Tabla V-5 Atrofia ovárica y testicular en ratones expuestos a BD

Lesión	Semanas de exposición	Concentración de exposición (ppm)					
		0	6,25	20	62,5	200	62
		Incidencia (%)					
Atrofia testicular	4,06510e + 13	0/10(0) 0/10(0) 1/50(2) 0/10(0) 0/10(0)	NE NE 3/50(6) NE 0/10(0)	NE NE 4/50(8) NE 1/10(10)	NE NE 2/48(4) 0/10(0) 9/19(90)	0/10(0) 0/10(0) 6/49(12) 9/10(90) 7/10(70)	6/10(60) 4/7(57) 53/72(74) 8/8(100) 2/2(100)
Atrofia ovárica		4/49(8)	19/49(39)	32/48(67)	42/50(84)	43/50(86)	69/79(87)

NE, no examinados microscópicamente

Fuente: Ex. 114.

Se recibió comentario extenso sobre la atrofia ovárica inducida por BD de la Dra. Mildred Christian, una toxicóloga que ofreció testimonio de parte de la Chemical Manufacturers Association. Ella cuestionó la relevancia de usar los datos de los estudios con ratones para extrapolar los riesgos de atrofia ovárica a humanos, porque la mayor parte de la evidencia fue observada entre animales que fueron sacrificados después de completarse la vida reproductora de la especie y sólo después de prolongada exposición a 6.25 ppm y 20 ppm. (Ex. 118-13, Att 3, p.4) De la otra mano, los Drs. Melnick y Huff, toxicólogos del National Institute of

Environmental Health Sciences declaró que: "Aunque la atrofia ovárica en el grupo de 6.25 ppm no fue observado hasta tarde en el estudio, cuando probablemente existía la senectud reproductora, los datos de dosis-respuesta claramente establecen el ovario como un órgano blanco de la toxicidad del 1,3 butadieno en concentraciones tan bajas como 6.25 ppm, la concentración más baja estudiada." (Ex. 114, p.116) Además, debe señalarse que una elevada incidencia de atrofia ovárica fue observada en períodos de sacrificio intermedios de ratones hembras expuestos a 20 ppm que tuvieron lugar en el período de 65 semanas de exposición, un tiempo antes de las edades donde se esperaba que ocurriera la senectud. NIOSH también aceptó el punto de vista del Dr. Melnick de que los ratones expuestos a 6.25 ppm de BD demostraron atrofia ovárica. (Ex. 32-35) OSHA sigue preocupada por la atrofia ovárica demostrada a bajos niveles de exposición en el estudio NTP. Así, OSHA concluye que la exposición a niveles relativamente bajos de BD resultaron en la inducción de atrofia ovárica en ratones.

Estudio de morfología de cabeza de esperma

Los investigadores de NTP/Battelle también describieron hallazgos de morfología de cabeza de esperma usando ratones B6C3F₁ expuestos según descrito en el estudio letal dominante descrito mencionado a continuación, e.g., exposiciones a 200, 1000 y 5000 ppm de BD. Los ratones fueron sacrificados en la quinta semana postexposición y examinados para lesiones mayores del sistema reproductor. (Ex. 23-75) Los autores del estudio seleccionaron este intervalo como que tenía mayor probabilidad de detectar anomalías del esperma. Las suspensiones espermáticas epididimales fueron examinadas para morfología. El porcentaje de cabezas de esperma morfológicamente anormales fue significativamente aumentado en los ratones expuestos a 1,000 ppm y 5,000ppm, pero no para los expuestos a 200 ppm. Los autores del estudio concluyeron que "estas diferencias significativas en los porcentajes de anomalías entre los ratones de control y los machos expuestos a 1000 y 5000 ppm [BD] indicaron que espermatogonia tardía o espermatocitos tempranos eran sensibles a estos químicos." (Ex. 23-75, p.16)

Al revisar este estudio, la Dra. Mildred Christian declaró que estos resultados no estaban necesariamente correlacionados con las anomalías desarrolladoras o la fertilidad reducida y son "de naturaleza reversible" y que las diferencias observadas son "biológicamente insignificantes." (Ex. 76, página 14) En sus submisiones, el Departamento de Servicios de Salud de California dijo: "No puede hacerse una conclusión en relación a las consecuencias reproductoras de estas anomalías de este estudio." (Ex. 32-168) Al revisar los comentarios de la Dra. Christian, OSHA está de acuerdo en que la observación de un exceso significativo de anomalías de cabezas de esperma como resultado de la exposición a BD no está necesariamente correlacionado con el desarrollo de fetos anormales o fertilidad reducida; sin embargo, el estudio Anderson, el cual no evaluó la anomalía fetal ni la fertilidad reducida, demostró un exceso significativo de anomalía fetal y mortalidad fetal temprana y tardía como resultado de la exposición de los ratones machos a BD. (Ex. 117-1, Página 171) Estas observaciones de mortalidad fetal pueden ocurrir solamente como resultado de un efecto adverso

sobre el espermatozoide. En respuesta al comentario de la Dra. Christian de que la anomalía de la cabeza de espermatozoide observada en el estudio es reversible, la reversibilidad dependería del cese de la exposición. Ya que los trabajadores pueden estar expuestos a BD diariamente, el significado de la reversibilidad puede ser discutible.

Toxicidad desarrolladora

Estudios Letales Dominantes

Un estudio letal dominante fue conducido por Battelle/NTP para evaluar los efectos de exposición de cinco días de ratones CD-1 machos a concentraciones de BD atmosférico de 0, 200, 1,000 y 5,000 ppm de BD por seis horas al día sobre la capacidad reproductora de los machos expuestos durante un período de postexposición de los machos expuestos. (Ex. 23-74) Si estaban presentes, los efectos letales dominantes están expresados ya sea como una disminución en la incidencia de muerte intrauterina, o ambos en las hembras apareadas con los machos expuestos. La letalidad dominante se piensa que surja de las mutaciones letales en la línea de células germinales que están predominantemente expresadas mediante la mortalidad de la prole. En este estudio, la única evidencia de toxicidad al ratón macho adulto fue transitoria y ocurrió durante un período de 20 a 30 minutos siguiente a la exposición a 5000 ppm. Los machos fueron luego apareados a una hembra distinta semanalmente por ocho semanas. Después de 12 días, se mató a las hembras y se las examinó para el status reproductor. Los úteros fueron examinados para número, posición y status de implantación. Las hembras apareadas a los machos expuestos a BD durante las primeras dos semanas postexposición fueron descritas como con mayor probabilidad que los animales de control de tener números aumentados de implantaciones muertas por preñez.

Para la semana uno, el porcentaje de implantaciones muertas en las camadas engendradas por los machos expuestos a 1,000 ppm fue significativamente más alta que los controles. Hubo aumentos menores a 200 ppm y 1000 ppm que no fueron estadísticamente significativos. El porcentaje de las hembras con dos o más implantaciones muertas fue significativamente más alto que el valor de control para todos los tres grupos expuestos. Para la semana dos, los números de implantaciones muertas por preñez en las camadas engendradas por los machos expuestos a 200 ppm y 1000 ppm también estuvieron significativamente aumentadas, pero no para aquellos expuestos a 5000 ppm. No se observó aumentos significativos en los puntos finales evaluados en las semanas tres a la ocho. Estos resultados sugieren a los autores que las células más maduras (espermatozoides y espermáticas), pueden ser adversamente alteradas por la exposición a BD. (Ex. 23-74)

El Departamento de Servicios de Salud del estado de California concluyó que el estudio antes mencionado no mostraba efectos adversos de la exposición BD, con la posible excepción del aumento en muerte intrauterina vista como resultado de las exposiciones de los machos a 1000 ppm de BD. (Ex. 32-16) Ya que los valores para el grupo de exposición de 5000 ppm no fueron significativamente elevadas para este mismo período de seguimiento, el Departamento de Salud

pensó que el significado biológico de los resultados de la exposición a 1000 ppm eran cuestionables. (Ex. 32-16) Ya que los valores del grupo de exposición a 5000ppm no estaban significativamente elevada para este mismo período de seguimiento, el California Department of Health pensó que el significado biológico de los resultados de la exposición a 1000 ppm era cuestionable. (Ex. 32-16) De la otra mano, el Dr. Marvin Legator recalcó la baja sensibilidad del ensayo letal dominante el cual, pensó él, se debía a la letalidad de punto final. Expresó la opinión de que los estudios eran "consistentes con un efecto sobre las células germinales maduras." (Ex. 72) El pensó que ya que había un efecto observable en este ensayo relativamente insensitivo, que sólo se observaba la "punta del iceberg" y que "el daño genético transmisible, desplegado en un espectro de resultados anormales puede ser anticipado en concentraciones (de BD) bajo aquellas identificadas en el procedimiento de ensayo letal dominante." (Ex. 72, p.17)

El efecto letal dominante de la exposición a BD fue más recientemente confirmado por Anderson et al. en 1993. (Ex. 117-1, página 171) Estudiaron ratones CD-1 usando un diseño de estudio algo modificado. Se usó dos regímenes de exposición. En el primero, "estudio agudo" los ratones machos fueron expuestos a 0 (n=25), 1250 (n=25), o 6250 (n=50) ppm BD por seis horas solamente. Cinco días más tarde fueron enjaulados con dos hembras no expuestas. Se permitió que una hembra pariera su camada y se mató a la otra a los 17 días de gestación y se examinó el número de fetos vivos, número de muertes tempranas y tardías postimplantación y el tipo de cualquier deformidad mayor. Los autores declararon que el sacrificio el 17mo día (en vez de los 12 a 15 días regulares), permitió el examen de los embriones casi a término para supervivencia y anormalidades. El número medio de los implantes por hembra fue reducido comparado con los controles en ambas concentraciones de BD, pero fue estadísticamente significativo sólo a 1250 ppm. Ninguna pérdida postimplante ni anormalidad fetal estuvo significativamente aumentada en ninguna concentración Los autores concluyeron que "una única exposición aguda de seis horas a butadieno era insuficiente para obtener un efecto letal." (Ex. 117-1, página 171)

En la segunda fase del estudio, el "estudio subcrónico", se expuso ratones CD-1 a 0 (n=25), 12.5 (n=25), 12.5 (n=25) o 1250 (n=50) ppm BD por seis horas por día, cinco días a la semana, por 10 semanas. Luego fueron apareados. La exposición más alta a 1250 ppm de BD resultó en números significativamente reducidos de implantaciones y en números significativamente aumentados de mutaciones letales dominantes expresadas como muertes tanto tempranas como tardías. Véase la Tabla V-6. Las mutaciones no letales expresadas como anormalidades de nacimiento fueron observadas en los fetos vivos (3/312; 1 hidrocefalia y 2 enanos)

La exposición más baja (12.5 ppm), no resultó en disminuciones en el número total de implantes, ni en el de muertes tempranas; sin embargo, las frecuencias de las muertes tardías y anormalidades fetales (7/282; 3 exencefalias en una camada y una en otra, dos enanos y uno con sangre en el saco amniótico) fueron significativamente aumentadas.

Los autores pensaron que su hallazgo de muertes tardías aumentadas y anomalías fetales en una exposición baja subcrónica de 12.5 ppm fue el principal nuevo hallazgo del estudio. Ellos señalaron estos efectos adversos a la salud fueron aumentados de dos a tres veces durante los controles históricos. Al evaluar estos últimos dos estudios, OSHA señala que aunque no había efecto demostrable sobre la letalidad dominante como un resultado de una exposición única a 1250 ppm de BD, la exposición subcrónica a 12.5 ppm, la más baja dosis probada, resultó en la inducción de mutaciones letales dominantes y quizá mutaciones no letales. (Ex. 117-1, p.171) OSHA tiene algunas reservas sobre si las anomalías fetales observadas en el estudio "subcrónico" de

Anderson et al. fueron actualmente causadas por mutaciones no letales o por algunas mutaciones no letales o por otros mecanismos porque fueron observados en sólo unas cuantas de las camadas producidas por el ratón. (Ex. 117-1, p.171)

Tabla V-6.- Efecto del BD sobre los resultados reproductores en ratones CD-1

	Implantaciones		Muertes tempranas		Muertes tardías		Muertes tardías, fetos muertos inclusive		Fetos anormales	
	Núm.	Media	Núm.	Media _s	Núm.	Media _s	Núm.	Media _s	Núm.	Media _s
Control.....	3e+08	12.09±1.276	131687	0.050±0.0597	76		287	0.007±0.222	0	
12.5.....		12.75±2.507		0.053±0.0581		0.23**±0.038		0.026±0.0424	^b 7	0.024 [±] ±0.062
1250 ppm.....		10.68**±3.103		0.204***±0.161		0.014***±0.0324		0.016±0.339	^c 3	0.011***±0.043≤

* Significativamente diferente del control en: *p≤0.05; ** p≤0.01; *** p≤0.001 (mediante análisis de variación y prueba de menor significado sobre los datos de transformación "arc-sine")

^a Por implantación

^b Cuatro exencefalías (tres en una camada), dos enanos (≤70% y 60% del peso medio de cuerpo de los otros de la camada; total de tamaños de camada camada 7 y 9, respectivamente un feto con sangre en el saco amniótico, pero ninguna deformidad mayor visible (significado de la diferencia no alterado si se excluye este feto).

^c Una hidrocefalia, dos enanos (71% y 75% del peso medio de cuerpo en otros de la camada; total de tamaños de camada; 2 y 11, respectivamente).

Adler et al. también llevó a cabo una prueba letal dominante (Ex. 126) Macho (102/E1XC3H/E1)F₁ ratones machos fueron expuestos a 0 y 1300 ppm de BD. Fueron apareados cuatro horas después de la exposición después de terminar la exposición con hembras vírgenes no tratadas. La hembras fueron examinadas para la presencia tapón vaginal cada mañana. Las hembras tapadas fueron cambiadas por otras. El apareamiento continuó por cuatro semanas consecutivas. En los días 14 y 16 de la preñez se mató a las hembras y el contenido de los úteros fue evaluado para los implantes vivos y muertos. La exposición de los ratones machos a 1300 ppm BD causó un aumento de implantes muertos durante la primera a la tercera semana de apareamiento después de cinco días de exposición. El índice de implantación muerta fue significativamente diferente de los controles concurrentes, sólo durante la segunda semana de apareamiento. Adler et al. concluyó que las mutaciones letales dominantes fueron inducidas por el BD en los espermatozoides y las espermáticas de etapa tardía y que estos hallazgos confirmaron los resultados del estudio de Battelle/NTP, que mostró efectos sobre las mismas etapas de desarrollo del esperma. (Ex. 23-74) Los autores fueron de la opinión de que el BD puede inducir

translocaciones heredables de estas etapas de las células germinales.

El estudio reproductor más temprano informado sobre BD fue conducido por Carpenter et al. en 1944. (Ex. 23-64) En este estudio, las ratas hembras y machos fueron expuestos mediante inhalación a 600, 2,300 o 6,700 ppm BD, 7.5 horas al día, seis días a la semana por un período de ocho meses. Aunque este estudio no estaba específicamente diseñado como un estudio reproductor, la fertilidad y el número de la progenie fue registrado. No se señaló efectos significativos debidos a la exposición a BD para el número de camadas por animal hembra, ni para el número de crías en la camada.

En el estudio Hazelton ratas Sprague-Dawley (SD) fueron expuestas mediante inhalación a 0, 200, 1,000 o 8,000 ppm de BD en los días 6 al 15 de la gestación. (Ex. 2-32) Hubo efectos relacionados con dosis sobre el aumento de peso materno, el peso medio fetal y la longitud de la corona a los cuartos traseros. La pérdida postimplante fue ligeramente más alta que en todos los grupos expuestos a BD. Además, hubo aumentos significativos en hematomas en las crías en los grupos de exposición a 200 y 1000 ppm. En el grupo de exposición de 8,000 ppm, un número significativamente aumentado de crías tenían opacidades del lente y había un número aumentado de opacidades por animal. De acuerdo con los autores, los grupos de exposición más altos también tenían números significativamente aumentados de fetos con variaciones esqueléticas, una alta incidencia de centros torácicos bipartitas, incidencia elevada de osificación incompleta del esternón, incidencia más alta de osificación irregular de las costillas y "otras anomalías del cráneo, la espina, huesos largos y costillas." Los autores concluyeron que la respuesta fetal no fue indicio de un efecto teratogénico, sino el resultado de toxicidad materna.

En el estudio Battelle/NTP, las ratas Sprague-Dawley (SD) preñadas y las ratonas suizas preñadas fueron expuestas a 0, 40, 200 o 1,000 ppm de BD por seis horas por día desde el día sexto al 15to de la gestación. (Ex. 23-72) Los animales fueron sacrificados y examinados un día antes del parto esperado. En las ratas, se notó poco efecto: en el grupo de exposición a 1,000 ppm sólo hubo evidencia de toxicidad materna, i.e., ganancias de peso corporal deprimidas durante los primeros cinco días de exposición. No se observó evidencia de toxicidad del desarrollo en las ratas SD evaluadas en el estudio, e.g., el número de fetos vivos por camada y el número de muertes intrauterinas estaban dentro de los límites normales.

En el ratón, la exposición a las concentraciones antes mencionadas no resultaron en una toxicidad materna significativa, con la excepción de la reducción en la ganancia de peso extragestral para las hembras expuestas a 200 y 1000 ppm de BD. En los ratones hembras hubo una significativa depresión del peso del cuerpo fetal sólo en los niveles de exposición de 200 y 1,000 ppm. El peso de cuerpo fetal para las crías machos fue reducido en todas las concentraciones de exposición, incluyendo el nivel de exposición de 40 ppm, aunque la evidencia de toxicidad materna no fue observada en esta concentración de exposición. No se señaló diferencias significativas en la incidencia de deformidades entre los grupos. Sin embargo, la incidencia de costillas

supernumerarias y osificación reducida del esternón embrionario fue significativamente aumentada en las camadas de ratones expuestos a 200 y 1,000 ppm de BD.

Al revisar estos datos, los Drs. Melnick y Huff señalaron que ya que la ganancia de peso del cuerpo materno fue reducida en los niveles de exposición de 200 y 1000 ppm y los pesos corporales de los fetos machos fueron reducidos en los niveles de exposición de 40, 200 y 1000 "el feto macho es más susceptible que la hembra al 1,3 butadieno inhalado." (Ex. 114, página 116) Declararon además que "los resultados del estudio en ratones revela que un efecto tóxico del 1,3 butadieno era manifestado en el organismo en desarrollo en ausencia de toxicidad materna." Sobre las bases de este estudio, los autores concluyeron que el "1,3-butadieno no parece ser teratogénico en las ratas ni en los ratones, pero hay algún indicio de fetotoxicidad en el ratón." (Ex. 23-72)

De la otra mano, la Dra. Mildred Christian fue de la opinión de que la disminución significativa en la ganancia de peso del cuerpo fetal en los machos no fue un efecto selectivo del BD sobre el concepto, sino más bien un resultado de los análisis estadísticos usados, los cuales ella consideró inapropiados. (Ex. 118-13, Att. 3, página 6) También fue de la opinión de que las camadas más grandes en el grupo de exposición a 40 ppm según comparado con el grupo de control contribuyó al hallazgo estadístico. La Dra. Christian, sin embargo, no presentó información específica alguna sobre el tipo de análisis usado para las pruebas estadísticas que ella pensó que hacían los resultados inapropiados. En general, se esperaría que la evaluación de los datos de los tamaños de camadas mayores darían mayor confianza en los hallazgos estadísticos.

Al revisar el mismo estudio, el estado de California, Departamento de Servicios de Salud, fue más cauto. Declaró que: "La incidencia aumentada de la osificación reducida y las reducciones en peso fetal en ausencia de toxicidad materna aparente en los grupos de 40 y 200 ppm es evidencia de fetotoxicidad * * * en los ratones suizos (CD-1)." Después de revisar los resultados del estudio y los argumentos sobre el estudio, OSHA concluyó que el estudio NTP provee evidencia de fetotoxicidad en el ratón. (Ex. 23-72)

Prueba de mancha de ratón

Adler et al. (1994), condujo una prueba de mancha en ratones. (Ex. 126) La prueba de mancha es un método *in vivo* para detectar mutaciones de células somáticas. Una mutación en un melanoblasto es detectada como una mancha de color en la piel de otro modo negra de progeñe. Las hembras preñadas fueron expuestas a 0 o 500 ppm de BD por seis horas por día en los días 8, 9, 10, 11 y 12 de la preñez. Se les permitió llegar a término y destetar a las crías. Las crías fueron inspeccionadas para manchas de color en la piel a las edades de dos y tres semanas. Las anomalías mayores también fueron registradas. La exposición a una concentración de 500 ppm no causó embriotoxicidad, ni se observó anomalías mayores. La exposición a BD, sin embargo, aumentó significativamente la frecuencia de las manchas de color en la piel de las crías. Este estudio demuestra que la exposición a BD es capaz de causar mutaciones de células somáticas

transplacentalmente inducida que puede resultar en un efecto teratogénico en ratones.

Sumario del efecto reproductor y del desarrollo

OSHA ha limitado su discusión sobre los riesgos reproductores y del desarrollo a una evaluación cualitativa de los datos. Este enfoque fue escogido porque no se presentó un modelo matemático generalmente aceptado para estimar el riesgo reproductor/desarrollador sobre una base cuantitativa durante la reglamentación. Por ejemplo, el panel CMA Butadiene estuvo en desacuerdo con los hallazgos de OSHA en la propuesta en relación al potencial de riesgos reproductores y desarrolladores presentados por la exposición a BD usando un enfoque de factor incierto. (Veáse Ex. 112) Ellos citaron la conclusión de la Dra. Christian de que el ratón posee una "sensitividad especial" al BD y no debe usarse como un modelo sobre el cual basar los estimados de riesgo.

La agencia ha determinado, sin embargo, que los estudios en animales, tomados como un entero, ofrecen evidencia cualitativa persuasiva de que la exposición a BD puede afectar adversamente a la reproducción en ambos roedores machos y hembras. La Agencia también señala que el BD es mutagénico en las células somáticas y germinales. (Ex. 23-71; Ex. 114; Ex.126)

Alguna evidencia de toxicidad materna y desarrolladora fue vista en las ratas expuestas a BD, pero las concentraciones usadas fueron mucho más altas que aquellas que obtienen una respuesta del ratón. (Ex. 118-13, Att. 3, página 2) En ratones, la evidencia de fetotoxicidad fue observada en la presencia o ausencia de toxicidad materna, esta última evidencia provista por la disminución del peso de cuerpo fetal en los ratones machos cuyas madres fueron expuestas a 40 ppm de BD, la dosis más baja probada en el estudio. Además, se observó un efecto teratogénico en ratones (prueba de mancha de color en la piel), como resultado de una mutación de célula somática inducida transplacentalmente.

OSHA también está preocupada sobre la observación de un exceso significativo de anomalías de cabezas de espermatozoides como resultado de la exposición a BD, aunque esta expresión de toxicidad no está necesariamente correlacionada con el desarrollo de fetos anormales o de fertilidad reducida. El estudio Anderson, que evaluó la fertilidad reducida y la anomalía fetal, demostraron un exceso significativo de mortalidad fetal temprana y tardía y quizá anomalía fetal como resultado exposición de BD a ratones machos. (Ex. 117-1, Página 171) Estas observaciones podrían solamente ocurrir como resultado de un efecto adverso sobre el espermatozoides. Dos estudios adicionales también proveen evidencia de la letalidad dominante como resultado de la exposición de los machos a BD. (Ex. 23-74; Ex. 126) La observación de las células germinales está apoyada por la evidencia adicional de genotoxicidad en células somáticas, tal como está demostrado por los resultados positivos en las pruebas de micronúcleo y en la prueba de mancha de ratón. (Ex. 126)

Algunos de los efectos adversos relacionados a la toxicidad reproductora y desarrolladora en el

ratón, e.g., atrofia ovárica, atrofia testicular, peso testicular reducido, cabezas de esperma anormales, efectos letales dominantes, fueron reconocidos por la Dra. Christian, pero instó a la Agencia a confiar sobre estos hallazgos debido a los resultados de estudio negativos en otras especies, o debido a que los hallazgos positivos en otras especies requería niveles de exposición mucho más altos. (Ex. 118-13, Att. 3, p.1)

Por ejemplo, un perito de CMA ha argumentado que el diepóxido es responsable de la atrofia ovárica observada en relación a la exposición a bajo nivel de BD (6.25 ppm). (Ex. 118-13, Att.3) Sin embargo, el monoepóxido también puede representar un papel en la atrofia ovárica y la evidencia indica que los humanos pueden formar el monoepóxido de BD y que los humanos pueden tener enzimas presentes que pudieran causar la conversión a diepóxido. Por lo tanto, sobre bases cualitativas, la observación de atrofia ovárica en el ratón es significativa según el punto de vista de OSHA. Además, los factores metabólicos relacionados con la atrofia testicular, esperma deformada y mutaciones letales dominantes en el ratón no son conocidos. (Véase la sección sobre los estudios metabólicos *in vitro*.) Estas observaciones apoyan además los hallazgos en ratones como significativos para humanos sobre una base cuantitativa. La prueba de mancha de ratón que demuestra una mutación de célula somática que lleva a un efecto teratogénico inconsistente con los datos que muestran la capacidad del BD para causar efectos adversos sobre los cromosomas y las mutaciones *hprt* en humanos expuestos a BD.

OSHA también señala que los estudios de los trabajadores expuestos a bajas concentraciones de BD demostraron un exceso significativo de rotura cromosomal y la incapacidad de reparar daño al ADN. Así, la exposición a BD parece ser capaz de inducir daño genético en humanos como resultado de exposición de bajo nivel. Por lo tanto, los estudios de ratón que demostraron daño genético en humanos como resultado de la exposición de bajo nivel. Por lo tanto, los estudios de ratón que demuestran daño genético (mutaciones), en las células somáticas y gérminales parece ser mejor modelo sobre las bases cualitativas que la rata para predecir estos efectos adversos en humanos.

D. Otros estudios relevantes

1. Riesgos agudos

A muy altas concentraciones, el BD produce narcosis con depresión del sistema nervioso central y parálisis respiratoria. (Ex. 2-11) Los valores LC₅₀ (la concentración que produce la muerte en 50% de los animales expuestos), fueron informados ser 122,170 ppm (12.2% v/v), en ratones expuestos por cuatro horas. (Ex. 2-11, 23-91) Estas concentraciones presentarían un riesgo de explosión, limitando así la probabilidad de que los humanos arriesguen cualquier explosión tal excepto en situaciones de emergencia extrema. Se ha informado valores LD₅₀ orales (dosis oral que resulta en la muerte de 50% de los animales) de 5.5 g/kg de peso de cuerpo para ratas y 3.2 g/kg de peso de cuerpo para ratones. (Ex. 23-31) Estos efectos letales ocurren a dosis tan altas

que el BD no sería considerado "tóxico" para propósitos del Apéndice A de la Norma de Comunicación de Riesgos de OSHA (29 CFR 1910.1200), el cual describe un esquema de clasificación para la toxicidad aguda basada sobre datos de letalidad.

En concentraciones algo sobre el nivel de exposición permisible previo de 1,000 ppm, el BD es un irritante sensorial. Las concentraciones de varios miles de ppm se informó que causan irritación a la piel, ojos y garganta. (Ex. 23-64, 23-94) Dos sujetos humanos expuestos a BD por ocho horas a 8,000 ppm informaron irritación de los ojos, visión empañada, tos y mareos. (Ex. 23-64)

2. Efectos sistémicos

En el preámbulo a la propuesta, OSHA revisó la literatura para discernir los efectos sistémicos de la exposición a BD. (55 FR 32736 at 32755) OSHA discutió una revisión de IARC que examinaba brevemente varios estudios de la antigua Unión Soviética. En estos estudios, varios efectos adversos, tales como desórdenes hematológicos, agrandamiento del hígado y enfermedad hepática y del conducto biliar, disfunciones renales, laringotraqueitis, irritación del tracto respiratorio superior, conjuntivitis, gastritis, varios desórdenes de la piel y una variedad de síntomas neurasténicos, fueron adscritos a la exposición ocupacional a BD. (Ex. 23-31) OSHA y IARC han hallados que estos estudios son de uso limitado principalmente debido a su falta de información sobre exposición. Excepto para los efectos de irritación sensorial y los cambios hematológicos, la evidencia de los estudios de otros grupos expuestos ha fallado en confirmar estas informaciones.

Melnick y Huff resume los efectos no neoplásticos observados de la exposición a BD en los bioensayos de ratones NTP I y NTP II. Ellos listaron los siguientes efectos asociados con la exposición de ratones B6C3F¹ a BD por seis horas al día por cinco días a la semana por hasta 65 semanas:

* * * la hiperplasia epitelial del "forestomach", hiperplasia endotelial del corazón, hiperplasia epitelial alveolar, necrosis hepatocelular, atrofia testicular, atrofia ovárica y lesiones tóxicas en el tejido nasal (inflamación crónica, fibrosis, metaplasia ósea y cartilaginosa y atrofia del epitelio olfatorio). (Ex. 114, p. 114)

Ellos señalaron que las lesiones nasales se vieron sólo en el grupo de ratones machos expuestos a 1,250 ppm de BD y que no se observó tumores en este sitio. Además, Melnick y Huff sugirieron que algunas lesiones proliferadoras observadas en el bioensayo pudieran representar cambios pre-neoplástico.

Los hallazgos de atrofia testicular y ovárico están discutidos más completamente en la sección de Efectos Reproductores de este preámbulo.

La nefropatía, o degeneración de los riñones, fue el más común de los efectos no carcinogénicos

informados para las ratas machos en el estudio Hazelton Laboratory Europe (HLE) en el cual las ratas estaban expuestas a 1000 o 8000 ppm de BD por seis horas, cinco días por semana por hasta dos años. La nefropatía fue una de las principales causas de muerte para los machos de alta dosis. (Ex. 2-31, 23-84) La incidencia combinada de nefropatía marcada o combinada fue significativamente elevada en el grupo de alta dosis sobre la incidencia en el grupo de baja dosis y sobre la incidencia en los controles ($p < .001$). El análisis de HLE de nefropatías "ciertamente fatales" muestra una tendencia de dosis-respuesta significativa ($p < .05$), pero cuando se incluyó casos "inciertamente fatales", la tendencia desapareció.

Los autores del estudio HLE concluyeron que la interpretación de los datos de incidencia de nefropatía fue equívoca. Ellos declararon que "un aumento en la prevalencia de grados más severos de nefropatía, un cambio común en el riñón relacionado con la edad, fue considerado más probable como un efecto secundario asociado con otros factores desconocidos y que no representa un efecto citotóxico del artículo de prueba del riñón."

Al revisar el estudio de ratas de HLE para la regla propuesta, OSHA expresó preocupación de que sólo 75% de las ratas machos de baja dosis en el estudio HLE exhibieron nefropatía, mientras que 87% de las ratas de control tuvieron algún grado de nefropatía, sugiriendo que las ratas machos de baja dosis eran menos susceptibles a la degeneración del riñón que las ratas de control, disminuyendo así la comparabilidad entre ratas en los grupos de baja dosis y control. (55 FR 32736 at 32744) El Dr. Robert K. Hinderer, testificando para el CMA BD Panel, contradujo que el estudio de ratón NTP 1 también hubiera "seleccionado casos donde la respuesta en el grupo de prueba (fuera) más baja que en los controles" y que " * * * uno no puede mirar a respuestas de un sitio único o de unos cuantos individuos para evaluar el status de salud o el efecto general de un químico." (Ex. 51) OSHA está de acuerdo en que puede haber alguna variabilidad en los índices de respuesta de trasfondo para resultados específicos. Sin embargo, la Agencia cree que es importante evaluar el impacto de la variabilidad en los índices de respuesta de trasfondo al llegar a conclusiones sobre tendencias relacionadas con dosis en los datos. Esto no fue hecho en el análisis de nefrología del estudio HLE.

Otros efectos no carcinogénicos observados en el estudio de ratas HLE fueron la incidencia elevada de metaplasia en el pulmón y de las ratas machos de alta dosis al sacrificio terminal, según comparado con la incidencia en los controles machos al sacrificio terminal y un aumento significativo en los pesos de los riñones, corazón, pulmones y páncreas de las ratas machos sobre los pesos de los órganos en las ratas de control machos.

3. Defectos de la médula ósea

Hay un único estudio de humanos expuestos a BD discutido en la propuesta-un estudio por Checkoway y Williams que examinó 163 trabajadores de producción por hora que fueron empleados en la facilidad SBR estudiada por McMichael et al., (descrito más detalladamente en la

Sección de Epidemiología de este Preámbulo.) (Ex. 23-4, 2-28).

La exposición a BD, estireno, benceno y tolueno fue medida en todas las áreas de la planta, las concentraciones de BD y estireno, 20 (0.5-65) ppm y 13.7 (0.14-53) ppm, respectivamente, fueron considerablemente más altas que en la Granja de Tanques que en otros departamentos. En contraste, las exposiciones a benceno, promediando 0.03 ppm, y las concentraciones de tolueno, promediando 0.53 ppm, fueron bajas en la Granja de Tanques. Los autores compararon los perfiles hematológicos de los trabajadores de la Granja de Tanques (n=8) con aquellos de otros trabajadores examinados.

La investigación enfocó sobre dos efectos potenciales, depresión de la médula ósea e inmadurez celular. La depresión de la médula ósea fue sospechada si había niveles bajos de eritrocitos, hemoglobina, neutrofilos y plaquetas. La inmadurez fue sugerida por el aumento en reticulocitos y valores de forma de banda de neutrofilo.

Aunque las diferencias fueron pequeñas, ajustadas para edad y status médico, los parámetros hematológicos en los trabajadores de la Granja de Tanques difirieron de aquellos de otros trabajadores. Excepto para el conteo total de leucocitos, los perfiles hematológicos de los trabajadores de Granja de Tanques fueron consistentes con un indicio de depresión de médula ósea. Los trabajadores de Granja de Tanques también tuvieron aumentos en neutrofilos de banda, una posible señal de inmadurez celular, pero ninguna evidencia de destrucción aumentada de reticulocitos fue la causa.

Aunque reconociendo las limitaciones del diseño de corte transversal del estudio, los autores pensaron, no obstante, que sus resultados eran "sugestivos de posibles efectos biológicos, las "cuyas últimas consecuencias clínicas no son fácilmente aparentes." OSHA halla cualquier evidencia de cambios hematológicos en los trabajadores expuestos a niveles de BD muy por debajo de los límites permisibles existentes (1000 ppm), ser de preocupación, ya que tal información sugiere la inadecuación del límite de exposición presente. Sin embargo, este estudio de corte trasnversal envolvía sólo a ocho trabajadores con niveles relativamente altos de exposición a benceno, de modo que es muy insensible a los cambios menores en los parámetros hematológicos.

En una revisión de los estudios relacionados con BD, publicado en 1986, un Grupo de Trabajo de IARC pensó que el estudio de Checkoway y Williams no pudieron ser considerados indicadores de un efecto de BD sobre la médula ósea (Ex. 2-28). En 1992, IARC concluyó que los "cambios no pueden ser interpretados como un efecto de 1,3-butadieno sobre la médula ósea particularmente ya que el insumo de alcohol no fue evaluado." (Ex. 125, p. 262)

A la luz de los más recientes studios de animales que no estuvieron disponibles a IARC, sin embargo, OSHA cree que la médula ósea es un blanco de la toxicidad de BD a 20 ppm indica que tales mediciones pueden resultar un indicio sensible de exposición excesiva a BD.

En testimonio para el CMA BD Panel, el Dr. Michael Bird declaró su conclusión de las diferencias hematológicas entre los ocho trabajadores de granja de tanques y el grupo de trabajadores de menos exposición no fue "estadísticamente significativo mediante las estadísticas convencionales usuales." (Tr. 1/18/1991, p. 1078) El creyó que aunque los datos brutos no estaban disponibles, las medias informadas estuvieron dentro del alcance histórico y esperado para estos parámetros. (Tr. 1/18/1991, p., 1078) En contraste, OSHA concluye de este estudio que las diferencias hematológicas observadas en los trabajadores expuestos a BD, aunque pequeños, son sugestivos de un efecto de BD sobre la médula ósea bajo condiciones de exposición ocupacional.

Así, OSHA considera el estudio de Checkoway y Williams como sugestivos de efectos hematológicos en humanos, pero no lo considera como definitivo. Ningunos otros efectos sistémicos potenciales de la exposición a BD en esta población fueron discutidos en el estudio de Checkoway y Williams.

En 1992, Melnick y Huff revisaron los estudios toxicológicos de la exposición a BD en animales de laboratorio. (Ex. 114) Sólo se observó efectos ligeros no sistémicos en un estudio temprano de ratas, conejillos de India, conejos y perros expuestos a BD hasta 6,700 ppm diario por ocho meses. (Ex. 23-64) El estudio de ratas Sprague-Dawley expuestas a dosis de BD de hasta 8,000 ppm diariamente por 13 semanas tampoco resultó en efectos hematológicos, bioquímicos, neuromusculares ni urinarios. Sin embargo, hubo efectos marcados vistos en los ratones expuestos.

Los estudios epidemiológicos de la industria de goma de estireno-butadieno (SBR) sugiere que los trabajadores expuestos a BD están en riesgo aumentado de desarrollar leucemia o linfoma, dos formas de malignidad hematológica (véase la sección del preámbulo sobre epidemiología). Consecuentemente, los investigadores han buscado evidencia de toxicidad hematopoyética resultante de exposición a BD en animales y en trabajadores. Por ejemplo, Irons y sus colaboradores en CET hallaron que la exposición de ratones B6C3F₁ a 1,250 ppm de BD por de 6 a 24 semanas resultó en anemia megaloblástica macrocítica, un aumento en micronucleos de eritrocitos y leucopenia, principalmente debida neutropenia. Los tipos de células de médula ósea en general no fueron alterados, pero hubo un aumento en el número de células en la médula ósea de los ratones expuestos debido a un aumento en la síntesis de DNA. (Ex. 23-12)

Melnick y Huff también revisaron la información disponible sobre la toxicidad en médula ósea. (Ex. 114, p. 114) La Tabla V-7 representa los hallazgos informados de un estudio de 10 ratones B6C3F₁ sacrificados después de la exposición a 6.25-625 ppm de BD por 40 semanas. Los autores concluyeron que estos datos demostraron una disminución dependiente de concentración en el número de células rojas, concentración de hemoglobina y volumen de células rojas comprimidas a niveles de exposición a BD de 62.5 a 625 ppm de BD. Los efectos no fueron observados a niveles

de exposición de 6.25 y 20 ppm. Melnick y Kohn también señalaron el aumento en el volumen corpuscular medio en ratones expuestos a 625 ppm y sugirieron que esta y otras observaciones (tales como las de Tice (Ex. 32-38D), quienes observaron una disminución en el número de células divisoras en ratones e índice disminuido de su división), sugirieron que la exposición a BD llevó a la supresión de hematopoyesis en la médula ósea. Melnick y Huff concluyeron que, a su vez, llevó a la liberación de grandes células inmaduras de sitios tales como el páncreas, lo que se consideró indicio de anemia megaloblástica macrocítica por Irons. Ellos concluyeron que estos hallazgos "(establecen) la médula ósea como un blanco de la toxicidad del 1,3-butadieno en ratones." (Ex. 114, p.115)

Tabla I.-Cambios hematológicos en los ratones B6C3F₁ machos expuestos por seis horas/día, cinco días/semana por 40 semanas.

Exposición a BD (ppm)	Contaje de células rojas (x10 ⁶ /ul)	Concentración de hemoglobina (g/d)	Volumen de RBC comprimido (ml/dl)	Volumen corpuscular medio
0.....	10.4±0.3	16.5±0.4	48.1±1.5	46.3±0.8
6.25.....	10.3±0.3	16.4±0.5	47.8±1.7	46.4±1.0
20.....	10.4±0.4	16.7±0.7	48.2±2.2	46.3±0.8
62.5.....	^a 9.9±0.5	^a 15.9±0.6	^a 45.9±2.1	46.7±1.2
200.....	^a 9.6±0.5	^a 15.6±0.9	^a 45.4±2.7	47.2±1.0
625.....	^a 7.6±1.2	^a 13.5±1.8	^a 39.9±5.3	^a 53.2±2.9

Adaptado de Melnick y Huff, Exhibit 114.

¹ Diferente de control de cámara (0 ppm), P<0.05. Los resultados de los grupos tratados fueron comparados a los de los grupos de control usando la prueba t de Dunnett.

4. Mutagenicidad y otros efectos genotóxicos

OSHA discutió los efectos genotóxicos de la exposición a BD en algún detalle en la propuesta. (55 FR 32736 a 32760) Brevemente, el BD es mutagénico a las cepas de *Salmonella typhimurium* TA1530 y TA 1535 al ser activadas con una fracción de hígado de ratas tratadas con fenobarbital o Arochlor 1254. Estas cepas bacteriales son sensibles a mutágenos de sustitución par-base. Ya que se requiere la fracción de hígado para obtener la respuesta mutagénica positiva, el BD no es un agente mutágeno de acción directa y probablemente deba ser metabolizado a una forma activa antes de convertirse en mutagénico en este sistema de prueba. IARC publicó una lista extensa de "efectos genéticos y relacionados del 1,3-butadieno." (Ex. 125) Ellos señalaron al resumir los datos que el BD negativo en pruebas para mutaciones somáticas y recombinación en *Drosophila* y que ni el hígado de ratón ni de rata de los animales expuestos a 10,000 ppm de BD mostraron evidencia de síntesis de ADN no programada.

Según OSHA describió en en la regla propuesta, y Tice et al. informaron en 1987, el BD es un agente genotóxico potente *in vivo* en las células de la médula ósea de los ratones que induce a aberraciones cromosomales e intercambio de cromátida similar en las células de la médula ósea y micronúcleos en las células rojas periferal. (55 FR 52736 at 52760) Algunos de estos efectos

fueron evidentes en las exposiciones tan bajas como 6.25 ppm (seis horas/día, 10 días). Sin embargo, no se observó efectos similares en las células de las ratas expuestas a altos niveles de BD (10,000 ppm por dos días).

El intercambio de cromátidas hermanas es un evento de recombinación en el cual el ácido nucléico es intercambiado entre dos cromátidas hermanas en cada cromosoma. Se piensa que resulte de roturas o cortes en el ADN. Irons et al. describió los micronúcleos como " * * * fragmentos de cromosomas o cromosomas que restan como resultado de un efecto no disyuntor. Su presencia en la circulación es frecuentemente asociada con anemia megaloblástica." (Ex. 23-12).

En un estudio subsiguiente, Filser y Bolt expusieron a ratones B6C3F₁ a las mismas tres concentraciones de BD, 6.25, 62.5 o 625 por seis horas/día, cinco días a la semana por 13 semanas. (Ex. 23-10) Se tomó muestras de sangre periferal de 10 animales por grupo y se valorizó para eritrocitos policromáticos (PCE) y eritrocitos normocromáticos micronucleados (MN-NCE). La respuesta MN-NCE, la cual refleja una respuesta acumulada, estuvo significativamente aumentada en ambos sexos en todas las concentraciones de BD, 6.25 ppm inclusive.

Ciertos metabolitos de BD también producen efectos genotóxicos. Estos están detallados en un número de revisiones (véase, por ejemplo, Ex. 114, 125). Brevemente, el epoxibuteno (el monoepóxido), es mutagénico en sistemas bacteriales en ausencia de activación metabólica exógena. El epoxibuteno también reacciona con ADN, produciendo dos aducciones estructuralmente idénticas y se ha mostrado que induce el intercambio de cromáticas hermanas en las células ováricas de los cricetos chinos y en la médula ósea de los ratones *in vivo*.

IARC en su revisión concluyó que el diepóxido, 1,2,3,4-diepoxibutano, indujo a enlaces cruzados en hepatocitos de ratón y como el epoxibuteno, es mutagénico sin activación metabólica. Según discutido a continuación, el diepóxido de BD también indujo a SCE y aberraciones cromosomales en las células cultivadas.

Un estudio de sección transversal humana que envolvía a un número limitado de trabajadores en una planta de BD en Texas indicó efectos genotóxicos. (Ex. 118-2D) Los linfocitos periferales fueron cultivados de 10 trabajadores no fumadores y de controles pareados por edad y género que trabajaron en un área de muy baja exposición a BD (0.03 ppm). Las áreas de producción en la planta tenían una exposición media de 3.5 ppm de BD, con los trabajadores más expuestos en la muestra experimentando una exposición de aproximadamente 1 ppm de BD.

Se realizó avalúos estándar para aberraciones cromosomales y un avalúo de confirmación de irradiación gamma que fue diseñado para detectar deficiencias de reparación de ADN. Los resultados del avalúo estándar indicaron que el grupo expuesto tenía una frecuencia más alta de células con aberraciones de cromosoma y roturas cromosomales comparado con el grupo de

control. Esta diferencia no fue estadísticamente significativa. En el avalúo de confirmación, el grupo expuesto tenía una frecuencia significativamente aumentada de células aberrantes, roturas de cromátidas, dicéntricas (cromosomas con dos centrómeros), y una frecuencia más alta marginalmente significativa de eliminaciones cromosomales que los controles. Au y sus colaboradores concluyeron que las células expuestas a BD con probabilidad tienen mayor dificultad en reparar el daño inducido por radiación. (Ex. 118-2D)

Para determinar el potencial mutagénico de ambos BD y sus tres epóxidos metabolitos, Cochrane y Skopek estudiaron los efectos en las células linfoblastoides humanas (TK6) y en las células pancreáticas T de los ratones B6C3F₁. (Ex. 117-2, p. 195) Las células TK fueron expuestas por 24 horas a epoxibuteno (0-400 uM), 3, 4-epoxi-1, 2 butadienol (0-800 uM), o diepoxibutano (0-6 uM). Todos los metabolitos fueron mutagénicos en ambos *hprt* (hipoxantina-guanina fosforibosil transferasa), y *tk* (timidina kinasa) loci, con el diepoxibutano activo en concentraciones 100 veces más bajas que el epoxibuteno o epoxibutadienol.

Ellos también estudiaron ratones expuestos a 625 ppm de BD por dos semanas y hallaron un aumento triple en frecuencia de mutación *hprt* en las células T del bazo comparado con los controles. También tuvieron la intención de dar dosis IP diarias de epoxibutano (60, 80 or 100mg/kg) o diepoxibutano (7, 14 o 21 mg/kg) en días alternos por tres días. Sin embargo, sólo los animales a los cuales se dio la dosis más baja de diepóxido recibieron tres dosis debido a letalidad. Después de dos semanas de tiempo de expresión, las células fueron aisladas para determinación de frecuencia de mutación. Ambos regímenes de exposición resultaron en frecuencia de mutación aumentada. Por ejemplo, en la más alta exposición a epoxibuteno, la frecuencia de mutación promedio fue 8.6×10^6 , mientras que el grupo expuesto a diepóxido tenía una frecuencia de 13×10^6 , comparada a un control de frecuencia de mutación de 1.2×10^6 .

Cochrane y Shopek usaron electroforesis de gelatina de gradiente desnaturizador para estudiar la naturaleza de las mutaciones *hprt* de las células T del bazo en el ADN. Ellos hallaron que alrededor de la mitad eran mutaciones estructurales. También se describió un lugar crítico potencial en el cual una mutación estructural de más uno (+1), en una serie de seis bases de guanina fue observado en cuatro de los ratones expuestos a BD, en cuatro ratones expuestos a epoxibuteno y en dos ratones expuestos a diepóxido. Ellos observaron sustituciones de pares de bases G:C y A:T en el grupo tratado con epóxido; sin embargo, similar a los hallazgos de Recio, et al. (descrito anteriormente), las sustituciones de A:T fueron observadas sólo en el grupo tratado con BD. Los autores no ofrecieron una hipótesis para esta observación. Estos investigadores también señalaron una relación significativa de dicéntricos con la presencia de un metabolito de BD (1,2-dihidroxi-4-(N-acetyl-cysteinyl-S)butano), en la orina de los trabajadores expuestos. Ellos concluyeron subsiguientemente que :

Este estudio indica que los trabajadores tenían efectos mutagénicos inducidos por la exposición. Junto con la observación de la mutación de genes en una subserie de la población, este estudio indica que la exposición ocupacional

actual a butadieno puede no ser segura para los trabajadores. (Ex. 118-2D)

Un sumario por Hallberg sometido a la Environmental Mutagenesis Society describe un ensayo de reacción de célula-huésped en la cual los linfocitos interactuados con un plasmidio con un gen de referencia con transferasa acetil cloramfenicol (CAT), fueron retados para reparar el plasmidio dañado y reactivar el gene CAT. No se notó efecto entre las células de los trabajadores expuestos a 0.3 ppm de benceno; sin embargo, los trabajadores expuestos a BD (exposición media 3 ppm) tuvieron capacidad de reparación de ADN significativamente reducida ($p=0.001$). Los autores creyeron que este hallazgo confirmó el defecto de reparación de ADN debido a la exposición a BD observado en el ensayo de estudio de Au et al. (Ex. 118-2D)

Ward y sus colaboradores informaron los resultados de un estudio preliminar para determinar si un biomarcador para exposición a BD y un biomarcador para el efecto genético de BD pudieran ser detectados en los trabajadores expuestos a BD. (Ex. 118-12A) El biomarcador para exposición fue la excreción de un metabolito urinario de BD, (1,2-dihidroxi-4-(n-acetilcisteinil-S)butano. El biomarcador genético fue la frecuencia de los linfocitos que contenían mutaciones en locus de hipoxantina-guanina fosforibosil transferasa (*hprt*). Los sujetos de estudio incluyeron a 20 sujetos de una planta de producción de BD y 9 de la universidad de los autores; todos eran no fumadores verificados. Siete trabajadores estaban en áreas o en trabajos que eran "considerados con probabilidad de exponerlos a niveles más altos de butadieno que en otras partes de la planta." Diez trabajaban en áreas donde la probabilidad de exposición a BD era baja. Diez trabajadores en areas donde la probabilidad de exposición a BD era baja. Tres empleados "variables" trabajaban en ambos tipos de trabajos o áreas. Los avalúos de *hprt* de 6 de los 7 del grupo de alta exposición y 5 de los 6 grupos no expuestos fueron completados al tiempo del informe. Se usó muestreo de aire para estimar la exposición. En el área de producción, la media fue aproximadamente 3.5 ppm, con la mayoría de las muestras bajo 1 ppm. En el área de control central (baja exposición), la media fue 0.03 ppm. La frecuencia de los linfocitos mutantes en el grupo de alta exposición comparado con el grupo de baja o no exposición fue significativamente aumentada. Los grupos de baja y no expuestos no fueron significativamente diferentes de otras frecuencias de mutación.

Similarmente, la concentración del metabolito de BD en orina fue significativamente mayor en el grupo de alta exposición que en los grupos de exposición más baja o no expuestos. Hubo una fuerte correlación entre los sujetos efectos entre el nivel del metabolito en orina y la frecuencia de los mutantes *hprt* ($r=0.85$). (Ex. 118-2A)

Otro estudio de humanos para efectos citogénicos potenciales de la exposición a BD fue informado recientemente por Sorsa et al., en el cual se sustrajo sangre periferal de 40 trabajadores de facilidad de producción de BD y de 30 controles elegidos de otros departamentos de las mismas plantas, pareados aproximadamente para edad y hábitos de fumar. (Ex. 124) Las aberraciones de cromosomas, micronúcleos e intercambio de cromátidas hermanas fueron analizadas. No se vio efectos relacionados con exposición en ninguno de los extremos citogenéticos. La exposición

característica informada fue 3 ppm. (Ex. 124)

Entre el número limitado de estudios humanos que envuelven a trabajadores expuestos a BD está el de Osterman-Golker, que evaluó la formación aductora posexposición en la hemoglobina de ratones, ratas y un pequeño número de trabajadores. (Ex. 117-2, p.127) Los ratones y ratas fueron expuestos a 0, 2, 10 o 100 ppm por seis horas por día, cinco días a la semana por cuatro semanas y su sangre fue probada para la presencia y cantidad del metabolito 1,2-epoxibuteno, formando un acercamiento con la valina N-terminal de la hemoglobina. El resultado fue una respuesta lineal para ratones a 2, 10 y 100 ppm; y para ratas a 2 y 10 ppm, con el grupo de dosis de 100 ppm desviado de la linealidad. Además, aunque el nivel de aducción por gramo de hemoglobina en las ratas ppm fue alrededor de cuatro veces más bajo que el nivel observado en ratones expuestos a 100 ppm de BD, en las exposiciones más bajas, los niveles de aducción fueron similares.

En la porción del estudio que trata de los efectos en humanos, la sangre fue tomada de cuatro trabajadores en dos áreas de una planta de producción química con exposición conocida a BD, y cinco trabajadores de área de no producción, donde las concentraciones a BD eran bajas. En el área de exposición más alta, la exposición media a BD era alrededor de 3.5 ppm, según determinado por el muestreo ambiental. Las áreas de baja exposición tenían un nivel de BD medio de alrededor de 0.03 ppm. En el nivel de un mol de aducto por gramo de hemoglobina, los niveles de aducto en los trabajadores más expuestos a BD fueron 70 a 100 veces más bajas que los de las ratas o ratones expuestos al nivel de 2 ppm discutido anteriormente. Los trabajadores de producción tuvieron niveles de aducto que variaron de 1.1 a 2.6 pmol/g globina. La mayoría de los controles en el estudio estuvieron bajo el nivel de detección del avalúo (0.5 pmol aducto/g globin). (Dos fuertes fumadores informados de un estudio previo tuvieron niveles de aducto más alto que los no fumadores; sus niveles se acercaron a los observados en los trabajadores expuestos a BD y fueron consistentes con la cantidad de BD en el humo en la tendencia principal.)

Albretch et al. informaron resultados similares para ratas y ratones expuestos a BD. (Ex. 117-2, p. 135) En este estudio que expuso a los roedores a 0, 50, 200, 500 o 1300 ppm por seis horas/día, por cinco días consecutivos, los niveles de aducto monoepóxido de BD en la hemoglobina de los ratones fueron alrededor de cinco veces el de la rata en la mayoría de las concentraciones de exposición a BD. Los humanos no fueron estudiados en este informe.

Otra observación pertinente a citogenéticos humanos con implicaciones potencialmente importantes para enfermedad humana inducida por BD está contenida en un informe por Wiencke y Kelsey.

(Ex. 117-2, p. 265) Estos investigadores estudiaron el impacto del metabolito de BD, dipoxibutano, exposición sobre frecuencias de intercambio de cromátidas hermanas (SCE) en varios grupos de cultivos de células sanguíneas humanas (n=173 trabajadores saludables). Ellos descubrieron que las poblaciones de estudio estaban bimodalmente distribuidas de acuerdo a su

sensitividad de inducción de SCEs cuando los cultivos fueron expuestos a 6 uM de diepoxibutano. Wiencke y Kelsey informaron que ellos habían observado en estudios anteriores que la "deficiencia genética de la glutanione S-transferasa tipo u lleva a inducción bimodal de SCEs a través de substratos de epóxidos de la isozima" y las células de los individuos con la deficiencia tenían alcances de inducción de SCE que eran significativamente más altos que los observados en la población general. (Ex. 117-2, p. 271) Aproximadamente 20% de los grupos probados fueron sensibles a la inducción de SCE y el 80% restante fue relativamente insensible.¹ Las pruebas subsiguientes indicaron que la población sensible también era sensible a la inducción de aberraciones cromosomales por diepoxibutano con aumentos significativos en las frecuencias de eliminaciones de cromátida, eliminaciones de isocromátida, intercambios de cromátida y aberraciones totales. La relevancia de estos hallazgos aún no está clara; sin embargo, pueden indicar que ciertas subseries de la población son más altamente susceptibles a los efectos de este metabolito mutagénico de BD.

Recio et al. usaron ratones transgénicos que contenían un vector de enlace con un gen lac 1 recubrible para estudiar la mutagenicidad *in vivo* de BD y el espectro de las mutaciones producidas en varios tejidos. (Ex. 118-7D) Los ratones fueron expuestos a 62.5, 625 o 1250 ppm de BD por cuatro semanas (cinco días/semana, seis horas/día). Los investigadores extrajeron ADN de la médula ósea y determinaron mutagenicidad en el transgene lac 1.

El ADN mutante fue secuenciado. Se observó mutagenicidad dependiente de dosis-hasta un aumento triple sobre los controles de aire-entre los ratones expuestos a 625 o 1250 ppm. Aunque se señaló un número de diferencias en patrones, el más notorio fue que el análisis de secuencia indicaba un aumento en la frecuencia de mutaciones punto *in vivo* inducidas por la exposición a BD en los pares base de adenina y timina (A:T) siguiente a la inhalación.

En estudios subsiguientes de ratones transgénicos expuestos a BD, Sisk y sus colaboradores expusieron a ratones B6C3F₁ a 62.5, 625 o 1250 ppm de BD por cuatro semanas (seis horas/día, seis días/semana). (Ex. 118-7Q) Las células de médula ósea fueron aisladas y la frecuencia y espectro de mutación evaluadas. Las frecuencias de mutación lac 1 fueron significativamente aumentadas en todos los tres niveles de exposición y fueron respondedores de dosis en los ratones expuestos a 62.5 y 625 ppm de BD, comparado con los controles. Un plató en las frecuencias de mutación fue observado en los ratones expuestos a 1250 ppm de BD, indicando quizá saturación o pérdida mutante debidas a los efectos de exposición a alto nivel.

Cuando los mutantes fueron secuenciados, varios de los mismos animales se halló que tenían mutaciones idénticas. Aunque pudieran haber surgido independientemente, Sisk et al. pensaron que esto era debido a la expansión clonal de una célula de médula ósea con un gen lac 1 mutado.

Al igual que Recio et al., Sisk et al. observaron una frecuencia más alta de mutaciones en los sitios A:T del ADN de los ratones expuestos, comparado con los controles. Las transiciones A:T

a G:C comprendieron sólo 2% de las mutaciones de trasfondo, pero constituyeron sólo 15% de aquellos en los ratones expuestos.

Sisk et al. concluyeron que su observación pareada con estudios *in vitro* " * * * sugirieron que el BD puede mutar las células hematopoyéticas." (Ex. 118-7Q, p. 476)

Según discutido en la sección de carcinogenicidad animal en este preámbulo, los tumores de los ratones inducidos por BD se ha hallado que tiene protooncógenos. Específicamente, el oncógeno K-ras es activado y es el oncógeno más comúnmente detectado en humanos. (Ex. 129)

OSHA concluye que el BD es mutagénico en una hueste de pruebas que muestran mutaciones de punto y estructura, mutaciones *hprt*, rotura cromosomal y SECs en animales y humanos. Los datos sugieren que los ratones son más susceptibles que las ratas a estas alteraciones. Además, ciertas subseries de la población humana puede ser más susceptible a los efectos de la exposición a BD que otros (basado sobre el estudio Wiencke y Kelsey de cultivos de células sanguíneas humanas, Ex. 117-2, p. 265). OSHA señala que además que con preocupación el hecho de que los datos sugieren que la exposición a BD a niveles relativamente bajos afectan adversamente a los mecanismos de reparación del ADN en humanos y está asociado con efectos mutacionales.

5. Metabolismo

Los estudios de genotoxicidad *in vitro* han mostrado que el BD es mutagénico sólo después de ser metabólicamente activado. La biotransformación es probablemente también importante a la carcinogenicidad de este gas. Y se piensa que la formación de epóxidos, específicamente epoxibuteno, también llamado "monoepóxido" y 1, 2:3, 4-diepoxibutano, llamado el "diepóxido", está requerido para la actividad y que la reacción está mediada² por el citocromo P450. Ambos el mono y diepóxido son mutagénicos en el ensayo de Salmonella, con el diepóxido más activo. Los epóxidos reactivos pueden ligar al ADN y la formación de aductos de ADN se hipotetiza que inicie una serie de eventos que lleve a la malignidad.

Según descrito anteriormente, para la mayoría de los sitios de cáncer, los ratones son más sensibles a los efectos carcinogénicos del BD que las ratas. Se ha emprendido estudios del metabolismo del BD en el intento de delucidar las contribuciones de los factores dosis-métrica para las diferencias observadas en la carcinogenicidad entre las especies.

Mucha de la investigación en esta área ha sido realizada en el Chemical Industry Institute of Toxicology y en laboratorios alemanes. El trabajo sobre el metabolismo de BD fue descrito por OSHA en la propuesta 1990. (55 FR 32736 at 32756) OSHA revisó la literatura actual en el expediente y concluyó:

1. El índice de metabolismo de BD en ratones es aproximadamente el doble que en ratas;
2. Los ratones acumulan más equivalentes de BD radiomarcados en una exposición de seis horas que las ratas en la misma concentración;
3. Los ratones tienen alrededor de el doble de la concentración del metabolito (1,2-epoxy-3-buteno) (BMO) en sangre que las ratas expuestas a concentraciones similares;
4. En un amplio alcance de exposiciones, los ratones recibieron una gran cantidad de BD inhalado por unidad de peso de cuerpo que las ratas, y tenían una concentración más alta de BMO en la sangre que las ratas (Según esperado, debido a las diferencias de tamaño de cuerpo e índices respiratorios y alguna enzimología);
5. El BD es fácilmente absorbido y ampliamente distribuido en los tejidos de ratas y ratones, con concentraciones de tejido por "unmole" de BD inhalado más alto en ratones que en ratas, por factores de 15 veces mayor o más;
6. Aunque hay diferencias en especies en la cantidad de metabolismo de BD en varios sitios, ambos ratas y ratones metabolizan BD a los mismos metabolitos reactivos sospechados de ser los carcinógenos últimos.

En comentarios en la propuesta de OSHA, el Dr. Michael Bird de Exxon testificó de parte de CMA BD Task Group que el ratón "obtendrán una cantidad significativamente más alta de epóxidos durante un período más largo de tiempo que las ratas ... o primate al ser expuesto a butadieno." (Ex. 52, p.27) El Dr. Bird concluyó que las diferencias en metabolismo de BD en las especies ayudan a "explicar la mayor sensibilidad del ratón a la actividad carcinogénica del BD." Concluyó además que las diferencias en índices de los procesos mediados por enzimas indican que los primates no humanos tienen concentraciones internas más bajas de BD o BMO, y que "el hombre es más similar al primate con respecto a la formación del 1,2-epoxi-3-buteno que la rata o el ratón." (Ex. 52. p. 22) El arguyó puede ser "únicamente sensible" a la carcinogenicidad del BD y la "eliminación del epóxido 1, 2-epoxi-3-buteno es saturable en ratones, pero no en ratas." (Ex. 52, p. 21) El pensó que esta observación correlacionaba bien con la respuesta citogenética y de médula ósea (vista en ratones, pero no en ratas.)

Otros sostienen una opinión distinta, e.g., Melnick y Kohn arguyó que "debido a que la rata parece ser excepcionalmente insensible a la inducción de leucemia/linfoma, el ratón debe ser considerado como el modelo más apropiado para evaluar el riesgo humano para cánceres linfáticos y hematopoyéticos." (Ex. 130, p. 160)

² El citocromo está definido como cualquier clase de hemoproteína cuya función biológica esté transportada en virtud

de un cambio de valencia revisable en su hierro heme. Los citocromos están ampliamente distribuidos en tejidos de plantas y animales.

El Dr. Bird instó a OSHA a usar los datos sobre monos de Dahl, et al. los cuales indicaron que el índice de retención para el BD en primates es sobre seis veces más bajos que el del ratón, al "sacar alguna conclusión firme sobre el riesgo de cáncer a humanos." (Ex. 52, p. 36) Durante la vista pública, el trabajo de Dahl fue presentado como un informe preliminar. (Ex. 44) Dahl expuso a tres monos cynomologus a BD y midió la toma y metabolismo. Cada animal fue expuesto a tres concentraciones de BD-marcado con C¹⁴, progresando de 10,300 a 8000 ppm con al menos tres de meses de separación entre la re-exposición de cada mono. Se tomó sangre post-exposición. En cada animal fue medida la frecuencia de respiración y el volumen tidal.

Dahl y sus colaboradores hallaron que la toma de BD era más baja en monos que en ratas. Los niveles de sangre de los epóxidos fueron también más bajos en monos que los niveles informados por Bond et al. en ratas y ratones.

Dahl et al. intentaron cuantificar el total de metabolitos mediante la recolección de heces, orina y material exhalado mediante el uso de trampas criogénicas. La medición del material marcado residual retenido en los animales al final del período postexposición de 96 horas no fue determinado. La identificación del material atrapado mediante HPLC (cromatografía líquida de alta ejecución), indicó que sólo 5 a 15% de la radioactividad estaba presente como monoepóxido.

Melnick y Huff, al revisar este estudio, halló que su significado "nublado" debido a que sólo se usó tres animales de edad desconocida y había incertidumbre sobre la capacidad de destilación criogénica de línea de vacío y las cantidades de metabolitos de BD. (Ex. 114, p. 133) En testimonio en la vista pública, el Dr. James Bond de CIIT reconoció las limitaciones del uso de destilación criogénica de línea la vacío como sigue:

* * * habrá algún material no importa que clase de vacío se le aplique * * * simplemente no se moverá a las trampas. A eso se hace referencia como material no volátil.

No sabemos lo que ese material sea y creo que es un componente importante de este estudio, porque, de hecho, en muchos casos puede representar 70 a 80% del material que actualmente se destila. (Tr. 1/22/91, p. 1553)

Melnick y Huff también estuvieron preocupados porque sólo los monos, no las ratas ni los ratones fueron anestesiados durante la exposición y cuestionó qué impacto pudiera haber tenido sobre los índices respiratorios y cardíacos y cuál pudiera haber sido la farmacocinésis del BD. (Ex. 114, p.133) En su revisión de 1992, Melnick y Huff concluyeron que los estudios a la fecha no han revelado diferencias de farmacocinésis de especies de suficiente magnitud "para justificar las diferentes respuestas tóxicas o carcinogénicas en una cepa de ratas comparada a dos cepas de ratones." (Ex. 114, p. 134) En comentarios postvista el Dr. David A. Dankovic de NIOSH revisó este tópico y concluyó "* * * el curso más prudente es basar el avalúo de riesgos del 1,3-butadieno sobre la concentración de exposición externa, a menos que se haga mejoras substanciales

a la metodología para obtener estimados de dosis "internas." (Ex. 101, Att. 2, p.5)

Estudios Recientes

Los estudios recientes han enfocado sobre el metabolismo del BD a los epóxidos, epoxibuteno y diepoxibutano y su destoxificación por hidrolasa de epóxido y glutanione. Bond et al. recientemente revisaron los datos de toxicología de BD. (Ex. 118-7G) Se informó que el epoxibuteno y diepoxibutano ser carcinogénicos a ratones y ratas via aplicación de la piel y/o inyección subcutánea, con el diepóxido con mayor potencia carcinogénica. Bond et al. también concluyeron que el diepóxido es más mutagénico que el monoepóxido por un factor de casi 100 sobre una base molar. El diepóxido también induce a daño genético *in vitro* en células de mamíferos (células ováricas de cricetos chinos y linfocitos de sangre periferal humana). Estos estudios están resumidos en esta discusión del preámbulo de los efectos reproductores.

Estudios metabólicos in vitro

En 1992 Csanady et al. informaron el uso de preparaciones microsomales y citosólicas de hígados y pulmones de ratas Sprague-Dawley, ratones B6C3F₁ y humanos para examinar el metabolismo del citocromo dependiente de P450 del BD. (Ex. 118-7AA) Las preparaciones fueron colocadas en viales sellados y se inyectó BD mediante el uso de una jeringuilla hermética a gas. Las muestras de aire fueron tomadas del espacio superior en intervalos de cinco minutos y analizadas mediante cromatografía de gas para epoxibuteno.

El metabolismo del citocromo dependiente de P450 del monoepóxido al diepóxido fue examinado. La hidrólisis mediada por enzimas del BMO mediante hidrolasa de epóxido fue medida. (La hidrólisis no mediada por enzimas fue determinada usando tejido activado por calor y no se observó ninguna.) Las constantes de índice de segundo orden fueron determinadas usando 100mM de monoepóxido y 10 mM GSH. Las muestras humanas fueron bastante variables, con los índices variando desde 14 a 98 nmol/min/mg de proteína.

El índice máximo para oxidación de BD a monoepóxido (V_{max}), fue determinado ser el más alto para microsomas³ de hígado de ratón (2.6 nmol/mg proteína/min); los valores V_{max} para humanos fueron intermedios, a 1.2 nmol/mg proteína/min; los valores V_{max} para ratas fue 0.6 nmol/mg proteína/min. Para microsomas de pulmón, la V_{max} en el ratón se halló ser muy similar al índice de hígado de ratón, pero sobre 10 veces mayor que para humanos o ratas.

De estos datos, Csanady et al. calcularon una razón de activación para destoxificación para cada especie probada. Estos valores, expresados como mg proteína citosólica/ gm hígado [glutathione-S-transferasa es una enzima citosólica], resultó en la determinación de una activación general:

razón de destoxificación de 12.3 para el ratón, 1.3 para la rata y 4.4 para las muestras humanas.

Si estos estudios microsomaes *in vitro* pueden ser extrapolados a todo el animal *in vivo*, entonces esto implica, según señalado por Kohn and Melnick, que el ratón produce 2.8 veces tanto BMO por mol de BD como el humano y que la razón de activación:destoxificación humana es 3.4 veces la de la rata. Sin embargo, el estudio de Csanady et al. demostró una alta variabilidad en la actividad metabólica entre los tres microsomas humanos y se halló una variación de 60 veces en 10 hígados humanos por Seaton et al. (Ex. 118-7N) Kohn y Melnick señalaron que esta variabilidad humana en CYP2E1, la enzima P450 principalmente responsable de la actividad, sugiere que una " * * * fracción de la población humana puede ser tan sensible al butadieno como lo son los ratones. " (Ex. 131, p. 620).

Un estudio similar al de Csanady et al., informado por Duescher y Elfarra en 1994, determinó que las razones V_{max}/K_m para metabolismo en humanos y en microsomas de hígado de ratón son similares y fueron casi 3 a 3.5 más alto que la razón obtenida con microsomas (Ex. 128) Duescher y Elfarra sugieren que las diferencias entre sus resultados y los de Csanady et al, pueden deberse en parte a diferencias en metodología experimental, tal como métodos de incubación y avalúo. Duescher y Elfarra hallaron que dos isozimas P450, 2A6 y 2E1, eran las más activas en formar BMO de las enzimas probadas. Ellos concluyeron que ya que los microsomas del hígado humano oxida BD al menos tan eficientemente como los microsomas de hígado de ratón (y mucho más que los microsomas del hígado de rata), esto "sugiere que si un índice de formación de [BMO] es el principal factor que lleva a toxicidad, los humanos pueden estar en mayor riesgo de expresar toxicidad a BD que los ratones o ratas y que el ratón puede ser el modelo animal más apropiado para avaluar toxicidad." Duescher y Elfarra también pensaron que ya que P450/2A6 parece jugar un papel principal en la oxidación del BD en los microsomas del hígado humano y que es más similar al del P450/2A5 que al P450/2A1 de la rata, el ratón puede ser un mejor modelo para usarse en el avalúo del riesgo humano.

En 1994, Himmelstein et al., hipotetizó que "Las diferencias de especies en activación y destoxificación metabólica con mayor probabilidad contribuyen a la diferencia en la potencia carcinogénica del BD modulando los niveles de sangre circulante a los epóxidos." (Ex. 118-13, Att 3) Para discutir esto, Himmelstein y sus colegas miraron los niveles de BD, BMO y BDE en la sangre de ratas y ratones expuestos a a 62.5, 625 o 1250 ppm de BD. Las muestras fueron recogidas a las dos, tres, cuatro y seis horas de la exposición para BD y BMO y tres y seis horas para BDE. La sangre fue obtenida de los ratones mediante punción cardíaca y de las ratas a través de una cánula yugular fijas. Melnick y Huff criticaron los estudios anteriores que omitieron el uso de fístulas fijas.

Debido a que los niveles constantes de [monoepóxido] son más bajos en ratas que en ratones y debido a que el índice de eliminación metabólica para este compuesto es cinco veces más rápido en ratas que en ratones, cualquier dilación en obtener muestras de sangre inmediatas tendrían un efecto mucho mayor en análisis en muestras de sangre obtenidas de ratas que de las obtenidas de los ratones. (Ex. 114, p. 133)

Himmelstein et al. halló que la concentración de BD en sangre no era directamente proporcional a la concentración de BD inhalada, sugiriendo que la toma de BD era saturable en la concentración más alta inhalada. En ratas y ratones los niveles de BD y BMO sangre fueron constantes a las 2, 3, 4 y 6 horas de exposición y declinaron rápidamente cuando cesó la exposición. Esto es consistente con que la exhalación es la ruta primaria de eliminación de BD. (Ex. 118-7B)

Genter y Recio usaron análisis de mancha e inmunohistoquímico para detectar P450/2E1 en médula ósea de los ratones B6C3F₁. (Ex. 118-7T) Aunque ambos métodos detectaron la presencia de proteína en los hígados de ratones y ratas hembras, no se vió ninguna en la médula ósea. Los límites de detección no fueron establecidos en el informe. El autor hipotetizó que el BD pudiera ser convertido a monoepóxido en el hígado antes de la toma por la médula ósea, o que otro paso (e.g., mieloperoxidasa), es responsable de la oxidación de BD en la médula. Recio y Genter sugieren que la mayor sensibilidad de los ratones a carcinogenicidad inducida por BD puede ser explicado en parte por los niveles más altos de ambos epóxidos en la sangre de los ratones comparado con el de las ratas.

Himmelstein et al., ampliaron este trabajo en 1955 en un informe en el cual determinaron que los niveles de epóxidos en los hígados y pulmones de ratas y ratones expuestos a BD. (Ex. 118-7/O) Los animales fueron expuestos a 625 o 1250 ppm de BD por tres o seis horas. Himmelstein et al. hallaron que en ratones expuestos a este régimen, los niveles de monoepóxidos fueron más altos en pulmones que en hígados. Las ratas a 625 y 1250 ppm tenían concentraciones más bajas de BMO en los pulmones e hígados que los ratones. Cuando las ratas fueron expuestas a 8000 ppm de BD, la concentración máxima en el pulmón y en el hígado era casi la misma. Los niveles de diepóxido en los pulmones de los ratones expuestos a 625 y 1250 ppm fueron 0.71 y 1.5 nmol/g respectivamente. El diepóxido no fue detectado en los hígados o pulmones de las ratas expuestas en cualquier nivel probado.

Himmelstein et al., también observaron la pérdida de glutathione en muestras de hígado y pulmón de ambas especies de roedores. Siguiendo a la exposición de seis horas los pulmones de los ratones exhibieron mayor pérdida de GSH que el hígado de los ratones, hígado de ratas o pulmones de ratas en todas las concentraciones BD probadas. La conclusión alcanzada con los autores del estudio fue que sus datos indicaron que la pérdida de GSH está asociada con la carga de tejido de los epóxidos y que esta dosimetría de órgano blanco pudiera llegar a explicar algunas de las incongruencias de los sitios de cáncer observadas entre las especies. OSHA señala sin embargo, que la pérdida de por ciento de GSH fue más alta en el pulmón del ratón, el aumento de pérdida mayor fue a 1250 ppm de BD, aunque la incidencia de tumor pulmonar fue aumentada en el ratón hembra a 6.25 ppm y en los ratones machos a 62.5 ppm. La pérdida de glutathione dependió de la concentración y duración de la exposición a BD.

Himmelstein et al., enfatizaron la importancia del hecho de que se detectó diepóxido en el pulmón

del ratón pero no fue cuantificable en el hígado del ratón y declaró que si el diepóxido se formó en el hígado, es rápidamente desintoxicada o de otro modo movida fuera de hígado. Ellos también hallaron que la pérdida del glutathione fue mayor en los tejidos de los ratones que de la ratas para concentraciones inhaladas similares de BD y concluyeron que la conjugación del monoepóxido conglutathione mediante glutathione S-transferasa es un paso importante de desintoxicación.

En contraste a las ratas y ratones los pulmones e hígado de los humanos tenían índices mucho más rápidos de hidrólisis de monoepóxido microsomal por hidrolasa de epóxido comparado a la conjugación citósolica conglutathione mediante la transferasa (Ex. 118-7AA).

Thornton-Manning et al., en 1995 examinó la producción y disposición de monoepóxido y diepóxido en tejidos de ratas y ratones expuestos a 62.5 ppm BD. (Ex. 118-13, Att. 3) Ellos hallaron que el monoepóxido estaba sobre el trasfondo de tejido en sangre médula ósea, corazón, pulmón, grasa, bazo, y timo de los ratones después de dos o cuatro horas de exposición a BD. En ratas los niveles del monoepóxido estuvieron elevados en tejidos de sangre, grasa, bazo, y timo. No se observó aumento en monoepóxido en pulmones de ratas. El diepóxido más mutagénico fue detectado en todos los tejidos de los ratones examinados inmediatamente siguiente a la exposición de cuatro horas. Fue detectado en el corazón, pulmones, grasa, bazo y timo de las ratas pero a niveles de 40 a 160 veces más bajo que los vistos en ratones.

En ratones, el nivel de diepóxido excede a los niveles de monoepóxidos inmediatamente después de la exposición en tales órganos blanco como el corazón y los pulmones. Thornton-Manning et al., concluyeron que las altas concentraciones de diepóxido en corazón y pulmones que observaron les sugiere que este compuesto puede ser particularmente importante en la carcinogénesis inducida por BD.

Los autores del estudio señalaron que ninguno de los epóxidos fueron detectados en el hígado de las ratas y estaba presente sólo en concentraciones muy bajas en el hígado de los ratones. Thornton-Mannings et al. halló esto sorprendente, ya que los epóxidos presentes en sangre en el hígado debiera haber resultado en valores mayores que los observados en las muestras de hígado. Ellos hipotetizaron que pudiera deberse al metabolismo anterior de los epóxidos antes de alcanzar el hígado o pudiera ser un artefacto debido al metabolismo postexposición de los epóxidos en el hígado.

Thornton-Manning et al., no detectaron el monoepóxido en pulmones de rata, y hallaron que el nivel de diepóxido ser bastante bajo. En contraste, en los ratones, hallaron ambos epóxidos presentes en tejidos pulmonares, con el nivel de monoepóxido presente en una concentración menor que la esperada usando valores de volumen de sangre y el nivel de diepóxido de acuerdo con lo esperado como función de volumen de sangre. Thornton-Manning et al. concluyeron que estos resultados " * * * sugieren que el pulmón es capaz de metabolizar BDO, pero quizá es menos activo en metabolizar BDO₂. " (Ex. 118-13, Att. 3) Más aún, Thornton-Manning et al. creyeron que aunque el BD es metabolizado oxidativamente por pasos metabólicos similares en las

ratas y ratones, las diferencias cuantitativas en los niveles de tejidos entre especies puede ser responsable de la carcinogenicidad aumentada del BD en los ratones.

Tabla V-8.- Niveles de tejido [pmol/gm tejido, media \pm S.E.] de epoxibuteno y diepoxibutano en ratas y ratones siguiente a una exposición de 4 horas a 62.5 ppm de BD mediante inhalación

Tejido	Epoxibuteno		Diepoxibutano	
	Ratas	Ratones	Ratas	Ratones
Sangre.....	36 \pm 7	295 \pm 27	5 \pm 1	204 \pm 15
Corazón.....	46 \pm 16	120 \pm 15	3 \pm 0.4	144 \pm 16
Pulmón.....	ND	33 \pm 9	0.7 \pm 0.2	114 \pm 37
Hígado.....	ND	8 \pm 4	ND	20 \pm 4
Grasa.....	267 \pm 14	1303 \pm 21	2.6 \pm 0.4	98 \pm 15
Bazo.....	7 \pm 6	40 \pm 19	1.7 \pm 0.5	95 \pm 12
Timo.....	12.5 \pm 3.2	104 \pm 55	2.7 \pm 0.7	109 \pm 19
Médula ósea ¹	0.2 \pm 0.1	2.3 \pm 1.5	ND	1.4 \pm 0.3

ND= No detectado

¹ Los datos de médula ósea están presentados como media pmol/mg proteína \pm ; n=3 o 4 para cada determinación. Adaptado de Ex. 118-13, Att. 3.

Estos datos están mostrados en la Tabla V-8. Seaton et al. examinaron las actividades de los isozimas P450 expresado en cADN expresados en el citocroma humano para su capacidad para oxidar epoxibuteno a diepoxibutano. (Ex.118-7N) Ellos también determinaron el índice de formación del epóxido mediante muestras de microsomas de hígado humano (n=10) y en microsomas de hígado de ratón y rata. Seaton et al. hallaron que dos tipos de isozimas P450 de citocroma, CYP2E1 y CYP3A4, catalizaron la oxidación de 80 μ M de monoepóxido a niveles detectables de diepóxido y que el CYP2E1 catalizó la reacción a niveles más altos de monoepóxido (5mM), sugiriendo la predominancia de actividad 2E1 a bajas condiciones de sustrato. Los microsomas hepáticos de todas las tres especies formaron el diepóxido al ser incubados con el monoepóxido. Seaton et al. hipotetizó que la diferencia entre estos resultados y los de Csanady et al. (quién no detectó el diepóxido cuando el monoepóxido era sustrato en un estudio microsomal similar), fue debida a en metodología experimental.

Seaton et al. señalaron una variabilidad de 25 veces en Vmax/Km entre los cuatro hígados

humanos. Ellos informaron que V_{max}/K_m para oxidación del monoepóxido a diepóxido para las cuatro muestras humanas fue 3.8, 1.2, 1.3 y 0.15, aunque el de las muestras de ratas reunidas fue 2.8 y la razón de ratón fue 9.2.

Los autores, usando datos variables, calcularon una razón de activación/destoxificación general (V_{max}/K_m para oxidación de BD al monoepóxido), tomando en cuenta la hidrólisis del monoepóxido mediante hidrolasa epóxida y la conjugación con glutathione. La razón de activación/destoxificación fue estimado en 1295 para el ratón, 157 para ratas y 230 para humanos.

Sin embargo, Melnick y Kohn señalan que "cuando se consideró el rendimiento de contenido de proteína microsomal y citosólica y tamaño de hígado, la razón de activación a destoxificación fue sólo 2.8 veces mayor en ratones que en humanos y 3.4 veces mayores en humanos que en ratas. Estas razones no toman en cuenta la variabilidad interindividual en las actividades de las enzimas envueltas." (Ex. 131)

Recientemente, Seaton et al. estudiaron la producción del monoepóxido en vías de aire completas aisladas de pulmón de rata y ratón. (Ex. 118-7C) Ellos explicaron el ímpetu de usar tejido intacto fresco declarando que las fracciones subcelulares pulmonares, como empleado en experimentos por Csanady et al., descrito arriba, mezcla contenida de tipo de célula "tal que la capacidad metabolizadora de la población de ciertas células puede haber sido encubierto." Ellos anticiparon que el uso de tejidos de vías de aire permitiría la cuantificación más precisa de las diferencias en metabolismo de pulmón de BD.

Las vías de aire o bronquiolos enteros aislados de ratones machos B6C3F₁ y ratas Sprague-Dawley fueron incubados por 60 minutos con 34 μ M BD. Los niveles de 10.4 ± 5.6 nmol de epoxibuteno/mg proteína fueron detectados en pulmones de ratón, mientras que 2-3 nmol/mg de proteína fue observado en las regiones de aire de los pulmones de rata. Seaton et al. señaló que aunque las diferencias de especie "no son dramáticas", pueden contribuir en parte a las diferencias en carcinogenicidad observadas en ratones y ratas.

Para caracterizar la conjugación de metabolitos de BD con glutathione (GSH), Boogard et al. preparó citosol de pulmones e hígados de ratas y ratones y seis donantes de hígado humano y los incubó con 0.1 a 100 μ M de diepóxido y glutathione marcado (GSH) (Ex. 118-7J) Se usó técnicas de NMR (resonancia de masa nuclear), y HPLC para caracterizar y cuantificar la conjugación de conjugado.

La reacción no enzimática se concluyó que era insignificante. Los índices de conjugación (V_{max}) en hígado de ratas y ratones fueron similares y 10 veces mayores que los observados en las muestras humanas. El índice inicial de conjugación (V_{max}) fue mucho más alto en pulmones de ratón que de ratas. Esto llevó a Boogard et al. a concluir que los niveles más altos de diepóxidos observados en ratones expuestos a BD comparados con ratas "no se deben a diferencias en conjugación GSH pulmonar o hepática de BDE (el diepóxido)," y más ya que los humanos oxidan BD a epóxidos a un bajo índice, la baja actividad de conjugación de GSH del diepóxido en citosol

de hígado humano demostrado en este estudio "no lleva necesariamente a niveles deBDE (diepóxido) aumentados en humanos potencialmente expuestos a BD." También señalaron la necesidad de determinar el índice de destoxificación de BDE por otros medios, específicamente por hidrolasa de epóxido en todas las tres especies.

Estudios de metabolitos urinarios de BD

Dos metabolitos de BD han sido identificados en la orina de los animales expuestos por Sabourin et al. (Ex. 118-13 Att. 3) Estos son 1,2-dihidroxy-4-N-acetylcysteinyl-S-)butano, designado MI, y MII, lo cual es 1-hydroxy-2-N-acetylcysteinyl-S)-3-butene. (Ex. 118-13- Att 3)

Estos ácidos mecaptúricos son formados al añadir glutathione (GSH) en cualquiera de los enlaces dobles (MI) o el epóxido (MII). Se piensa que MI se forme mediante la conjugación de la conjugación de GSH con butenediol, el producto de hidrólisis del monoepóxido, mientras se piensa que MII se forme de la conjugación del monoepóxido con GSH.

Sabourin et al. midieron MI y MII en orina de ratas, ratones, cricetos y monos. Se observó que los ratones excretan de tres a cuatro veces tanto MII como MI, mientras que los cricetos y las ratas produjeron alrededor de 1.5 veces tanto MII como MI. Los monos produjeron principalmente MI.

La razón de formación de metabolito I a la formación total de dos ácidos mercaptúricos, MI y MII, correlaciona bien con la actividad hepática conocida de hidrolasa epóxida en las diferentes especies, sugiriendo que el monoepóxido sufre conjugación más rápida con glutathione en el ratón que en el criceto o rata y que la conjugación menos rápida ocurre en el mono. La disponibilidad epóxida está inversamente relacionada a la actividad hepática de la hidrolasa epóxida, que removió el epóxido mediante hidrólisis.

En 1994, Bechtold et al. publicó un ensayo que describía la comparación de estos metabolitos entre ratones, ratas y humanos.⁴ En trabajadores expuestos a concentraciones atmosféricas históricas de 3 a 4 ppm de BD, Bechtold midió niveles de orina de MI y MII mediante el uso de cromatografía de gas de dilución de isótopo y halló MI, pero no MII fácilmente detectable. Bechtold et al. halló que los empleados que trabajan en áreas de producción (con una exposición de 3-4 ppm de BD), pudiera ser distinguida mediante este estudio de los controles exteriores y que el bajo nivel de las exposiciones humanas a BD resultó en la formación de epóxido.

Bechtold et al. declaró en su abstracto que ya que los monos exhibieron una mayor razón de MI a MI+MII que los ratones, y porque se "conoce que los humanos tienen actividades de hidrolasa epóxida más similar a la de los monos que los ratones, postulamos que después de la inhalación los humanos excretarían predominantemente MI y poco MII." (Ex. 118-13 Att 3) Sus observaciones sugirieron que el paso predominante para la liberación de monoepóxido en humanos es la hidrólisis antes que la conjugación con glutathione.

Betchtold et al. halló cuando los ratones y ratas fueron expuestos a 11.7 ppm de BD por cuatro horas y la razón de los metabolitos fue luego medida, para ratones, la razón de MI a $MI \pm MII$ (o el porcentaje del total el cual es MI) fue 20% , que las ratas fue 52%, mientras que los humanos exhibieron más de 97% MI. Estos datos también indican la predominancia de la liberación mediante pasajes de hidrólisis en vez de conjugación de GSH en el humano.

Nauhaus et al. usaron técnicas de NMR para estudiar metabolitos urinarios de ratas y ratones expuestos a [(1, 2, 3, 4)-¹³C]-butadieno). (Ex. 118-71) Ellos caracterizaron los metabolitos en orina de ratones y ratas siguiente a la exposición mediante inhalación a aproximadamente 800 ppm de BD por cinco horas. La orina recogida durante 20 horas de los animales expuestos y de control, centrifugada y congelada.

Los hallazgos de este estudio son muy extensos y están brevemente resumidos como sigue. Nueve metabolitos fueron detectados y químicamente identificados en orina de ratón y cinco en la de rata. Cinco fueron similares en las dos especies, aunque difiriendo marcadamente en concentración. Uno fue único a la rata y cuatro al ratón. Nauhaus et al. observaron que "cuando está normalizado al peso de cuerpo (umol/kg peso de cuerpo), la cantidad de metabolitos derivados de diepóxido fue cuatro veces mayor en orina de ratón que en orina de rata." Ellos hipotizaron subsiguientemente que "la mayor carga corporal del (diepóxido) en el ratón y la mayor capacidad de la rata para detoxificarlo a través de hidrólisis puede estar relacionada a la mayor toxicidad de BD en el ratón." Nauhaus et al. hallaron que ambos ratones conjugaron el monoepóxido con glutathione, pero la rata conjugó preferencialmente en el carbono dos, mientras que el ratón conjugó preferencialmente en el carbono uno. además, el hallazgo de un metabolito de 3-butenal, un intermedio propuesto en la oxidación de BD a crotonaldehído, un carcinógeno animal, es sugestivo de un paso carcinogénico alterno para BD. En general, este estudio apoya los hallazgos *in vitro* de Csanady et al., quienes informaron índices similares para conjugación de BMO con glutathione entre ratas y ratones. (Ex. 118-7AA)

Interacción de Butadieno con otros químicos

Bond et al. describieron el uso de datos variables para simular la interacción potencial del BD con otros químicos de lugar de trabajo. (Ex. 118-7V) Específicamente modelaron la interacción potencial asumiendo la inhibición competitiva del metabolismo del BD por estireno, benceno y etanol. El modelo predijo que la coexposición a estireno reduciría la cantidad de BD metabolizado, pero que debido a su insolubilidad relativa, el BD no inhibiría el metabolismo del estireno. El benceno, que como el BD es metabolizado por P450/2E1, también se predijo ser un inhibidor altamente efectivo de BD debido a su solubilidad en tejidos. Los modelos predijeron que el etanol tendría sólo un efecto marginal sobre el metabolismo de BD en concentraciones de BD "relevantes a la exposición humana."

La coexposición de BD y estireno con frecuencia ocurre en la industria de SBR y ambos son

metabolizados mediante oxidación para activar metabolitos, en mayor parte, por P450/2E1 citocromo. Para determinar el efecto metabólico de la exposición conjunta a BD y estireno, Levans y Bond desarrollaron y compararon dos modelos PBPK, uno con un pasaje oxidador y competencia entre BD y estireno y otro con dos pasajes de oxidación para BD y estireno. (Ex. 118-7E) Para validación de modelo, Levans y Bond expusieron a ratones machos a mezclas de BD y estireno de 100 y 1000 ppm de BD y 50, 100 o 250 ppm de estireno por ocho horas. Ellos usaron concentraciones de entrada y salida de cámara para calcular la toma y, al alcanzarse el estado constante, calcularon el índice de metabolismo. Ellos analizaron sangre para estireno, óxido de estireno, epoxibuteno y diepoxibutano mediante GC-MS.

Leavan y Bond hallaron el metabolismo de BD inhibido cuando los ratones fueron coexpuestos a estireno. La inhibición se acercó al valor máximo en concentraciones de coexposición de estireno sobre 100 ppm.

El informe también describió el desarrollo preliminar de los modelos farmacocinéticos para simular el índice observado de metabolismo de BD en los ratones coexpuestos. Sus resultados apoyaron la hipótesis de que "más de una isozima de P450 metabolizó BD y estireno y no ocurre competencia entre BD y estireno para todas las isozimas." Fueron incapaces de predecir

exactamente las concentraciones estireno en sangre siguiente a la exposición, y pensaron que "quizá el diepóxido puede inhibir el metabolismo del estireno compitiendo por la misma enzima P450."

Aunque de naturaleza preliminar y reflejando efectos de exposiciones relativamente altas, estas observaciones de interacciones entre exposiciones a estireno y BD pueden tener implicaciones para el patrón observado de efectos inducidos por BD en las poblaciones humanas expuestas conjuntamente. Específicamente, los efectos de cáncer vistos en los trabajadores de producción de SBR pueden subestimar los efectos de BD sin exposición a estireno o benceno.

Modelado farmacocinético de metabolismo de BD

En una publicación reciente, Bond et al. revisaron los resultados de la aplicación de un número de modelos de dosimetría farmacocinética (PBPK) con bases fisiológicas. (Ex. 118-7M) Ellos señalaron que tres de los modelos que incluían disposición de monoepóxido (Kohn y Melnick, Johanson y Filser, Medinsky), predijeron que para cualquier concentración de exposición, los niveles de monoepóxido de estado constante serán más altos para ratones que para ratas. Bond et al. observaron además que "aunque los tres modelos predicen precisamente la toma de BD en ratas y ratones, ellos sobreestimaron las concentraciones de monoepóxido en sangre circulante de (monoepóxido), en estas especies comparado a la medida experimentalmente por Himmelstein." Sus resultados también llevaron a Bond et al. a concluir que el desacuerdo entre las predicciones de modelo para monoepóxido y los datos experimentales sugieren que los valores de estructura y/o

parámetro empleados en estos modelos no son precisos para predecir los niveles de sangre de los epóxidos de BD, y las conclusiones basadas sobre predicciones de modelo de los niveles de epóxido en sangre o tejido pueden estar erradas." (Ex. 118-7M, p. 168) OSHA está de acuerdo con estos autores en que los niveles de epóxido no deben usarse para evaluar riesgo. En la discusión, los autores señalaron la necesidad de incluir la toxicocinético de diepóxido (así como la de monoepóxido) en futuros ejercicios de modelado, ya que creen que el diepóxido es el metabolito carcinogénico último del BD.

Kohn y Melnick, en una publicación reciente, usaron los datos disponibles y trataron de aplicar un modelo PBPK para ver si era consistente con la toma y metabolismo observados *in vivo*. (Ex. 131) El modelo incluía compartimientos para tejidos de perfusión rápida y lenta. Las ecuaciones de índice para formación de monoepóxido, en su hidrólisis, y para conjugación con glutathione fueron incluidas.

Kohn y Melnick reconocieron numerosas fuentes de incertidumbre al aplicar el modelo a los datos (en los cuales hay muchas lagunas), necesitan asunciones. Sus cálculos los llevaron a concluir que el "modelo reproduce las observaciones de cuerpo completo para ratones y ratas" y que predice que la "toma de inhalación de butadieno y la formación y retención de epoxibuteno están controladas a mucho mayor extensión por los parámetros fisiológicos que por los parámetros bioquímicos..." (Ex. 131)

Cuando Kohn y Melnick intercambiaron los parámetros bioquímicos en los modelos de ratón y humano para ver si "las diferencias en toma neta calculada de butadieno entre las tres especies fue debida a las diferencias en actividad metabólica," ellos hallaron que el uso de parámetros humanos en el modelo de ratón disminuyó el nivel de absorción de BD, pero no a un nivel tan bajo como en de humano. Kohn y Melnick señalaron que las predicciones de modelo de niveles de epoxibuteno en el corazón y pulmones y ratas no justificaron la observación de que los ratones, pero no las ratas, desarrollen tumores en esos sitios. Kohn y Melnick sugirieron que factores distintos de los niveles de epoxibuteno, no justificados por el modelo, son probablemente cruciales para la inducción de carcinogénesis.

Conclusiones

Muchos estudios de metabolismo han sido conducidos *in vitro* e *in vivo*, mayormente en ratones y ratas para determinar los procesos metabólicos, distributivos y eliminadores del BD, y estos estudios han sido extendidos en intentos de explicar, al menos en parte, la mayor potencia de carcinogenicidad del BD en el ratón, si el ratón o la rata es el mejor sustituto para avalúo de cáncer humano y riesgo reproductor, y cuál sea la dosis-métrica apropiada para usarse en avalúos de dosis-respuesta. La pregunta de si el ratón o la rata es un mejor modelo para el humano sobre las bases de la respuesta de tumor está tratada en parte en la sección de avalúo de riesgos de este preámbulo.

Esta sección considera más específicamente si estos estudios metabólicos en total pueden explicar las diferentes respuestas y potencias de cáncer observadas en ratones, ratas y humanos. Lo que es claro a través del expediente es que la mayoría de los científicos que estudian el tema consideran que no el BD mismo, sino los principales metabolitos de epóxidos de BD, BMO y BDE y 1,2-epoxibuteno-3, 4-diol, ser los agentes carcinogénicos putativos. La mayor parte de esta investigación ha enfocado sobre la producción relativa de especie de BMO y BDE. Ambos BMO y BDO han sido informados en estudios tempranos como carcinogénico a ratones y ratas via aplicación por la piel y/o inyección subcutánea, con el BDO algo más potente. (Ex. 23-88, Ex. 125).

El metabolismo de BD a BMO en el hígado y pulmones de ratones, ratas y humanos es mediante el pasaje de oxidación de P450, con CYP2E1 y CYP1A6 siendo las principales enzimas. Basado sobre los estudios revisados por OSHA, en general el ratón metaboliza BD a monoepóxido y el diepóxido en estos órganos a un índice más rápido que la rata o el humano. Esto está apoyado por la siguiente evidencia: (1) El ratón tiene niveles más altos de BMO y BDE en la sangre, pulmones e hígado (i.e., véase Ex. 118-7S, Ex. 118-7D, and Ex. 118-13), los cuales son los órganos blanco para cáncer en el ratón, pero no en la rata; (2) el ratón tiene más altas razones de microsomas Vmax/Km de pulmones e hígado *in vitro* para metabolismo de BD y BMO que las ratas o los humanos. (Ex. 118-7AA); y (3) el ratón tiene niveles de aducto de hemoglobina-BMO más altos que las ratas y niveles mucho más altos que los humanos. (Ex. 118-7Y) Una excepción mayor a los hallazgos de estos estudios por Duescher y Elfarra, quienes hallaron que las razones Vmax/km de BD *in vitro* fueron iguales en microsomas hepáticos de ratones y humanos y 3-4 veces más alto de lo que eran en ratas, sugiriendo que los ratones y los humanos tienen potencial metabólico de BD similar, al menos en el hígado. (Ex.128) Se halló grandes variaciones, alrededor de 60 veces, entre 10 actividades metabólicas de microsoma de BD del hígado humano. (Ex.118-7N) Un estudio reciente de metabolismo de BD *in vitro* por Seaton et al. de aislados de vías de aire enteras del pulmón de ratas y ratones halló que el ratón producía alrededor del doble de BMO que la rata (esta diferencia no pudo explicar la diferencia entre la incidencia de tumores entre ratas y ratones). (Ex.118-7C)

El BMO y BDE también fueron medidos en corazón, bazo, timo y médula ósea (sitios blanco para ratones, pero no tumores de rata), siguiente a la exposición por inhalación de cuatro horas de BD (62.5 ppm), a ratones y ratas. (Ex.118-13) En estos tejidos, los niveles de BMO y BDE en ratones fueron de 3 a 55 veces más alto que los niveles para ratas para los mismos metabolitos, aunque los niveles de órgano de ratón de estos metabolitos se correlacionan pobremente con la respuesta de cáncer de órgano blanco de ratón a este nivel de exposición. Sólo altos niveles de BDE en los pulmones de ratón fueron consistentes con la incidencia de mortalidad por cáncer (véase identificación de riesgo-sección de estudios de animales, Ex.114). Esto sugiere que los niveles de metabolito de BD en tejido puede, en el mejor caso, explicar sólo parcialmente las diferencias en respuesta cardiogénica. Las diferencias en ambas especies y la sensibilidad de tejido

también deben ser justificadas.

El estudio de Thornton-Manning y otros estudios también proveen información sobre la eliminación de BD. (Ex.118-71) Con niveles de exposición experimental más altos, la principal ruta de eliminación de BD es vía expiración. La eliminación de BMO ocurre mediante diferentes pasajes en diferentes especies y diferentes órganos. A concentraciones de exposición a BD más alta, se expira algún BMO. El hígado y pulmones de ratón parecen eliminar BMO predominantemente mediante conjugación directa con GSH⁵. Para la rata hay aproximadamente igual eliminación a través de los pasajes mediados por GSH y EH, mientras que para los humanos y monos la hidrólisis de butadienol es el principal pasaje para excreción. (Ex. 118-13 Att.3) Esta diferencia de pasaje de eliminación entre especies es una explicación parcial para los niveles más altos de BMO y BDE vista en el ratón, asumiendo que la mayor parte del metabolismo de BD tiene lugar en el hígado. Con respecto a la distribución y metabolismo de BD en la médula ósea, los niveles de ratón de los metabolitos de BD en la médula ósea fueron más bajos que en cualquiera de los otros órganos blanco estudiados. (Ex.118-13) Los estudios *in vitro* por Gentler y Recio no han hallado P450E1 detectable en la médula ósea de los ratones B6C3F₁ (Ex.118-7T) Estos autores concluyen que esto "sugiere que el BD es convertido a BMO fuera de la médula ósea y es subsiguientemente concentrada en la médula ósea, o que la conversión de BD a BMO ocurre mediante pasajes enzimáticos alternos dentro de la médula ósea." Esto último parece ser lo más probable, ya que Maniglier-Poulet y sus colaboradores mostraron que el metabolismo de BD a BMO *in vitro* en médula ósea de ratones B6C3F₁ y humanos ocurre por un proceso mediado por peroxidasa y no vía el sistema de citocroma P450. (Ex. L-133) Ya que en sus sistemas la médula ósea de ratones y humanos generó alrededor de la misma cantidad de BMO/célula, esto sugiere que la distribución de BD a la médula ósea y las reacciones metabólicas locales deben ser consideradas en extrapolaciones de especie a especie y en modelado de PBPK.

La inclusión de reacciones locales de médula ósea se tornan aún más importantes al considerar las especies animales a usarse para modelar cáncer humano. El BD es genotóxico en la médula ósea de ratones, pero no de ratas. (Tice et al. 1987; Cunningham et al. 1986, reported in Ex.131) BD y BMO han sido implicados como que afectan las células de origen y progenitoras hematopoyéticas de la médula ósea relacionadas a leucemia de célula T y anemia en el ratón. (Irons et al., 1993, in Ex. 117-2) El BD causa linfoma en ratones, pero no linfoma o leucemia en ratas, aún a 8,000 ppm. Más aún, el cuerpo de evidencia epidemiológica indica fuertemente que la exposición a BD presenta un riesgo aumentado de leucemia humana (véase la sección epidemiológica y especialmente Ex.117-1).

El almacenado en grasa de BD durante la exposición, y la liberación siguiente al cese de la exposición, también es una preocupación mayor, al estimar los niveles de órgano blanco y al determinar las diferentes especies. Hay poco en el expediente sobre el efecto del almacenado de grasa y su liberación. En el estudio Thornton-Manning discutido anteriormente, los niveles BMO y BDE en grasa de ratones y las ratas declinaron rápidamente siguiente al cese de la exposición, sugiriendo pocos efectos permanentes. Sin embargo, Kohn y Melnick presentan un modelo en

el cual la liberación postexposición del BD de la grasa resultará en producción de epóxido en humanos en contraste con el ratón. (Ex.131)

Bond et al. sugieren que el metabolismo más rápido de BD a BMO en el ratón y los pasajes de eliminación de EH y BMO más rápidos en la rata y humanos puede ser una explicación para los niveles más bajos de BDE, si alguno, vistos en microsomas hepáticos de rata y humanos y por qué el BD no será carcinogénico a humanos en los niveles de exposición vistos en el ambiente o el lugar de trabajo. (Ex. 130) También concluyeron que: "Ya que la inducción de tumor significativa ocurre sólo a 8000 ppm de BD, los niveles de BMO probablemente no son predictores de una respuesta carcinogénica." Thornton-Manning et al. caracterizan los niveles pico de BDE en los pulmones y corazón de ratón como mayores o equivalentes a los niveles pico para BMO y sugiere que "la formación de BDE puede ser más importante que la formación de BMO en la carcinogenicidad última de BD." (Ex.118-13) Sin embargo, los niveles de BMO en estos órganos también fueron bastante altos y fueron más altos que los niveles de BDE en sangre y médula ósea, los órganos blanco para los cánceres del sistema hematopoyético. OSHA cree que la evidencia no es suficiente para desechar la contribución potencial del BMO a la carcinogenicidad de ratones, ratas o humanos; para concluir que el BDE debe ser considerado más activamente carcinógeno que el BMO; o para hallar que los niveles de BDE están suficientemente caracterizados en tejidos de ratón o humano para ser usados como la métrica de dosis para el avalúo del riesgo humano a BD.

Así, OSHA concluye, basado sobre el cuerpo de evidencia metabólica y otra evidencia presentada, y la discusión anterior, que el ratón es el modelo animal apropiado para propósitos de avalúo de riesgo de cáncer debido a BD para humanos, y que el metabolismo de BD a metabolitos activos es probablemente necesario para carcinogenicidad. Sin embargo, aunque la toma, distribución y metabolismo de BD a agentes carcinogénicos activos son importantes, las reacciones metabólicas locales a BD y sensibilidades específicas de especie parecen tener al menos un impacto tan grande sobre la potencia del BD en las varias especies. Esto es probable que sea especialmente cierto en el humano, cuyo proceso metabólico parece ser mucho más variable que con respecto a BD. Así, aunque los estudios de metabolismo proveen discernimiento sobre los procesos metabólicos del BD en varias especies y órganos (con la posible excepción de tumorigenicidad pulmonar de ratón relacionada con los niveles pulmonares de BDE y eslabonado cruzado de proteínas), OSHA halla que quedan demasiadas preguntas sin contestar, ambos con los esfuerzos de modelado de PBPK y con las mediciones actuales *in vivo* (y la falta de mediciones en humanos), para basar un avalúo de riesgo cuantitativo sobre la equivalencia de nivel de metabolito de BD entre ratones y humanos. (Ex. L-132)

VI. Avalúo de Riesgo Cuantitativo

A. Introducción

En 1980, el Tribunal Supremo de los EEUU reglamentó sobre la necesidad de un avalúo de riesgo en el caso de *Industrial Union Department, AFL-CIO v. American Petroleum Institute*, 448 U.S. (607), la "Decisión de Benceno." El Tribunal Supremo de EEUU concluyó que la Ley de Seguridad y Salud Ocupacional (OSH), requiere, antes de la emisión de una norma, que la nueva norma esté basada sobre evidencia substancial en el expediente considerada como un entero, de que hay un riesgo significativo de daño a la salud en los límites de exposición permisible (PELs) actuales, y que la emisión de la norma reducirá significativamente o eliminará el riesgo. El Tribunal declaró que, antes de que el Secretario del Trabajo pueda promulgar alguna norma de seguridad o salud permanente, se le requiere hacer un hallazgo umbral de que el lugar de empleo es inseguro en el sentido de que hay riesgos significativos presentes y pueden ser eliminados o disminuidos mediante un cambio en prácticas. (448 U.S. 642)

En 1981, la reglamentación del Tribunal sobre la Norma de Polvo de Algodón de OSHA (*American Textile Manufacturers Institute v. Donovan*, 452 U.S. 490 (1981)) reafirmó su posición anterior en la Decisión de Benceno, de que un avalúo de riesgo no sólo es apropiado, sino que a OSHA se requiere identificar riesgos a la salud significativos a los trabajadores y determinar si una norma propuesta alcanzará una reducción en riesgo, y OSHA como asunto de política está de acuerdo con que los avalúos deben ponerse en términos cuantitativos a la extensión posible.

Para esta reglamentación, OSHA ha conducido un avalúo de riesgo cuantitativo para estimar el exceso de riesgo para cáncer y consecuentemente para muertes prematuras asociadas con la exposición a un promedio de tiempo ponderado (TWA) de ocho horas, cinco días/semana, 50 semanas/año, 45 de exposición a BD en concentraciones que varíen de 0.1 a 5 ppm, el alcance de los límites de exposición permisibles (PELs) considerados por OSHA en esta reglamentación. Los datos usados en el avalúo de riesgo cuantitativo fueron de un estudio de inhalación un Programa de Toxicología Nacional (NTP), en el cual se expuso ratones B6C3F₁ de ambos sexos a aire ambiental o a concentraciones de exposición de BD que variaron desde 6.25 a 200 ppm, conocidas

como NTP II. (Ex.90) Para siete combinaciones de sitio género-tumor; se ajustó modelos Weibull multietapa a estos datos NTP II. Los modelos fueron elegidos via una prueba de razón de bitácora-probabilidad.

El estimado de máxima probabilidad (MLE) de OSHA del exceso de riesgo de desarrollar cáncer y la subsiguiente muerte prematura como resultado de una exposición ocupacional vitalicia a un TWA de ocho horas a 2 ppm de BD, el PEL propuesto por OSHA en 1990 fue 16.2 por 1,000 trabajadores, basado sobre la combinación de sitio género-tumor, tumores pulmonares en ratones hembras. Si el nivel de exposición promedio de tiempo ponderado (TWA) de ocho horas vitalicio es bajado a 1 ppm de BD, basado sobre los tumores pulmonares en ratones hembras, el estimado de exceso de cáncer y muerte prematura baja a 8.1 por 1,000 trabajadores. En otras palabras, una reducción en exposición ocupacional vitalicia a un TWA de ocho horas de 2 ppm a 1 ppm de

BD se espera que evite, en promedio, ocho casos adicionales de cáncer y probables muertes prematuras por 1,000 trabajadores expuestos. Basado sobre los datos de dosis-respuesta de sitio de tumor, los cuales están mejor caracterizados por un modelo de tiempo-a-tumor Weibull de 1 etapa (macho-linfoma, macho-pulmón, hembra-linfoma y ovárico), en promedio se esperaría que hubiera entre 1 y 6 casos de exceso menos de cáncer por 1,000 trabajadores basado sobre una exposición ocupacional vitalicia a un TWA de ocho horas a BD a 1 ppm versus BD a 2 ppm. Los estimados de muertes por leucemia en el antiguo TWA de ocho horas PEL de 1,000 ppm de BD, para una vida de trabajo ocupacional, no están presentados debido a que las exposiciones contemporáneas a BD generalmente están muy por debajo de este nivel.

B. Avalúo de riesgo carcinogénico

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

La selección de datos provee la plataforma para avalúo de riesgo cuantitativo (QRA). Ya sean los estudios con animales que evalúan la relación dosis-respuesta entre la exposición a BD y tumorigénesis o dosis-respuesta epidemiológica pueden ser fuentes de datos apropiadas.

Los estimados de riesgos cuantitativos para humanos pueden estar basados sobre la experiencia con animales de un estudio de exposición vitalicia crónica. Los bioensayos de inhalación vitalicia crónica con ratas y ratones generalmente duran dos años o dos terceras partes del alcance de la vida del animal. (Ex.114) Estos tipos de estudio proveen discernimiento sobre la naturaleza de la relación entre la concentración de exposición, duración y respuesta bajo un ambiente controlado. Más aún, algunos investigadores han estimado una variedad de medidas de dosis de BD, incluyendo dosis inhalada y absorbida, así como metabolitos de BD, para estimar los riesgos humanos basados sobre la relación dosis-respuesta observada de los animales en el bioensayo; la forma de la dosis usada en un análisis de dosis-respuesta se llama dosis-métrica.

La carcinogenicidad de la inhalación vitalicia de BD fue estudiada en las ratas Sprague-Dawley por el Informational Institute of Synthetic Rubber Producers (IISRP) y en ratones B6C3F₁ por el National Toxicology Program. El IISRP auspició un bioensayo de inhalación de dos años de ratas Sprague-Dawley realizado en Hazelton Laboratories Europe (HLE). (Ex. 2-31) Grupos de 110 ratas Sprague-Dawley hembras y machos fueron expuestos seis horas al día, por cinco días a la semana a 0, 1,000 o 8,000 partes por millón (ppm) de BD. Los machos fueron expuestos por 111 semanas y las hembras por 105 semanas. Se halló índices significativamente aumentados de tumores en las ratas machos y hembras. Entre las ratas machos expuestas, hubo un aumento en ocurrencia de tumores pancreáticos y testiculares, y entre las hembras expuestas hubo incidencia más alta de tumores uterino, de la glándula Zymbal, mamarios y tiroideos que en los grupos de control.

El National Toxicology Program (NTP) ha realizado dos bioensayos de inhalación crónica usando

ratones B6C3F₁. (Ex.23-1;90;96) El primer estudio, NTP I, tenía la intención de ser un bioensayo de dos años, exponiendo a grupos de 50 ratones machos y hembras a 0, 625 o 1,250 ppm de BD por seis horas al día, cinco días/semana. El estudio fue prematuramente abreviado a las 60 semanas para los machos y 61 semanas para las hembras causado por una incidencia de mortalidad de cáncer inusualmente alta debida a neoplasmas malignos en múltiples órganos. A pesar de algunas debilidades en la manera en que fue conducido el estudio, los resultados muestran que el BD es claramente carcinogénico en estos ratones, con aumentos estadísticamente significativos en linfomas malignos, hemangiosarcomas cardíacos, tumores pulmonares y tumores de "forestomach" en comparación con los controles para los ratones machos y hembras expuestos. (Ex.90)

El segundo bioensayo de inhalación crónica NTP BD, NTP II, tenía grupos de 70 (excepto por el grupo expuestos a la más alta concentración, que contenía 90), ratones machos y hembras expuestos a concentraciones de 0, 6.26, 20, 62.5, 200 y 625 ppm por seis horas /día, cinco días/semana por hasta 104 semanas. El bioensayo NTP II proveyó exposiciones más bajas, más cerca de los niveles de exposición ocupacional prevaleciente que los estudios de inhalación crónica NTP I y HLE. El NTP II sostuvo el patrón de respuesta carcinogénica hallado en NTP I. Los ratones machos y hembras expuestos a BD desarrollaron tumores en múltiples sitios, incluyendo: linfomas, hemangiosarcomas cardíacos y tumores pulmonares, tumores del hígado, "forestomach" y la glándula Harderian (una glándula lacrimal accesoria en la esquina interior del ojo en los animales; son rudimentarias en el hombre). Los tejidos reproductores también fueron adversamente afectados. Entre los machos expuestos hubo aumentos significativos en tumores de la glándula prepuccial; entre las hembras hubo aumentos significativos de tumores ováricos y mamarios.

En 1996, un estudio de grupo retrospectivo fue sometido a OSHA por Delzell y sus colaboradores de alrededor de 18,000 hombres que trabajaron en plantas de goma sintética de Norteamérica. (Ex. 117-1). En estudio los investigadores derivaron los estimados de la exposición ocupacional a BD usando una variedad de recursos, tal como historiales de trabajo, datos de ingeniería, notas de producción y las memorias institucionales de los empleados. En su informe del 2 de diciembre de 1995, Dr. Delzell et al. caracterizaron sus esfuerzos como sigue:

Se hizo estimación de la exposición cuantitativa retrospectiva para aumentar el poder del estudio para detectar las asociaciones y para asistir con el avalúo del impacto de los niveles de exposición específicos sobre mortalidad debida a leucemia y otros cánceres linfopoyéticos. (Ex. 117-1)

En abril de 1996, el Dr. Delzell expresó preocupación por las posibles discrepancias entre las exposiciones estimadas acumulativas y las mediciones actuales. (Ex. 118-2) OSHA cree que en un estudio bien conducido, los estimados de exposición retrospectiva pueden ser razonablemente sustituidos por exposiciones verdaderas; la mala clasificación o incertidumbre pueden disminuir la precisión de los estimados de riesgo derivados de un estudio tal, pero el problema debe ser severo

difundido para invalidar los hallazgos básicos.

Al tiempo de la publicación de la norma propuesta sobre exposición ocupacional a BD (agosto de 1990), sólo los bioensayos NTP I de ratón y HLE de rata estaban disponibles para avalúos de riesgo cuantitativo (QRA). En la Tabla V-9 se presenta una lista de la autoría y la serie de datos usada en varios QRAs sometidos al sumario de OSHA. Con una excepción, el resto de los QRAs en el sumario de BD se han basado sobre bioensayos de exposición vitalicia crónica de animales. Cada uno de los cinco avalúos de riesgo discutidos en la propuesta basó su avalúo de riesgo cuantitativo sobre uno o ambos de los bioensayos de exposición más alta crónica (los grupos expuestos a concentraciones de BD variaron entre 625-8,000 ppm). (Exs. 17-5; 17-21; 23-19; 28-14; 29-3; 32-27) Los tres QRAs conducidos usando datos de bioensayos subsiguientes a la publicación del estudio NTP II usaron datos del NTP II con exposiciones de 6.25-625 ppm de BD, más cerca a las exposiciones ocupacionales actuales, para calcular sus mejores estimados de riesgo. (Exs. 90; 118-1b; 32-16)

A continuación un sumario de los diez QRAs:

Tabla V-9-Tabla sumaria de avalúos de riesgos cuantitativos (QRAs) en orden de su revisión en la norma de BD de OSHA

Exhibit	Author	Data-set
90.....	Natinal Institute for Occupational Safety and Health (NIOSH) (Preliminary).	NTP II ^a bioassay (preliminary).
118-1b.....	NIOSH.....	NTP II bioassay.
118-1.....	NIOSH.....	Delzell et al. Epidemiological study.
17-21.....	United Statel EPA Carcinogen Assessment Group (CAG).....	NTP I ^b and HLE ^c bioassys; Epidemiological based on Fajen Exposure Data.
32-27.....	California Occupational Health Program (COHP) of the California Department of Health services CDHS).	NTP I; HLE bioassays Epidemiological based on Fajen Exposure Data
32-16.....	Shell Oil Corporation.....	NTP I, NTP II and HLE bioassays.
17-5.....	United States EPA Office of Toxic Substances (OTS).....	NTP I biossays.
23-19.....	ICF/Clement Inc.....	NTP I biossays.
29-3.....	Center for Technology, Policy, and Industrial Development at the Massachusetts Institute of Technology.	NTP I and HLE biossays.
28-14.....	Environ Inc.....	HLE biossay.

^a NTP II, The National Toxicology Program, Technical Report 434, bioensayo de dos años de ratones B6C3F₁ a cinco grupos de exposición que recibieron entre 6.25 y 625 partes por millón (ppm) de BD

^b NTP I, The National Toxicology Program, bioensayo a largo tiempo prematuramente terminado de ratones B6C3F₁ a dos grupos que recibieron 625 o 1,200 ppm de BD.

^c HLE, Hazelton Laboratories Europe, bioensayo vitalicio de ratas Sprague Dawley, los grupos expuestos recibieron

1,000 ppm de BD u 8,000 ppm de BD.

Avalúos de riesgo cuantitativo de NIOSH basado sobre NTP II

A principio de los '90, se condujo dos QRAs secuencialmente por el National Institutes for Occupational Safety and Health (NIOSH). Uno fue preliminar y el otro final, con el último usando datos de patología final para sarcomas histiocíticos y un tipo particular de linfoma de NTP II. En 1991, NIOSH sometió un QRA preliminar usando los datos de patología de tumor de NTP II preliminar para varios sitios de órganos individuales (8 de los ratones hembras y 6 de los ratones machos), para estimar el exceso de riesgo de cáncer a diferentes exposiciones de BD durante una vida de trabajo. (Ex. 90) Para todos los análisis de sitios género-tumor, NIOSH excluyó el grupo de exposición a 625 ppm en su mejor estimado de riesgo ya que la plétora de tumores⁶ en competencia en este grupo de alta exposición provee menos información para análisis de dosis-respuesta de sitios de tumor individuales que los datos de algunos de los grupos de más baja exposición. Otra razón para la exclusión fue que la relación dosis-tiempo-respuesta en ratones está saturada para exposiciones sobre 500 ppm y que los datos así proveerían muy poca información adicional para extrapolación de baja dosis. El QRA de NIOSH se basó sobre la conversión alométrica de peso de cuerpo al tres cuartos de potencia $(\text{mg}/\text{kg})^{3/4}$, e igualó un ratón de 900 días a un humano de 74 años. Para evitar la duplicación de los riesgos, NIOSH presentó sólo estimados de probabilidad máxima basado sobre el agregado de todos los tipos de linfomas aunque los datos de respuesta también estaban disponibles para la subserie de linfoma linfocítica.

De las catorce series de datos de sitios de género-tumor, NIOSH modeló para extrapolar los datos animales a los humanos, 12 (86%) resultaron en riesgos excesivo mayores de dos muertes por cáncer por 1,000 trabajadores, dada una exposición ocupacional vitalicia de TWA de ocho horas a 1 ppm de BD. Los estimados de riesgos de exceso a los trabajadores basado sobre los modelos de mejor ajuste para cada una de las seis relaciones de tiempo-respuesta para sitios de tumor en machos fueron entre 0.4 y 15.0 por 1,000 trabajadores asumiendo una exposición ocupacional de 45 años a un TWA de ocho horas, a 1 ppm de BD. Entre los estimados basados sobre los datos de dosis-respuesta de ratones, los estimados de exceso de riesgo más alto y más bajo fueron de hemangiosarcoma cardíaco y de la relación dosis-respuesta de la glándula Harderian, respectivamente. Para estimados de exceso de riesgo basado ya sea sobre la serie de génerode las relaciones dosis-respuesta de tumor individual, sólo los datos de hemangiosarcoma cardíaco predijeron un riesgo de menos de 1 por 1,000 trabajadores con una exposición ocupacional vitalicia de 1 ppm; estos datos predijeron 0.4 y 3×10^{-3} de casos de exceso de cáncer por 1,000 trabajadores basado sobre los modelos mejor ajustados para ratones machos y hembras, respectivamente.

Basado sobre el los sitios de tejido en hembras, los estimados de exceso de riesgo para una exposición ocupacional vitalicia a 1 ppm de BD variaron entre 4 y 31 por 1,000 trabajadores.

NIOSH presentó sus hallazgos para la exposición vitalicia a 2 ppm como sigue:

Basado sobre los tumores en los sitios más sensibles., el pulmón del ratón hembra (asumiendo conversión de $(\text{mg}/\text{kg})^{3/4}$), nuestros estimados de probabilidad máxima del riesgo humano aumentado proyectado de cáncer debido a la exposición ocupacional vitalicia a BD a un TWA PEL de 2 ppm es aproximadamente 60 en 1,000 (trabajadores). (Ex. 90)

Para los modelos lineales, si la escala fuera sobre las bases de (mg/kg) en vez de sobre $(\text{mg}/\text{kg})^{3/4}$ usado por NIOSH para conversión alométrica, el estimado revisado de riesgo de cáncer excesivo para una vida de exposición ocupacional TWA de ocho horas a BD disminuiría aproximadamente seis veces a 9.2 por 1,000 trabajadores basado sobre los mismos datos de tumor pulmonar de ratón hembra.

En 1993, NIOSH finalizó sus estimados de exceso de riesgo causado por la exposición ocupacional basado sobre la experiencia de tumorigénesis de los ratones en el estudio NTP II (Ex. 118-1B). Los estimados de probabilidad máxima redondeados (MLE) del QRA final están presentados en la Tabla V-10. NIOSH expandió los sitios género-tumor para incluir sarcoma histiocítico para ratones machos y hembras. NIOSH eligió presentar sólo su estimado de riesgo basado sobre linfoma linfocítico, en vez de un avalúo basado sobre el agregado de linfomas. En los QRAs preliminar y final de NIOSH, los modelos de una etapa tiempo a tumor redondearon los estimados de riesgo asociados con la exposición vitalicia a 1 ppm de BD variaron desde 1 a 30 casos de exceso de cáncer por 1,000 trabajadores, con los estimados basados sobre linfoma linfocítico en machos y los datos de dosis-respuesta pulmonar para hembra proveyendo los extremos superior e inferior del alcance de riesgo, respectivamente.

Como parte de su análisis de sensibilidad, NIOSH derivó los estimados de riesgo basado sobre (1) ecuación de una vida humana a la edad equivalente del ratón de 784 días, una cifra que OSHA ha usado, y (2) igualando una vida humana a una vida de ratón de 900 días (una cifra usada con mayor frecuencia por NIOSH.) Los mejores estimados de riesgo igualando la vida humana a la vida de ratón de 784 días fueron más bajos, en alrededor de un tercio, que aquellos que asumen una equivalencia de vida humana a 900 días para el ratón, todo lo demás constante.

Tabla V-10.-Avalúos de riesgo cuantitativo (QRA) finales de NIOSH^a, Estimados de probabilidad máxima (M.L.E.s)^b por 1,000 trabajadores de exceso de riesgo vitalicio debido a una exposición ocupacional^c a 1 ppm de BD usando los modelos mejor ajustados, según designado por número de etapas del modelo tiempo a tumor Weibull

Sitio género-tumor	MLE, QRA final (etapas)
Ratón macho:	
"Forestomach".....	0.32 (2)
Glándula Harderian.....	10 (1)
Hemangiosarcoma cardíaco.....	0.5 (2)
Sarcoma histocítico.....	8 (1)
Hígado.....	4(1)
Todo linfoma.....	NA
Linfoma linfocítico.....	0.9 (1)
Pulmón.....	10 (1)
Ratón hembra:	
"Forestomach".....	5 (1)
Glándula Harderian.....	7 (1)
Hemangiosarcoma cardíaco.....	3x10 ⁻³ (3)
Sarcoma histiocítico.....	10 (1)
Hígado.....	7 (1)
Todo linfoma.....	NA
Linfoma linfocítico.....	9 (1)
Pulmón.....	30 (1)
Mamario.....	4 (1)
Ovárico.....	9 (1)

^a Basado sobre NTP II, excluyendo la categoría de exposición a 625, igualando un ratón de 900 días a un humano de 74 años y asumiendo una conversión alométrica de (mg/kg)^{3/4}.

^b Redondeado a una cifra significativa.

^c La vida ocupacional es un promedio de tiempo ponderado de ocho horas, 40 horas por semana, 50 semanas por año, promedio de tiempo ponderado (TWA) por 45 años.

QRA del Carcinogen Assessment Group

El Carcinogen Assessment Group (CAG) y el Reproductive Effects Assessment Group de la Office of Health and Environmental Protection Agency en United States Environmental Protection Agency (EPA) también condujeron un avalúo de mutagenicidad y carcinogenicidad de BD. (Ex. 17-21) En su avalúo de riesgo cuantitativo, CAG usó datos de respuesta de machos y hembras de los dos bioensayos crónicos disponibles en ese tiempo, NTP I con ratones B6C3F₁ y el estudio HLE con ratas Sprague-Dawley. El análisis de CAG está basado sobre los procedimientos establecidos por EPA para análisis de riesgo cuantitativo, que ajusta el número total de animales con tumores significativamente aumentados o altamente inusuales con el modelo multietapa linealizado y usa el nivel superior de intervalo de confiabilidad de 95% . Los ratones que murieron antes de la semana 20 y las ratas que murieron durante el primer año del estudio (antes de la observación del primer tumor), fueron eliminados del análisis para ajustar para mortalidad

diferencial no tumor.

La dosis-métrica estuvo basada sobre un informe preliminar por el Lovelace Inhalation Toxicology Research Institute de su estudio de exposición de inhalación en ratones B6C3F₁ y ratas Spregue-Dawley en diferentes concentraciones de BD, algo correspondiente a las concentraciones usadas en NTP I y HLE, con la dosis de BD interno total equivalente expresada como una función de la concentración de exposición. Entonces CAG estimó la cantidad y porcentaje de BD retenido para las varias concentraciones de exposición en estos bioensayos. Estos estimados de dosis interna fueron luego extrapolados a los humanos basado sobre la equivalencia de concentración de ppm en aire animal-humano.

CAG ajustó los estimados de riesgo del estudio de ratón mediante un factor de (duración/vida de estudio)³ para justificar las observaciones de menos de toda la duración de la vida, ya que el estudio NTP I fue prematuramente terminado a las 60 semanas para los machos y a las 61 semanas para hembras debido a la mortalidad por cáncer predominante. CAG extrapoló los datos de la corta duración de la vida de los ratones a una vida de ratón esperada, 104 semanas, para estimar el riesgo vitalicio a los humanos.

CAG estimó todos los riesgos basados sobre la exposición continua a BD, 24 horas al día, 365 días al año, por una vida de 70 años. Los estimados de riesgo de unidad incremental para los ratones hembras fueron ocho veces tan altas como para las ratas hembras; para los machos, el estimado de riesgo de unidad incremental para ratones fue alrededor de 200 veces tan alto como para las ratas. El estimado de riesgo de unidad incremental de CAG de 0.64 (ppm)⁻¹ está basado sobre la media geométrica de los estimados de curva de límite superior para ratones hembras y machos y predeciría un límite superior de cánceres de exceso de 640 por 1,000 personas expuestas a 1 ppm continuamente durante toda su vida, 70 años. Extrapolando este mismo estimado a una vida de trabajo de 45 años equivalente de 240 días de trabajo por año a una exposición TWA de ocho horas de 1 ppm de BD resultaría en un estimado de riesgo de límite superior de 90 cánceres en exceso por 1,000 trabajadores. Si se asume que el día de trabajo requiere la mitad (10m³), del volumen de flujo diario, la cantidad total de inhalación de aire, el exceso sería 135 cánceres por 1,000.

California Occupational Health Program (COHP) QRA

En 1990, cinco años después de que CAG condujera su avalúo de cuantitativo, el California Occupational Health Program (COHP), produjo su estimado de riesgo con un avalúo de la carcinogenicidad de BD similar, usando los mismos bioensayos disponibles, con información más reciente sobre el riesgo de BD en humanos, modelado farmacocinético (PK) y eficiencia de absorción de baja exposición de animales. (Ex.32-16) Usando dos dosis-métricas separadas para cada bioensayo y modelos multietapa para categorizar la relación dosis-respuesta básica, CAG presentó varios estimados cuantitativos de riesgos de unidad vitalicia incremental. Los modelos

multietapa de respuesta vitalicia cuántica fueron ajustados a los datos. COHP, como NIOSH, usaron los datos individuales con un modelo multietapa Weibull tiempo-tumor para caracterizar

la relación dosis-respuesta. COHP declaró que también ajustó modelos Mantel-Bryan y log-normal a los datos, y que los modelos multietapa dieron un mejor ajuste; los resultados obtenidos con estos otros modelos no fueron informados.

COHP llevó a cabo cálculos sobre cada sitio de tumor primario separadamente y también hizo cálculos sobre el grupo de tumores primarios que mostraron incidencias de tumores significativamente aumentadas. Para su dosis-métrica principal, COHP refinó el enfoque de CAG, usando un estimado revisado de absorción de baja exposición vía inhalación. COHP también incluyó un estimado del modelo PK de los metabolitos de monoóxido de BD, pero desenfató su uso declarando que eran presentados "con propósitos de comparación, solamente." La tercera dosis-métrica fue la conversión directa de ppm para especies de animales a humanos (ajustando para la duración de exposición). COHP declaró:

(COHP) siguió la práctica estándar de EPA y asumió que una cierta concentración de exposición en ppm o mg/m³ en animales experimentales fue equivalente a la misma concentración de exposición en humanos. (Ex. 32-16)

Al igual que CAG, COHP también ajustó para supervivencia de menos del alcance de vida en el estudio de ratones NTP I, pero usando un poder de tiempo cúbico (duración del estudio/vida)³. El ajuste de estimado de potencia de COHP para el estudio de ratones machos con supervivencia de 60 semanas fue 5.21; para la supervivencia de 61 semanas de los ratones hembras el ajuste fue 4.96.

Con todas las combinaciones de sitio, especies, sexos, modelos y dosis-métricas, COHP presentó sobre 60 estimados de potencia para la rata y sobre 100 para el ratón. Al igual que con CAG y otros análisis, los análisis basados sobre NTP I fueron típicamente de uno a dos órdenes de magnitud mayores que aquellos basados sobre la rata para modelos dosis-métrica y tumores totales. COHP eligió los estimados basados sobre los ratones machos como indicadores finales del riesgo humano basado sobre la "calidad superior del estudio de ratón." De estos estimados, usando la forma cuántica del modelo multietapa, COHP eligió "el extremo superior para riesgo de exceso de cáncer posible para humanos." El estimado de potencia de cáncer final de COHP de 0.32 (ppm)⁻¹ presentado en unidades de exposición vitalicia continua, está basado sobre todos los tumores significativos en el ratón macho y usa el factor de conversión de dosis equivalente de BD interno de 0.54 mg/kg-d/ppm para el ratón y equivalencia de ppm animal-humano. El estimado de potencia final de COHP fue la mitad del valor de 0.64 (ppm)⁻¹ calculado por el CAG; la diferencia es debida mayormente a una modificación de absorción de baja exposición por COHP. El factor de potencia de exposición vitalicia continua se convierte a un riesgo de vida de trabajo de 45 a 67 cánceres en exceso por 1,000 trabajadores expuestos a 1 ppm de BD a un TWA de ocho horas

durante una vida de trabajo de 45 años.

COHP, al igual que CAG, intentaron determinar si su extrapolación de riesgo basada sobre animales pudiera predecir la mortalidad por leucemia observada en los estudios de epidemiología. Siguiendo el enfoque empleado por CAG en sus análisis del estudio Meinhardt (1982), el COHP comparó sus estimados de riesgo de los bioensayos a los entonces más recientes estudios epidemiológicos de Downs et al. (1987) y Matanoski y Schwartz (1987). Ambos COHP y CAG usaron MLEs basados sobre linfoma de ratón para comparar los estimados de potencia derivado de animal con la respuesta ocupacional. Además, ni COHP ni CAG usaron el factor de ajuste hacia arriba de aproximadamente 5 para corregir para la duración de menos que vitalicio del NTP I. Debido a que ninguno de estos estudios epidemiológicos (Downs et al. (1987) o Matanoski y Schwartz (1987) tenían estimados de exposición registrados, el COHP se basó sobre los estimados de TWA de ocho horas de 1 y 10 ppm tomados en plantas diferentes pero similares informados por Fajen et al. (1986). Para estimados de riesgo de unidad vitalicia, COHP usó el MLE inicial de $0.0168 \text{ (ppm)}^{-1}$ derivados del análisis de linfoma de ratón macho, sin ajustar para supervivencia menor que el alcance de la vida. Esta parte del análisis también asumió que un resultado linfocítico en los animales equivaldría a la muerte por leucemia en humanos. Estas asunciones resultaron en un alcance de 6 a 21 muertes por cáncer linfocítico predichas (para exposiciones de 1 y 10 ppm), versus las 8 observadas por Downs et al.

Office of Toxic Substances (OTS) QRA

La Office of Toxic Substances (OTS), U.S. Environmental Protection Agency (EPA), condujo un avalúo de riesgo cuantitativo usando sólo los datos de NTP I (Ex.17-5) Las razones citadas para esta elección incluyen: (1) El ratón es una especie más sensible a pruebas para BD que la rata; (2) se había hecho una revisión de control de calidad para el bioensayo de ratón al tiempo en que OTS escribió su avalúo de riesgo, mientras no hubo ninguno disponible para el bioensayo de ratas; (3) hubo mayor cantidad de datos histopatológicos para el estudio NTP I que para el estudio de HLE de ratas; y (4) el tipo de pienso usado por NTP I tenía una concentración dimer que el BD usado por HLE (la concentración de dimer aumentada resulta en la baja de disponibilidad de BD para el metabolismo a los mono- y diepóxidos, que se piensa que sean los agentes carcinogénicos). Para compensar por la terminación temprana del estudio NTP I, OTS ajustó dosis por un factor de (duración de estudio/vida)³. La concentración de exposición de ppm de Butadieno fue usada como la medida de dosis y la extrapolación de especies ratón a humano también fue sobre las bases de equivalencia a ppm. OTS estimó riesgos de cáncer basado sobre hemangiosarcoma cardíaco y tumores agrupados (agrupamiento de sitios que muestran niveles de incidencias elevadas estadísticamente significativas), usando un modelo cuántico de una etapa. Las exposiciones de lugar de trabajo fueron luego convertidas a dosis diaria promedio vitalicia estimada. Ya que el estudio NTP I fue interrumpido a las 61 semanas, las incidencias de tumor ajustadas para supervivencia mediante métodos de tabla de mortalidad. Los riesgos de cáncer estuvieron basados sobre la dosis de BD administrada y no la dosis suministrada a los varios órganos blanco. (Ex.

17-5) Los estimados de 95% de límite de confiabilidad superior para el exceso de riesgo de cáncer debido a una exposición vitalicia de ocupacional a un TWA de ocho horas de 1 ppm de BD, por 240 días/año por 40 años, variaron entre 10 y 30 por 1,000 trabajadores, basado sobre la incidencia de tumores agrupados para animales hembras y machos, respectivamente.

Estimados ICF/Clement

En 1986, ICF/Clement (ICF) estimaron el riesgo de cáncer asociado con la exposición ocupacional a BD. (Ex. 23-19) ICF determinó que sólo los datos del NTP I eran apropiados para un avalúo de riesgo basado sobre datos animales. (los datos de NTP II no estuvieron disponibles en ese tiempo), basado sobre la preocupación de ICF/Clement por las discrepancias entre las estadísticas sumarias de HLE y los contajes individuales. ICF ajustó un modelo cuántico multietapa linealizado a los datos de NTP I. Basado sobre un estudio preliminar por Bond (un toxicólogo con antigüedad del Chemical Industry Institute of Toxicology), ICF ajustó las concentraciones de exposición NTP I para retención de porciento, que variaron inversamente de 100% a 1 ppm a 5% a 1,000 ppm.

ICF asumió ppm como la dosis-métrica apropiada y ppm a ppm como factor de extrapolación de especies ratón a humano. (Exs. 23-86; 23-19) Los estimados de riesgo de límite de confiabilidad del 95% superior basado sobre los datos de tumores femeninos agrupados con una exposición ocupacional vitalicia fue 200 por 1,000 trabajadores a 1 ppm de BD, y 400 por 1,000 trabajadores a 5 ppm de BD; la desproporción refleja la asunción de retenciones de porcentajes más bajos en concentraciones más altas.

Massachusetts Institute of Technology (MIT) QRA

Hattis and Wason en el Center for Technology, Policy and Industrial Development en MIT condujeron un análisis con base farmacocinética/mecanismo del riesgo carcinogénico asociado con BD. (Ex. 29-3) El análisis incluye datos de ambos HLE y NTP I. Los elementos clave, tales como coeficiente de división para sangre/aire y tejido/sangre, no estuvieron disponibles para ser medidos y tuvieron que ser estimados. El mejor estimado de exceso de riesgo de cáncer dada una vida de exposición ocupacional a un TWA de ocho horas de 1 ppm de BD fue 5 por 1,000 trabajadores basado sobre la serie de datos de NTP I de ratones hembra, incorporando modelos farmacocinéticos que establece el coeficiente de división sangre/aire de 0.2552. Basado sobre la data de HLE en rata hembras con coeficiente de division sangre/aire de 0.2552, un exceso de riesgo se estimó que sea 0.4 casos de cáncer adicionales por cada 1,000 en una exposición ocupacional vitalicia de TWA de ocho horas, a 1 ppm de BD.

Environ QRA

Environ condujo un avalúo de riesgo cuantitativo basado sobre los datos de bioensayo de ratas HLE. (Ex. 28-14) Environ señaló que las concentraciones relativamente altas de BD de los bioensayos anteriores (HLE con grupos expuestos a 8,000 y 1,000 ppm de BD y NTP I con exposiciones de 1,250 y 625 ppm de BD), hizo difícil extrapolar los riesgos a los niveles de exposición más bajos relevantes de BD en los escenarios ocupacionales. Environ declaró que entre los raones B6C3F₁, la saturación metabólica ocurre con concentraciones de BD TWA de ocho horas mayores de 500 ppm; así, la relación dosis-respuesta es diferente en dosis más altas que en dosis más bajas. Environ declaró que los problemas metodológicos y la alta mortalidad temprana mostrada en los datos del NTP I contribuyeron a la incertidumbre de su relevancia a los riesgos humanos y por lo tanto eligió usar los datos del bioensayo HLE de ratas en su lugar. Environ cree que el metabolismo humano del BD es más similar al de las ratas Sprague-Dawley que en el ratón B6C3F₁. Los riesgos extrapolados estuvieron basados sobre estimados de dosis absorbida, expresados en mg/kg, según definido en el estudio de absorción de Bond et al. (1986) . (Ex. 23-86)

Environ usó las ratas hembras del HLE para estimar el riesgo de vitalicio extra de desarrollar cáncer dada una exposición de vida ocupacional de TWA de ocho horas a 1 ppm de BD. Usando MLEs de modelos multietapa, Weibull y Mantel-Bryan, basado sobre el número total de ratas hembras con tumores significativamente aumentados, los vitalicios ocupacionales predichos por Environ fueron 0.575 (Multietapa), 0.576 (Weibull), y 0.277 (Mantel-Bryan), por 1,000 trabajadores.

Shell Oil Company QRA

Shell Oil company estimó exceso de riesgos de cáncer mediante modelos cuánticos multietapa y Weibull tiempo-tumor basados sobre hemangiosarcomas cardíacos femeninos y tumores masculinos agrupados del estudio NTP II. Shell estimó los riesgos humanos basado sobre varias asunciones, corrigiendo para la retención de BD y/o dosis de epóxido humana relativa. Shell declaró que el modelo Weibull tiempo-tumor caracteriza mejor los riesgos ya que podía usar por completo los datos disponibles de dosis respuesta, incluyendo el tiempo hasta el comienzo de los tumores y el período de latencia (tiempo desde el inicio hasta la detección del tumor). (Ex. 32-27) Shell uso:

* * * datos tiempo-a-tumor crudos consistentes en muertes tempranas hasta 40 semanas, sacrificios intermedios a las 40 semanas, muertes a las 65 semanas, sacrificios intermedios a las 65 semanas, muerte a las 104 semanas y sacrificios terminales * * * en lugar de datos individuales de los animales [para datos NTP II]. (Ex. 32-27)

OSHA cree que la verdadera relación de dosis-respuesta está oscurecida por el uso de Shell de

datos crudos de tiempo-a-tumor y su agrupación de muertes tempranas a las 40 semanas, muertes a las 65 semanas y muertes a las 104 semanas; en vez, los datos de tumor dosis-respuesta para cada ratón individual debieron haberse usado.

Shell no explicó por qué eligió un modelo en vez de otro. Por ejemplo, sin explicación, Shell eliminó el grupo de más alta exposición, 625 ppm, al estimar el riesgo ocupacional vitalicio para todos sus modelos Weibull tiempo-a-tumor y eliminó los grupos de dosis adicional al usar algunos modelos cuánticos multietapa. Más aún, los estimados de exceso de riesgo fueron presentados sólo para los modelos Weibull tiempo-a-tumor de cinco etapas, aunque no hay discusión de las especificaciones del modelo correcto. Por ejemplo, no se dió razones para elegir el modelo de

cinco etapas en vez de otro. Shell tampoco sostiene su estimación de que la latencia entre la inducción del un tumor y su observación sea para los tumores malignos de ratones hembras agrupados y 40 semanas para hemangiosarcomas cardíacos de ratones hembras.

Basado sobre el análisis de Shell, la extrapolación de los tumores malignos de ratones hembras agrupados, asumiendo 10% de eficiencia de retención de BD humana a 2 ppm, y en un modelo Weibull tiempo-a tumor de cinco etapas, se podría esperar un exceso de 18 cánceres por 1,000 trabajadores dada una exposición ocupacional vitalicia a un TWA de ocho horas de 2 ppm de BD.

Basado sobre la misma serie de datos, pero asumiendo un factor de conversión de ratón a humano basado sobre una razón de epóxido de 590 (ratón a mono), además de un factor de eficiencia de retención de 10% de BD, el estimado de riesgo de cáncer baja a 0.3 casos por 1,000 trabajadores con una exposición ocupacional vitalicia a un TWA de ocho horas de 2 ppm. Usando los tumores malignos de los ratones hembras agrupados, pero asumiendo los estimados de epóxido en sangre del estudio Dahl et al. y una exposición ocupacional vitalicia de un TWA de ocho horas de 2 ppm de BD, el estimado de exceso de riesgo es ligeramente más bajo, 0.24 por 1,000 trabajadores. Los estimados de exceso de riesgo basado sobre hemangiosarcomas femeninos y un modelo Weibull tiempo-a-tumor de cinco etapas y exposición ocupacional vitalicia a 2 ppm de BD fueron: (a) 6.4×10^{-8} (asumiendo un factor de retención de BD de 10%); (B) 6.2×10^{-15} (asumiendo un factor de retención de BD de 10% y una razón de epóxido de 590); y (C) 1.3×10^{-11} (asumiendo los estimados de epóxido en sangre del estudio de Dahl et al.).

Shell también presentó el QRA de Environ Inc. basado sobre el bioensayo de ratas Sprague-Dawley HLE e hizo ajustes similares para la retención de BD y epóxido en sangre aquellos hechos para los datos de los ratones B6C3F₁ NTP II. Al igual que Environ, Shell declaró que la dosis-respuesta de la rata es más relevante que la del ratón en predecir riesgo de cáncer en humanos. Shell concluyó que los estimados de riesgo derivados de los datos de las ratas Sprague Dawley HLE debe darse mayor peso que a aquellos basados sobre los datos de ratón B6C3F₁.

QRA de NIOSH basado sobre el estudio de Delzell et al.

NIOSH estimó el exceso de riesgo de que los trabajadores desarrollaran leucemia basado sobre los estimados preliminares de Delzell et al. de las categorías de exposición ocupacional de un estudio de grupo retrospectivo. (Exs. 117-1; 118-1) NIOSH derivó el exceso de riesgo del modelo mejor ajustado de riesgo relativo (RR), el modelo de raíz cuadrada, como ajuste por Delzell et al, quienes ajustaron para edad, años desde el reclutamiento y período calendario. El modelo final preferido especificado por Delzell et al. fue:

Riesgo Relativo = $1 + 0.17 \times (\text{BD ppm-años})^{0.5}$ Bajo este modelo, los índices de muerte por leucemia específica de edad-cause (ACSDR), son una función de exposición ocupacional acumulativa hasta esa edad. Los ACSDRs ocupacionales son una función multiplicadora de tiempos ACSDR de trasfondo por el aumento relativo causado por BD ($0.17 * \text{BD ppm-años}$), en leucemia. Estos ACSDRs totales fueron entonces aplicados a un programa actuario que ajustaba para riesgos competentes al exceso de riesgo vitalicio estimado de leucemia asociado con las exposiciones ocupacionales a un TWA de ocho horas de 45 años para un número de PELs para BD. Los estimados de índice de trasfondo de leucemia y todas las causas de muerte fueron tomadas de los índices de mortalidad para todos los varones, de 20 a 65 años de edad, del 1989 Vital Statistics of the United States. Este modelo estima el exceso de riesgo de muerte por leucemia, dada una exposición ocupacional de 2 ppm de BD, como 11 por 1,000 trabajadores. Bajar el TWA PEL ocho horas de 1 ppm de BD en promedio, se esperaría que hubiera un exceso de muertes por leucemia de 8 por 1,000 trabajadores durante una vida de trabajo.

En la mayoría de los bioensayos animales, la exposición a carcinógenos químicos usualmente está usualmente asociado con una elevada incidencia de tumor en sólo uno o dos tejidos blanco. El BD es de gran preocupación porque se observó incidencias significativamente aumentadas de tumores en múltiples sitios y dosis en ambos ratas y ratones.

El avalúo de riesgo final de OSHA está basado sobre el bioensayo NTP II. (Exs. 90; 96) En NTP II, los siguientes índices de sitios de tumores fueron elevados: corazón, nódulos linfáticos, glándula Harderian, glándula prepucial, hígado, ovarios y glándula mamaria. El bioensayo NTP II fue preferido sobre el NTP I de ratón y el bioensayo HLE de ratas por varias razones. Primero, la mayoría de los niveles de exposición para NTP II (6.25, 20, 62.5 y 200 ppm) fueron más cercanos a los niveles de exposición ocupacional que los de los bioensayos (625; 1,000 y 8,000 ppm); los estudios con concentraciones más altas de lo característico pueden llevar a dificultades en extrapolar los efectos a las concentraciones más bajas de BD que ocurren característicamente en escenarios ocupacionales actuales. Más aún, (625 a 8,000 ppm), sobre el nivel de saturación metabólica de 500 ppm, las dosis biológicamente efectivas no son proporcionales a las concentraciones de exposición de ppm. Segundo, los ratones del NTP II fueron exitosamente divididos a grupos de exposición al azar y sus informes de patología individuales fueron consistentemente codificados. La división al azar de la población de ratones de bioensayo lleva a la validez interna del estudio a través de la composición similar de los grupos experimentales y de

control. Tercero, se siguió Buenas Prácticas de Laboratorio, según verificado por auditorías. Cuarto, hubo una clara relación dosis-respuesta para varios sitios de cáncer. Quinto, ya que el mecanismo carcinogénico es aún desconocido, OSHA estima conservadoramente el exceso de riesgos a humanos basado sobre la experiencia de las especies animales más sensibles a menos que haya evidencia específica que indique que la elección de la especie es inapropiada. Sexto, los resultados de avalúos de riesgos basados sobre los hallazgos preliminares de los estudios epidemiológicos más recientes sugieren que el ratón B6C3F₁ es una especie razonable para usarse para avalúo de riesgo cuantitativo. (Ex. 118-1)

Para su avalúo de riesgo, OSHA ha enfocado exclusivamente sobre esos sitios de tumor que sean científicamente pertinentes. Del estudio de NTP II, el alcance de exceso de riesgo por cáncer asociado con la exposición ocupacional vitalicia a BD se estima que esté basado sobre la relación dosis-respuesta de cuatro tejidos como blanco, tres comunes a ambos géneros: Corazón (hemangiosarcoma), pulmón y linfoma, y uno, tumores ováricos, observados en un género solamente. El enfoque de OSHA sobre estos cuatro tejidos como blanco está basado no sobre una objeción al uso de otros tumores de tejido y sitios, sino sobre el juicio de que los sitios de animales seleccionados son apropiados porque incluyen tumores raros (e.g., hemangiosarcoma cardíaco), y tumores comunes (e.g., pulmón) y aquellos sitios con baja incidencia (hemangiosarcoma delcorazón) y las más altas incidencias (linfáticos).

Tres de los órganos como blanco elegidos para el QRA demostraron una incidencia de tumores significativamente elevada en animales machos y hembras; la incidencia de tumor ovárico también fue significativamente elevada en los animales hembra. Para ratones machos y hembras, los hemangiosarcomas cardíacos fueron seleccionados para modelado porque virtualmente no hay incidencia de trasfondo de hemangiosarcoma cardíaco entre los ratones no tratados en la población de control de NTP; sólo 0.04% de los ratones B6C3F₁ desarrolló hemangiosarcoma del corazón, y así cualquier aumento observado en la incidencia del hemangiosarcoma del corazón pudiera ser atribuida a la exposición a BD. (Ex. 114, p.121) Los linfomas linfocíticos de desarrollo temprano causaron que un número significativo de ratones muriera. Por lo tanto, los ratones restantes están en riesgo de desarrollar tumores más tardíos, hemangiosarcoma del corazón. (Ex. 114, p.123) Esta situación es conocida como riesgos en competencia (la falta de oportunidad para tumores de desarrollo posterior se expresen, porque un tumor de desarrollo anterior ya ha causado la muerte del animal. La ocurrencia de hemangiosarcomas cardíacos en el estudio de NTP es aún más notable debido a estos riesgos en competencia.

En ausencia de información farmacocinética definitiva, OSHA ha estimado el exceso de riesgo a humanos basado sobre el sitio de tumor especie-sexo más sensible. Los tumores pulmonares son los sitios más sensibles para los ratones B6C3F₁ hembras y machos, y como tal fueron incluidos en el avalúo de riesgo final de OSHA.

Los tumores ováricos son un ejemplo del grupo de tumores reproductores que también tuvieron

incidencias significativamente aumentadas entre los animales en el bioensayo NTP II. Otras incidencias significativamente aumentadas fueron vistas en tumores testiculares, prepuciales y mamarios.

El riesgo aumentado de desarrollar leucemia que ha sido observado en los estudios epidemiológicos sugieren que los linfomas pudieran ser el sitio de tumor más relevante en animales para estimar el riesgo cuantitativo de cáncer a los trabajadores. Algunos han sugerido que la alta incidencia de linfoma entre ratones B6C3F₁ haberse debido a la presencia del retrovirus murino (MuLV), y han aseverado que la presencia de este virus en los ratones B6C3F₁ puede ser parcialmente responsable de la incidencia de linfomas tímicos. Por ejemplo, en 1990, el Dr. Richad Irons informó:

Una diferencia principal entre los ratones suizos NIH y los ratones B6C3F₁ es su trasfondo retroviral exotrópico respectivo (MuLV) * * * La exposición crónica a BD (a 1250 ppm), por hasta un año resultó en una diferencia cuádruple en la incidencia de linfoma tímico entre los ratones B6C3F₁ y los ratones suizos * * * El rol del retrovirus endógeno (MuLV) en la etiología de la leucogénesis murino químicamente inducida al presente no se comprende. (Ex. 23-24)

El Dr. Melnick del National Toxicology Program testificó durante su declaración de vista pública:

En términos de la diferencia en respuesta entre los ratones B6C3F₁ y los ratones suizos NIH, debe estarse al tanto de que el estudio no es un estudio de cáncer completo. Es una exposición de un año. No sabemos la respuesta completa en el ratón suizo NIH si fue conducido como un estudio de cáncer (alrededor de 2 años). (Tr. 1/16/91, p.382)

Más aún, NIOSH declaró: "No es conocido si el mecanismo de activación de retrovirus es operativo en las concentraciones de baja exposición de 1,3-butadieno [bajo 1250 ppm]." (Ex. 90)

No hay información en el expediente para mostrar que la inserción del retrovirus al ratón B6C3F₁ en el estudio NTP II llevara a la inducción de linfoma. Ni hay información que indique que el retrovirus murino pueda llevar a un aumento en los linfomas inducidos por butadieno en los ratones B6C3F₁. El desarrollo de linfoma tímico en los ratones suizos NIH expuestos a BD que no tienen este virus endógeno argumenta en contra de que el virus solamente induzca los linfomas observados en los ratones B6C3F₁ expuestos a BD. (Ex. 23-104)

Las tablas V-11 y V-12 muestran la descomposición de los tejidos microscópicos examinados incluidos en el QRA de OSHA, por concentración de exposición y disposición de muerte de los ratones machos y hembras. Según ilustrado en las tablas, el examen microscópico varió por tipo de tejido, grupo de exposición, medio de muerte y género. Se hizo exámenes microscópicos de todos los tejidos para todas las muertes naturales y sacrificios moribundos y terminales, irrespectivo del grupo de exposición.

Para cada grupo-exposición-género, 10 animales fueron sacrificados a las 40 y 65 semanas. No se

hizo evaluaciones microscópicas para todos los tipos de tejidos entre los sacrificios intermedios (40 y 65 semanas). Entre los sacrificios tempranos (40 semanas), para los grupos de exposición de 6.25 ppm y 20 ppm, no hubo exámenes microscópicos de los tejidos relevantes. Para los sacrificios femeninos de 65 semanas a los niveles de dosis de 6.25 y 20 ppm, sólo se examinó microscópicamente los tejidos pulmonares y ováricos. No se hizo evaluaciones microscópicas para los machos sacrificados de los niveles de 6.25 ppm, pero al nivel de exposición de 20 ppm, los animales fueron microscópicamente examinados para hemangiosarcoma cardíaco y cáncer pulmonar.

Sacrificios interinos de machos y hembras expuestos a 62.5 ppm de BD no fueron microscópicamente examinados para hemangiosarcoma del corazón.

Sólo las observaciones confirmadas por examen fueron incluidas en el análisis. Entre las muertes naturales para algunas combinaciones de tejido género, hubo algunos animales de los cuales no había tejidos disponibles. La no disponibilidad de tejido fue debida a autolisis (destrucción celular después de la muerte) y falta de tejido debido a la dilación entre el accidente y el descubrimiento.