

Diisononylphthalat (DINP)

(CAS-Nr.: 28553-12-0; 68515-48-0)

Vorbemerkung:

Unter der Bezeichnung DINP finden sich mehrere Produkte, die sich im Verzweigungstyp der Alkoholkette leicht unterscheiden. Zwei CAS-Nummern existieren: CAS-Nr. 28553-12-0 und CAS-Nr. 68515-48-0.

Bei CAS-Nr. 28533-12-0 bestehen mehr als 50% der Alkoholkomponente aus alkylsubstituierten Octanolen und/oder Heptanolen bzw. Hexanolen. Bei CAS-Nr. 68515-48-0 besteht der Alkoholanteil zu etwa gleichen Anteilen nur aus Heptanolen (3,4-, 4,6-, 3,6-, 3,5-, 4,5- und 5,6-Dimethylheptanol-1) und weist damit einen geringeren Verzweigungsgrad auf. Die toxikologischen Daten und Wirkprofile zeigen praktisch keine Unterschiede, so dass die Diisononylphthalate toxikologisch und regulatorisch gleich zu behandeln sind.

A) Mutagene Effekte:

DINP ist durchgängig negativ in allen Untersuchungen zur Gentoxizität.

In-vitro-Daten wurden erhoben im Rahmen von Ames-Tests (Exxon, 1996a; Zeiger et al., 1985; BASF, 1986/1995), in Maus-Lymphoma-Tests (Hazleton, 1986a; Litton Bionetics 1985a), im Klastogenitätstest an CHO-Zellen (Exxon, 1996b); ferner im UDS-Test an primären Rattenhepatozyten (Litton Bionetics, 1981) und in Zelltransformationsassays an BALB/C-3T3-Zellen (Microbiol. Ass., 1981a-c und 1982; Litton Bionetics, 1981b und c, 1985b). Alle Tests zeigten ein negatives Ergebnis.

Im Rahmen einer Zytogenetik-Studie an Fischer-Ratten mit 5-maliger Zufuhr von 0,5, 1,7 und 5 ml (4,9 g)/kg und Tag fanden sich keine Hinweise auf klastogene Wirkungen in vivo (Microbiol. Ass., 1981d).

Auch aufgrund der strukturellen Merkmale und in Analogie zu der sehr umfangreichen Datenbasis von Diethylhexylphthalat (DEHP) zu diesem Endpunkt bestehen keine Verdachtsmomente für eine gentoxische Wirkung.

Eine Einstufung gemäß EU-Kriterien erfolgt nicht (M: -).

B) Kanzerogenität:

DINP ist ein schwacher Peroxisomenproliferator und führt als solcher auch zu einem Anstieg der Lebergewichte. Die Verbindung von Peroxisomenproliferation und Hepatomegalie ist bei Ratte und Maus eine Lebertumordisponierende Stoffwechselsituation, die jedoch in hohem Maße nagerspezifisch ist.

Speziesvergleichende Daten mit zahlreichen Peroxisomenproliferatoren liegen vor, die praktisch eine Resistenz von Primaten (und auch beim Menschen) gegenüber diesem Effekt belegen. Mit DINP selbst existieren Speziesvergleichende in-vitro- und in-vivo-Studien an Leberzellen von Ratten, Marmosets und Menschen.

Der Monoester von DINP, das Monoisononylphthalat (MINP), kann als das eigentliche bioverfügbare Agens angesehen werden. Es hemmt in vivo und in vitro die metabolische Kooperation an Rattenhepatozyten (Lington et al., 1994), wobei die NOEC bei 100 mMol lag. Damit war MINP etwas schwächer wirksam als Monoethylhexylphthalat (MEHP). Die Hemmung der metabolischen Kooperation ließ sich an Leberzellen von Hamstern und Menschen nicht darstellen. Vermutlich besteht ein Zusammenhang mit der bei Peroxisomenproliferation ausgelösten Volumenzunahme der Zelle und dem hierbei ausgelösten initialen Zellteilungsschub.

Im Rahmen einer 2-Jahresstudie (Lington et al., 1997) an Fischer-Ratten im Futter von 0, 300 und 3.000 und 6.000 ppm (vergleichbar 0, 15, 150 und 300 mg/kg KGW/Tag) zeigte sich in der obersten Dosisgruppe ein grenzwertiger Anstieg von Lebertumoren im Vergleich zu den beiden anderen Dosisgruppen. In der Nullkontrolle war die Spontanrate ungewöhnlich hoch. Somit war eine Tumorigenität hier nicht eindeutig beweisbar. Zusätzlich wurde ein dosisabhängiger Anstieg der Leber- und Nierengewichte gefunden, ferner eine erhöhte Anzahl mononukleärer Leukosen; letztere sind für Fischer-Ratten ein typischer Befund mit hoher Spontanrate; per se stellen sie noch keinen Hinweis auf eine kanzerogene Wirkung dar (Caldwell, 1999).

Eine weitere 2-Jahresstudie an Fischer-Ratten mit 500, 1.500, 6.000 und 12.000 ppm (70 Tiere pro Geschlecht und Dosis) zeigte in der obersten Dosisgruppe bei den männlichen Tieren einen Anstieg der hepatozellulären Tumoren sowie Nierentumoren bei männlichen Tieren. Eine "recovery"-Gruppe, die die gleiche Behandlung nur über 78 Wochen erhalten hatte, hatte eine weitaus geringere Tumorzinzidenz, die nahezu im Bereich der Kontrolle lag. Männliche Ratten zeigten zudem eine erhöhte α -2- μ -Globulin-Akkumulation in der Niere, verbunden mit einer vermehrten Zellproliferation im P-2-Segment des proximalen Konvolutes. Somit sind die beobachteten Nierentumoren ebenfalls rattenspezifisch und für den Menschen nicht relevant. Mäuse zeigten im Rahmen eines gleichartig angelegten Fütterungsversuches ebenfalls eine Zunahme hepatozellulärer Karzinome bei beiden Geschlechtern, auch hier auf der Basis einer peroxisomalen Proliferation (Butala et al., 1996/1997).

Auch in dieser Studie wurde eine Zunahme der mononukleären Leukosen in den beiden oberen Dosisgruppen beobachtet.

Ein weiteres, nicht mehr im Handel befindliches DINP führte zu einem Anstieg der Lebertumorraten an Sprague-Dawley-Ratten bei 10.000 ppm im Futter (ca. 550 - 670 mg/kg/Tag). Bei 500 ppm war keine erhöhte Tumorzinzidenz erkennbar. Eine statistische Datenanalyse liegt nicht vor (Bio/Dynamics, 1986).

DINP ist nicht genotoxisch. Seine Lebertumor-promovierende Wirkung korreliert mit einer chronisch persistierenden Hepatomegalie (Lebervergrößerung), die ebenfalls nur am Nager beobachtet wird und mit einer bestimmten Form von Enzyminduktion (Peroxisomenproliferation) einhergeht. Es handelt sich um einen schwellenabhängigen pleiotropen Effekt, der - zumindest initial - mit einer vermehrten DNA-Synthese verbunden ist. Bei Ratte und Maus stellt dies potentiell eine lebertumor-disponierende Stoffwechselsituation dar.

Allerdings ist die tatsächliche Kanzerogenität der einzelnen Peroxisomenproliferatoren höchst unterschiedlich ausgeprägt. Von prognostischer Aussagekraft sind die Höhe der Wirkschwelle und das Ausmaß der Lebervergrößerung, weniger die maximale Peroxisomendichte und Enzymaktivität im Hochdosisbereich. Ausführlich untersucht in dieser Hinsicht wurden verschiedene lipidsenkende Arzneistoffe und auch die Phthalsäureester DEHP und DINP. Die Phthalsäureester gehören hierbei zu den eher schwach wirksamen Verbindungen, so dass durchweg hohe Dosen zur Auslösung dieses Effektes erforderlich sind.

Nicht-Nager zeigen eine weitgehende Resistenz gegenüber dem Phänomen der Peroxisomenproliferation (s. u.) und den hiermit assoziierten Effekten wie Enzyminduktion, Hepatomegalie und Tumorinduktion. Hamster zeigen hingegen noch schwache Effekte (Lake et al., 1984).

Man nimmt heute an, dass die Speziesunterschiede auf Dichte und Funktionalität eines bestimmten Rezeptortyps zurückgehen, des peroxisomenstimulierenden (PPAR α -)Rezeptors, welcher bei Ratte und Maus in besonders hohem Maße und vollständiger Form exprimiert wird (Ashby et al., 1994; Bentley et al., 1993; Lee et al., 1995; Cattley et al., 1998; Maloney and Waxman, 1999). Die Stimulation der Rezeptoren führt in den Zielzellen zu einer Vielzahl von Transkriptionen bzw. Genexpressionen und morphologisch zu einer Proliferation von Zellorganellen (Peroxisomen, Mitochondrien, endoplasmatisches Retikulum), zur Suppression von Apoptose (Roberts et al., 1998) sowie zu einer zumindest initialen, bei manchen Stoffen auch kontinuierlichen Erhöhung der DNA-Synthese (Marsman et al., 1988) und Mitoserate nach Aktivierung der Kupffer'schen Sternzellen (Rose et al., 1997); die Leber ist in allen wirksamen Dosen auf längere Zeit vergrößert.

Transgene Mäuse, denen der peroxisomenstimulierende (PPAR α -)Rezeptor fehlt, zeigten mit DEHP keine Peroxisomenproliferation, keine Hepatomegalie und keine vermehrte DNA-Synthese (Ward et al., 1998). Die Bioverfügbarkeit war gegeben, dies konnte man an den Hoden- und Nierenschädigungen sehen, die allerdings schwächer ausgeprägt als beim Wild-Typ waren. Auch war selbst mit der hochwirksamen Verbindung Wy-14,643 keine Hepatokanzerogenität an PPAR α -Knock-out-Mäusen mehr erkennbar (Peters et al., 1997).

Die menschliche Leber weist 1 – 10 % der funktionalen PPAR α -Rezeptordichte von Mäusen auf (Palmer et al., 1998). Hierin dürfte der Grund für die geringere toxikodynamische Empfindlichkeit des Menschen zu sehen sein, wie sie auch in vitro an Leberzellkulturen zum Ausdruck kommt (s. u.). Aus der langjährigen Erfahrung mit Fibrat-Therapien hat sich bisher kein Hinweis auf eine tumorigene Wirkung am Menschen ergeben.

Aufgrund der experimentellen und klinischen Erfahrungen werden Peroxisomenproliferatoren zur Zeit von IARC nicht als kanzerogen für den Menschen klassifiziert (IARC, 1995/1996). Diese Einschätzung wird überwiegend auch in neueren Publikationen geteilt, wenngleich sie heute differenzierter und mehr im Sinne quantitativer Unterschiede erfolgt (Cattley et al., 1998; Doull et al., 1999; Maloney and Waxman, loc. cit.).

In Leberzellkulturen von Kaninchen, Meerschweinchen, Marmosets und Menschen ließen sich mit DEHP bzw. DINP u. a. Peroxisomenproliferatoren bzw. ihren aktiven Metaboliten keine Effekte darstellen (Elcombe et al., 1997; Ashby et al., 1994; Butterworth et al., 1989; Dirven et al., 1993; Goll et al., 1999; Hasmall et al., 1999).

Bei DEHP und DINP besteht neben dem toxikodynamischen Aspekt auch eine toxikokinetische Speziesdifferenz: Von Primaten werden diese Stoffe im Vergleich zur Ratte in geringerem Maße aus dem Intestinaltrakt resorbiert und zu Monoestern gespalten, so dass letztere eine geringere Bioverfügbarkeit erreichen (Rhodes et al., 1986; Pugh et al., 1999). Auch eine fehlende Hemmung der metabolischen Kooperation an der Leber von Cynomolgus-Affen im Vergleich zur Ratte wurde nach 14-tägiger Verabreichung von 500 mg/kg und Tag beobachtet (Pugh et al., 1999).

Fazit:

Zwischen Nagern und Primaten bestehen bedeutende Unterschiede in der Toxikodynamik und Toxikokinetik von DINP. Nach einer Gewichtung der gegenwärtigen Datenlage ist für die Lebertumoren im Falle von DINP eine Kennzeichnung nicht erforderlich. Eine rattenspezifische Besonderheit stellen die Nierentumoren beim männlichen Geschlecht infolge einer α -2 μ -Globulin-Akkumulation dar. Der Anstieg von mononukleären Leukosen bei der Fischer-Ratte ist ein stammesspezifisches Phänomen mit seit Jahren steigender Tendenz (Hasemann et al., 1989) und mit dem Körpergewicht korreliert; es ist in seiner Bedeutung als adverser Effekt zweifelhaft, so dass ein Beleg für eine kanzerogene Wirkung hieraus alleine nicht abzuleiten ist.

Im Hinblick auf Kanzerogenität ist daher für DINP gemäß EU-Einstufungskriterien keine Einstufung erforderlich (C: -).

C) Reproduktionstoxizität und Entwicklungsschäden:

1. Entwicklungsschädigung:

a) Pränatale Toxizitätsstudien:

In einer älteren pränatalen Studie erhielten 25 Sprague-Dawley-Ratten pro Gruppe 10, 500 bzw. 1.000 mg/kg und Tag. Es zeigten sich hierbei keine maternalen oder fetalen Effekte (Hazleton, 1981). Im Rahmen einer vergleichenden Studie mit mehreren Phthalsäureestern (Hellwig et al., 1997), die durchweg in Dosierungen von 0, 40, 200 und 1.000 mg/kg per Schlundsonde vom 6. - 15. Trächtigkeitstag an jeweils 8 - 10 trächtige Wistar-Ratten verabreicht wurden, zeigten 3 unterschiedliche Diisononylphthalate folgendes Bild:

DINP I (CAS-Nr. 68515-48-0) führte in der obersten Dosisgruppe bei den Muttertieren zur Zunahme der relativen Nieren- und Lebergewichte und bei den Feten zu einem vermehrten Auftreten von Variationen (60 % der Feten gegen 35 % in der Kontrollgruppe). Diese bestanden im Wesentlichen aus rudimentären Halsrippen (in 11 Foeten von 5 Würfen) und akzessorischen 14. Rippen (in 37 Foeten von 10 Würfen). In der Kontrollgruppe und bei 40 mg/kg traten diese Befunde nicht auf; bei 200 mg/kg gab es eine rudimentäre Halsrippe und zwei akzessorische 14. Rippen. Verkürzungen der 13. Rippe traten in der Kontrollgruppe (4/3) und der unteren Dosisgruppe auf, aber nicht in den beiden oberen. Missbildungen und Retardationen waren nicht vermehrt.

Nach Gabe einer weiteren DINP-Variante (DINP II; CAS-Nr. 28553-12-0) waren - ebenfalls nur in der obersten Dosis - die maternalen Leber- und Nierengewichte erhöht; auch hier kam es zu einer vermehrten Inzidenz an rudimentären Halsrippen (11/5) und akzessorischen 14. Rippen (4/4). Bei 200 mg/kg/Tag wurden eine rudimentäre Halsrippe und vier akzessorische 14. Rippen beobachtet. Verkürzungen der 13. Rippe traten in der Kontrollgruppe (4/3) sowie bei 40 und 200 mg/kg (6/2 bzw. 2/1) auf, aber nicht bei 1.000 mg/kg und Tag.

Mit einem älteren, heute nicht mehr hergestellten DINP-Typ mit der gleichen CAS-Nr. wie DINP II (jedoch mit einem höheren Verzweigungsgrad, damit auch kürzeren Kettenlänge des Alkoholanteiles) – in der Studie mit DINP III bezeichnet – zeigten die Muttertiere der obersten Dosis verminderte Futteraufnahme und ca. 7,5 % verminderte Körpergewichte ab dem 13. Trächtigkeitstag. Numerisch (nicht signifikant) war ein von 3,7 auf 8,3 % vermehrter präimplantativer Eiverlust zu beobachten. Bei den Feten zeigten sich in dieser Dosisgruppe Variationen, und zwar als akzessorische 14. Rippe (34 gegen 0 in der Kontrolle), rudimentäre Halsrippe (12 gg. 0) und gespaltenes Sternum (4 gg. 0). Zu beobachten waren auch einzelne Missbildungen an Herz (Ventrikel-dilatationen; 3), Urogenitaltrakt (Agenesie von Niere (3), Ureter (3), abnormer Hodenstellung; 2) und langen Knochen (verkürzter Femur; 1), verkürzter Humerus; 1). Die Gesamtzahl aller Missbildungen und deren Einzelinzidenzen waren zwar nicht statistisch signifikant vermehrt, wegen ihres atypischen Charakters wurden sie jedoch von den Autoren als substanzinduziert gewertet. Bei 200 mg/kg/Tag traten noch (2/1) rudimentäre Halsrippen auf und (9/5) akzessorische Rippen. Verkürzte 13. Rippen wurden in der Kontrollgruppe und den beiden unteren Dosisgruppen registriert, aber nicht bei 1.000 mg/kg/Tag (Hellwig et al., 1997).

Mit DINP II der CAS-Nr. 68515-48-0 wurde auch eine umfangreichere Studie durchgeführt und zwar an Sprague-Dawley-Ratten (23 - 25 Tiere pro Dosisgruppe), denen 100, 500 bzw. 1.000 mg/kg/Tag (in Maisöl) vom 6. – 15. Trächtigkeitstag verabreicht wurden. In der obersten Dosis fand man ein leicht vermindertes maternales Körpergewicht und eine erhöhte Inzidenz ($p \leq 0.01$) von Weichteilvariationen (5,1 gegen 0,5 % der Feten) und skelettalen Variationen (43,7 gg. 16,8 %). Überwiegend bestanden diese in erweiterten Nierenbecken bzw. überzähligen Halsrippen und rudimentären Lumbal-Rippen. Bei 500 mg/kg/Tag waren diese Variationen ebenfalls noch leicht vermehrt ($p \leq 0.05$). Bei 100 mg/kg/Tag wurden noch vermehrt erweiterte Nierenbecken beobachtet, wegen der insgesamt hohen Häufigkeit und Streubreite dieses Befundes ist jedoch eine Kausalbeziehung fraglich. Missbildungen traten in dieser Studie nicht auf (Waterman et al., 1999).

b) Mehrgenerationsstudien – Effekte auf Fertilität und Sexualorgane:

Hodenschädigungen konnten mit DINP im Rahmen von 90-Tage-Studien weder an Fischer-Ratten (Bird et al., 1987; Hazleton, 1991) noch an Sprague-Dawley-(Bio/Dynamics, 1982a und b) oder Wistar-Ratten nachgewiesen werden (BASF, 1987).

Im Rahmen einer 1-Generationsstudie mit Konzentrationen von 0,5, 1,0 und 1,5 % DINP im Futter (obere Dosis ca. 1.100 mg/kg und Tag) zeigten die Elterntiere bereits vor der Verpaarung einen dosisabhängigen Rückgang der Körpergewichtsentwicklung (statistisch signifikant bei 1,0 und 1,5 %) und einen Anstieg der Leber- und Nierengewichte. Paarungsverhalten, Fertilität und Hodenhistologie blieben unverändert. Bei 1,0 und 1,5 % waren auch in der Trächtigkeitsperiode die Körpergewichte vermindert. Geburtsgewichte und postnatale Körpergewichtsentwicklung der Jungtiere waren bei 1,0 und 1,5 % ebenfalls vermindert (um bis zu ca. 12 % am Tag 0 bzw. 47 % am Tag 21). In der untersten Dosisgruppe waren Geburtsgewichte und Körpergewichtsentwicklung ebenfalls geringer als in der Kontrollgruppe, aber nicht in der Bandbreite der historischen Kontrolle. In der höchsten Dosis zeigte sich auch eine Beeinträchtigung der fetalen und postnatalen Überlebensrate (um ca. 6 – 7 %) (Exxon, 1996c; Waterman et al., 1999).

In einer 2-Generationsstudie erhielten männliche und weibliche Sprague-Dawley-Ratten DINP in Konzentrationen von 2.000, 4.000 und 8.000 ppm im Futter (obere Dosis entspricht ca. 500 mg/kg und Tag). Auch in dieser Studie fand sich ein dosisabhängiger Anstieg von Leber- und Nierengewichten in beiden Geschlechtern. Die Körpergewichte in der Vorverpaarungs- und Trächtigkeitsphase der Elterngeneration blieben unbeeinträchtigt. Postnatal bis zum 21. Tag zeigten die Jungtiere der 1. und 2. Folgegeneration verminderte Gewichtsentwicklung (dosisabhängig; in der höchsten Dosis bis ca. 20 %). Die Geburtsgewichte waren in beiden Folgegenerationen dosisabhängig, aber meist nur numerisch gegenüber der Kontrolle vermindert, lagen jedoch noch im Bereich historischer Kontrolldaten. Entwicklungsschädigende Effekte, Beeinträchtigungen der Fertilität oder Effekte an den Hoden wurden nicht beobachtet. Bei 2.000 ppm waren keine statistisch signifikanten Effekte mehr zu registrieren (Exxon Chemical, 1996d; Waterman et al., 2000).

Eine Studie an Marmosets, denen DINP über 13 Wochen mit der Schlundsonde in Dosierungen von 100, 500 und 2.500 mg/kg und Tag verabreicht wurde, ließ ebenfalls keine substanzinduzierten Effekte auf die Sexualorgane erkennen. Auch Testosteron- und Östrogenkonzentrationen im Plasma der Versuchstiere blieben unbeeinflusst (Hall et al., 1999).

Cynomolgus-Affen, denen über 14 Tage DINP (500 mg/kg und Tag; n = 4) verabreicht wurde, zeigten keine Effekte an Hoden, Nieren und Leber. Weitere Gruppen erhielten DEHP (500 mg/kg und Tag) bzw. Clofibrat (250 mg/kg und Tag). Es fanden sich auch keine Hinweise auf peroxisomale β -Oxidation in der Leber, replikative DNA-Synthese und Hemmung der metabolischen Kooperation im Farbstoffübertragungsmodell. Die bioverfügbaren Konzentrationen der Ausgangssubstanzen und des Monoesters waren geringer als beim Nager. MINP-Konzentrationen in der Leber lagen bei 2,2 $\mu\text{mol/g}$ (Pugh et al., 1999/2000).

Auf mögliche östrogene Wirkungen wurde DINP im Rahmen eines Uterotrophietestes an juvenilen ovariektomierten Sprague-Dawley-Ratten geprüft, und zwar in Dosen von 200 – 2.000 mg/kg/Tag; dabei zeigte sich kein Effekt (Zacharewsky et al., 1988).

Fazit:

Mit den heute hergestellten DINP-Typen fanden sich vermehrt Variationen in Dosisbereichen ab ca. 500 mg/kg/Tag (Schlundsonden-Verabreichung). Maternale Effekte bestanden in erhöhten Leber- und Nierengewichten. Der "no adverse effect level" für die gesamte Gruppe liegt bei ca. 200 mg/kg/Tag. Das vermehrte Auftreten von Variationen im beschriebenen Ausmaß und bei leichter Maternaltoxizität ist kein ausreichendes Kriterium für eine Einstufung als entwicklungsschädigend. Missbildungen, fertilitätsbeeinträchtigende Effekte oder anderweitige Schädigungen der Sexualorgane wurden nicht gefunden.

Im Rahmen einer 1-Generationsstudie und einer 2-Generationsstudie an der Ratte fanden sich keine adversen Effekte auf die Fertilität. Die Geburtsgewichte der Jungtiere und ihre Körpergewichtsentwicklung waren dosisabhängig vermindert. Dies wird als Ausdruck subchronisch-toxischer Effekte gesehen. Auch die Zielorgane Leber und Nieren wiesen Gewichtserhöhungen auf. An der obersten Dosis der 1-Generationsstudie (ca. 1.100 mg/kg und Tag) gab es Hinweise auf entwicklungsschädigende Effekte.

Untersuchungen zur Bioverfügbarkeit von DINP bzw. seinen primären Metaboliten an unterschiedlichen Tierarten liegen zur Zeit noch nicht in größerem Umfang vor. Erste Untersuchungen deuten jedoch darauf hin, dass die Bioverfügbarkeit von DINP und seinen Metaboliten bei Primaten geringer ist als bei der Ratte.

Aus dem Gesamtbild ergibt sich keine Notwendigkeit, den Stoff als entwicklungs- oder fertilitätsschädigend zu kennzeichnen. Damit erfolgt für DINP keine Einstufung (R_{F,E}: -).

Literatur:

- [1] Anderson, D., Yu, T.W., Hincal, F. (1999): Effect of some phthalate esters in human cells in the Comet assay. *Teratogenesis, Carcinogenesis and Mutagenesis* 19, 275 - 280
- [2] Ashby, J., Brady, A., Elcombe, C.R., Elliott, B.M., Ishmael, J., Odium, J., Tugged, J.D., Kettle, S., Purchase, I.F.H. (1994): Mechanistically based human hazard assessment of peroxisome proliferator-induced hepatocarcinogenesis. *Hum. Exp. Toxicol.* 13, Suppl. 2, 1 – 117
- [3] BASF (1986): Report on the study of Palatinol N (ZNT test substance N° 85/513) in the Ames test (standard plate test with *Salmonella typhimurium*) performed by BASF Aktiengesellschaft department of toxicology FRG. Project N° 40/1M0513/85, December 10, 1986.
- [4] BASF (1987): Bericht Prüfung der oralen Toxizität von Palatinol N an Ratten Verabreichung im Futter über 3 Monate. Projekt Nr:31S0513/85103,vom 11/12/97. (Study of the oral toxicity of Palatinol N in rats. Administration in the diet over 3 months. Project N°: 31S0513/85103, Dec. 11, 1987).

- [5] BASF (1995): Report on the study of diisononylphthalat IGS 21002 (ZHT test substance N° 95/91) in the Ames test performed by BASF Aktiengesellschaft department of toxicology FRG. Project N° 40M0091/954045, April 13, 1995.
- [1] Bell, A.R., Savory, R., Horley, N.J., Choudhury, A.I., Dickins, M., Gray, T.J.B., Salter, A.M., Bell, D.R. (1998): Molecular basis of non-responsiveness to peroxisome proliferations: the guineapig PPAR α is functional and mediates peroxisome proliferator-induced hypolipidaemia *Biochem. J.* 332, 689 – 693
- [7] Bentley, P., Calder, I., Elcombe, C., Grasso, P., Stringer, D., Wiegand, H.J. (1993): Hepatic peroxisome proliferation in rodents and its significance for humans. *Food Chem. Toxicol.* 31, 857 – 907
- [8] Berger, M.R. (1995): Combination effect of three non-genotoxic carcinogens in male SD rats. *Proc. Amer. Assoc. Canc. Res.* 36, 133, 788 A
- [9] Bio/dynamics (1982a): One week prechronic oral feeding study. Test materials: MRD 8240, MRD 8241. Unpublished Laboratory Report from Biodynamics Inc., submitted to Exxon Biomedical Sciences, Inc. Report date November 19, 1982. Project number VO 4053.
- [10] Bio/dynamics (1982b): Thirteen week pre-chronic oral feeding study in Fischer 344 rats. Test material: MRD-82-41. Project VO 4154-F. Performed by Bio/Dynamics, Inc. and submitted to Exxon Biomedical Sciences, Inc. Report date December 8, 1982.
- [11] Bio/Dynamics (1986): A chronic toxicity carcinogenicity feeding study in rats with santicizer 900 final report. Unpublished laboratory report (*incomplete report, appendices not available*) from Bio/dynamics Inc. submitted to Monsanto Company . Project N° 81-2572 (BD-81-244) report date June 20, 1986.
- [12] Bird M.G., Lington A.W. and Cockrell B. (1987): Subchronic and chronic oral studies of diisononyl phthalate (DINP) in F-344 rats: effects on hepatic peroxisome induction. *Toxicologist*, 7, N°1, #225, p56 (abstract).
- [13] Butala J.H., Moore M.R., Cifone M.A., Bankston J.R. and Astill B. (1996): Oncogenicity study of di(isononyl phthalate in rats. *The Toxicologist* 30; A1031, p 202.
- [14] Butala J.H., Moore M.R., Cifone M.A., Bankston J.R. and Astill B. (1997): Oncogenicity study of di(isononyl phthalate in mice. *The Toxicologist* 36; A879, p 173.
- [15] Butterworth, B.E., Smith-Oliver, T., Earle, L., Loury, D.J., White, R.D., Doolittle, D.J., Working, P.K., Cattley, R.C., Jirtle, R., Michalopoulos, G., and Strom, D. (1989): Use of primary cultures of human hepatocytes in toxicology studies. *Cancer Research* 49, 1075 – 1084
- [16] Caldwell D.J. (1999): Mononuclear cell leukemia (MNCL) in F-344 rats: implications for human cancer risk assessment of phthalates and other nongenotoxic chemicals (abstract will be presented at a meeting in March 1999).

- [17] Cattley, R.C., DeLuca, J., Elcombe, C., Fenner-Crisp, P., Lake, B.G., Marsman, D.S., Pastoor, T.A., Popp, J.A., Robinson, D.E., Schwetz, B., Tugwood, J., Wahli, W. (1998): Do peroxisome proliferating compounds pose a hepatocarcinogenic hazard to humans? *Regulatory Toxicol. and Pharmacol.* 27, 47 – 60
- [18] Chevalier, S. and Roberts, R.A. (1998): Perturbation of rodent hepatocyte growth control by nongenotoxic hepatocarcinogenesis: mechanisms and lack of relevance for human health (review). *Oncol. Rep.* 6, 1319 – 1327
- [19] Covance study number : 2598-104, final report (May, 1998) Oncogenicity study in rats with DINP including ancillary hepatocellular proliferation and biochemical analyses. pp 1 - 82
- [20] David, R.M., Moore, M.R., Cifone, M.A., Finney, D.C., Guest, D. (1999): Chronic Peroxisome Proliferation and Hepatomegaly Associated with the Hepatocellular Tumorigenesis of Di(2-Ethylhexyl)Phthalate and the Effects of Recovery *Toxicol. Sciences* 50, 195 - 205
- [21] Dirven, H.A.A.M., van den Broek, P.H.H., Peeters, M.C.E., Peters, J.G.P., Mennes, W.C., Blaauboer, B.J., Noordbhoek, J., and Jongeneelen, F.J. (1993): Effects of the peroxisome proliferator mono(2-ethylhexyl) phthalate in primary hepatocyte cultures derived from rat, guinea pig, rabbit and monkey. *Biochem. Pharmacol.* 45, 2425 – 2434
- [22] Doull J., Cattley, R., Elcombe, C. Lake, B.G., Swenberg, J., Wilkinson, C., Williams, G., van Gemert, M. (1999): A Cancer Risk Assessment of Di(2-ethylhexyl)phthalate: Application of the New U.S. EPA Risk Assessment Guidelines *Regul. Toxicol. and Pharmacol.* 29, 327 – 357
- [23] Elcock, F.J., Chipman, J.K., and Roberts, B.A. (1998): The rodent nongenotoxic hepatocarcinogen and peroxisome proliferator nafenopin inhibits intercellular communication in rat but not guinea pig hepatocytes, perturbing S-phase but not apoptosis. *Arch. Toxicol.* 72, 439 – 444
- [24] Elcombe, C.R. and Mitchell, A.M. (1986): Peroxisome proliferation due to di(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP): species differences and possible mechanisms. *Environm. Health Persp.* 70, 210 – 219
- [25] Elcombe, C.R., Bell, D.R., Elias, E., Hasmall, S.C., and Plant, N.J. (1997): Peroxisome proliferators species differences in response of primary hepatocyte cultures. *Annals New York Acad. Sci.* 804, 628 – 635
- [26] Ema et al. (2000): Critical period for adverse effects on development of reproductive system in male offspring of rats given di-n-butyl phthalate during late pregnancy *Toxicol. Lett.* 111, 271 - 278
- [27] Exxon Biomedical Sciences (1996a): Microbiological mutagenesis in Salmonella Mammalian microsome plate incorporation assay (MRD 95-389). Project number 138925. Performed by Exxon Biomedical Sciences Inc. for Exxon Chemical Europe. Report date March 8, 1996.
- [28] Exxon Biomedical Sciences (1996b): In vitro chromosomal aberration assay in Chinese Hamster Ovary (CHO) cells (MRD 95-389). Project number 138932. Performed by Exxon Biomedical Sciences, Inc. for Exxon Chemical Europe. Report date March 8, 1996.

- [29] Exxon Biomedical Sciences, Inc. (1996c): Reproduction toxicity study in rats with diisononyl phthalate (DINP; MRD-92-455). Unpublished laboratory report from Exxon Biomedical Sciences, Inc. submitted to Exxon Chemical company and Exxon Chemical Europe. Project number 145535, report dated March 8, 1996.
- [30] Exxon Biomedical Sciences, Inc. (1996d): Two generation reproduction toxicity study in rats with diisononyl phthalate (DINP; MRD-92-455). Unpublished laboratory report from Exxon Biomedical Sciences Inc submitted to Exxon Chemical Company and Exxon Chemical Europe. Report date: February 29, 1996.
- [31] Goll, V., Alexandre, E., Viollon-Abadie, C., Nicod, L., Jaeck, D., Richert, L. (1999): Comparison of the Effects of Various Peroxisome Proliferators on Peroxisomal Enzyme Activities, DNA Synthesis, and Apoptosis in Rat and Human Hepatocyte Cultures. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 160, 21 – 32
- [32] Hall, M., Matthews, A., Webley, L., Harling, R. (1999): Effects of di-isononyl phthalate (DINP) on peroxisomal markers in the marmoset – DINP is not a peroxisome proliferator. *J. Toxicol. Sci.* 24, 237 – 244
- [33] Haseman, J.K., Huff, J.E., Rao, G.N., Eustis, S.L. (1989): Sources of Variability in Rodent Carcinogenicity Studies *Fund. Appl. Toxicol.* 12, 793 – 804
- [34] Hasmall, S.C., James, N.H., Macdonald, N., West, D., Chevalier, S., Cosulich, S.C., Roberts, A.R. (1999): Suppression of apoptosis and induction of DNA synthesis in vitro by the phthalate plasticizers monoethylhexylphthalate (MEHP) and diisononylphthalate (DINP): A comparison of rat and human hepatocytes in vitro. *Arch. Toxicol.* 73, 451 – 456
- [35] Hazleton (1981): Teratology study in rats DINP final report from Hazleton Laboratories America Inc., March 25, 1981, project N° 2096-103, submitted to Nissan Chemical Industries, Ltd. Tokyo, Japan.
- [36] Hazleton, (1986a): Four final mutagenicity reports regarding diisononyl phthalate, di-(heptyl, nonyl, undecyl) phthalates, diisodecyl phthalate and diundecyl phthalate. Mutagenicity of 1J in a mouse lymphoma assay final report. Unpublished Laboratory Report from Hazleton Biotechnologies Company submitted to Chemical Manufacturers Association. Genetics assay No 7158, HBC project No 20989, report date June 1986.
- [37] Hazleton (1986b): Chronic feeding study in Fischer 344 rats. MRD-83-260. Final pathology report from Hazleton Laboratories America, Inc. submitted to Exxon Biomedical Sciences Inc. Report date April 3, 1986. Hazleton (1991): A subchronic (13-week) dietary oral toxicity study of di(isononyl)phthalate in Fischer 344 rats with attachments and cover letter dated 082291. Unpublished Laboratory Report from Hazleton Laboratories submitted to Aristech Chem. Corporation.
- [38] Hellwig, J., Freudenberger, H. and Jäckh, R. (1997): Differential prenatal toxicity of branched phthalate esters in rats. *Food and Chemical Toxicology*, 35, p 501-512.

- [39] IARC (1995): Peroxisome proliferation and its role in carcinogenesis. Views and expert opinions of an IARC Working Group Lyon, 7 – 11 Dec. 1995, IARC Technical Report No. 24, Lyon
- [40] IARC (1996): Clofibrate. Gemfibrozil. In: IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risk to humans, some pharmaceutical drugs, Vol. 66, Lyon
- [41] Isenberg, J.S., Kamendulis, L.M., Smith, J.H., Ackley, D.C., Pugh, G., Lington, A.W. and Klaunig, J.E. (2000): Effects of di-2-ethylhexyl phthalate (DEHP) on gap junction intercellular communication (GJIC), DNA synthesis and peroxisomal beta-oxidation in rat, mouse, and hamster liver Toxicol. Sci, accepted.
- [42] Kurata, Y., Kidachi, F., Yokoyama, M, Toyota, N., Tsuchitani, M., and Kato, M. (1998): Subchronic toxicity of di(2-ethylhexyl)phthalate in common marmosets: lack of hepatic peroxisome proliferation, testicular atrophy, or pancreatic acinar cell hyperplasia. Toxicol. Sci. 42, 49 – 56
- [43] Lake, B.G., Gangolli, S.D., Grasso, P., and Lloyd, A.G. (1975): Studies on the hepatic effects of orally administered di-(2-ethylhexyl) phthalate in the rat. Toxicol. Appl. Pharmacol. 32, 355 – 367
- [44] Lake, B.G., Gray, T.J.B., Foster, J.R., Stubberfield, C.R., and Gangolli, S.D. (1984): Comparative studies on di-(2-ethylhexyl) phthalate-induced hepatic peroxisome proliferation in the rat and hamster. Toxicol. Appl. Pharmacol. 72, 46 - 60
- [45] Lee, S.S., Pineau, T., Drago, J., Lee, E.J., Owens, J.W., Kroetz, D.L., Fernandez-Salguero, P.M., Westphal, H, Gonzales, F.J. (1995): Targeted disruption of the alpha isoform of the peroxisome proliferator-activated receptor gene in mice results in abolishment of the pleiotropic effects of peroxisome proliferators. Mol. Cell. Biol. 15, 3012 – 3022
- [46] Li, L.-H., Jester, W.F. and Orth, J.M. (1998): Effects of relatively low levels of mono-(2-ethylhexyl) phthalate on cocultured Sertoli cells and gonocytes from neonatal rats Toxicol. Appl. Pharamcol. 153, 258 - 265
- [47] Lington A.W., Bird M.G., Plutnick R.T., Stubblefield W.A. and Scala R.A. (1997): Chronic toxicity and carcinogenic evaluation of diisononylphthalate in rats. Fund. Appl. Toxicol. 36, 79-89.
- [48] Lington A.W., Kalimi G.H., Nikiforov A.I. and Klaunig J.E. (1994): Effects of di-2-ethyl hexyl phthalate and four metabolites on rodent hepatocyte gap junctional intercellular communication. The Toxicologist, Vol 14, No 1, #136 (abstract).
- [49] Litton Bionetics (1981a): Evaluation of R-1218 in the primary rat hepatocyte unscheduled DNA synthesis assay final report. Unpublished Laboratory Report from Litton Bionetics submitted to Tenneco Chemicals Inc. LBI project No 20991, report date February, 1981.
- [50] Litton Bionetics (1981b): Evaluation of R-1271 in the in vitro transformation of Balb/3T3 cells assay final report. Unpublished Laboratory Report from Litton Bionetics Inc. submitted to Tenneco Chemicals. Genetics assay No 5618, LBI project N° 20992, report date July 1981.

- [51] Litton Bionetics (1981c): Evaluation of R-1218 in the *in vitro* transformation of Balb/3T3 cells assay final report. Unpublished Laboratory Report from Litton Bionetics submitted to Tenneco Chemicals Company. LBI project No 20992, report date May, 1981.
- [52] Litton Bionetics (1985a): Evaluation of 1J in the mouse lymphoma toxicity assay final report assay No 7158, LBI project No 20989. Unpublished Laboratory Report from Litton Bionetics Inc. submitted to Chemical Manufacturers Association. Genetics, report date July, 1985.
- [53] Litton Bionetics (1985b): Evaluation of 1J in the *in vitro* transformation of Balb-3T3 cells assay, final report. Unpublished Laboratory Report from Litton Bionetics Inc. submitted to Chemical Manufacturers Association. Genetics assay No 7158, LBI project No 20992, report date April, 1985.
- [1] Maloney, E.K. and Waxman, D.J. (1999): trans-Activation of PPAR α and PPAR γ by Structurally Diverse Environmental Chemicals. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 161, 209 – 218
- [55] Marsman, D.S., Cattley, R.C., Conway, J.G., Popp, J.A. (1988): Relationship of hepatic peroxisome proliferation and replicative DNA synthesis to the hepatocarcinogenicity of the peroxisome proliferators, di(2-ethylhexyl)phthalate and [4-chloro-6-(2,3,-xylidino)-2-pyrimidini-[thio]acetic acid (Wy-14,643) in rats. *Cancer Res.* 48, 6739 – 6744
- [56] Microbiological Associates (1981a): Activity of T1646 in the *in vitro* mammalian cell transformation assay in the presence of exogenous metabolic activation. Unpublished Laboratory Report (1981) from Microbiological Associates submitted to Tenneco Chemicals Company. MA project No T1646.109.
- [57] Microbiological Associates (1981b): Activity of T1646 in the *in vitro* mammalian cell transformation assay in the absence of exogenous metabolic activation. Unpublished Laboratory Report (1981) from Microbiological Associates submitted to Tenneco Chemicals Company. MA study No T1646.108.
- [58] Microbiological Associates (1981c): Activity of T1677 in the *in vitro* mammalian cell transformation assay in the absence of exogenous metabolic activation. Unpublished Laboratory Report (1981) from Microbiological Associates submitted to Tenneco Chemicals Company. MA project No T1677.108.
- [59] Microbiological Associates (1981d): Activity of T1646 in the *in vivo* cytogenetics assay in rodents. Unpublished Laboratory Report from Microbiological Associates submitted to Tenneco Chemicals Company. MA study No T1646.112.
- [60] Microbiological Associates (1982): Activity of T1674 in the *in vitro* mammalian cell transformation assay in the absence of exogenous metabolic activation. Unpublished Laboratory Report from Microbiological Associates submitted to Tenneco Chemicals Inc. MA project No T1674.108.
- [61] Palmer, C.A.N., Hsu, M.H., Griffin, K.J., Raucy, J.L., Johnson, E.F. (1998): Peroxisome proliferator activated receptor-? expression in human liver. *Mol. Pharmacol.* 53, 14 – 22

- [62] Peters, J.M., Cattley, R.C., and Conzalez, F.J. (1997): Role of PPAR α in the mechanism. *Food Additives and Contaminants* 8 (6), 701 – 706
- [63] Pugh G. et al. (1999/2000): Absence of liver effects in Cynomolgus monkeys treated with peroxisomal proliferators. *The Toxicologist* 48, 235; 1102A (1999); *Toxicol. Sci.* (2000); submitted for publication
- [64] Rhodes, C., Orton, T.C., Pratt, I.S., Batten, P.L., Bratt, H., Fackson, S.J. and Elcombe, C.R. (1986): Comparative pharmacokinetics and subacute toxicity of di-(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP) in rats and marmosets: extrapolation of effects in rodents to man. *Environ. Health Perspect.* 65, 299 – 308
- [65] Roberts, R.A., James, N.H., Woodyatt, H.J., Macdonald, N., Tugwood, J.D. (1998): Evidence for the suppression of apoptosis by the peroxisome proliferator activated receptor alpha (PPAR alpha) *Carcinogenesis* 19, ISS 1, 43- 48
- [66] Rose, M.L., Germolec, D.R., Schoonhoven, R., Thurman, R.G. (1997): Kupffer cells are causally responsible for the mitogenic effect of peroxisome proliferators. *Carcinogenesis* 18, 1453 – 1456
- [67] Short, R.D., Robinson, E.C., Lington, A.W., and Chin, A.E. (1987): Metabolic and peroxisome proliferation studies with di-(2-ethylhexyl) phthalate in rats and monkeys. *Toxicol. Ind. Health* 3, 185 – 195
- [68] Tugwood, J.D., Aldridge, T.C., Lambe, T.G., MacDonald, N. and Woodyatt, N.J. (1997): Peroxisome proliferator activated-receptor: Structure and function. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 804, 252 – 265
- [1] Ward, J.M., Peters, J.M., Perella, C.M., Gonzalez, F.J. (1998): Receptor and Nonreceptor-Mediated Organ-Specific Toxicity of Di(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP) in Peroxisome Proliferator-Activated Receptor α -Null Mice. *Toxicol. Pathol.* 26, 240 – 246
- [70] Waterman, S.J., Ambroso, J.L., Keller, L.H., Trimmer, G.W., Nikiforov, A.I., Harris, S.B. (1999): Developmental Toxicity of Di-Isodecyl and Di-Isononyl Phthalates in Rats *Reprod. Toxicol.* 13, 131 – 136
- [71] Waterman, S.J., Keller, L.H., Trimmer, G.W., Freeman, J.J., Nikiforov, A.I. Harris, S.B., Nicolich, M.J., McKee, R.H. (2000): Two-generation reproduction study in rats given di-isononyl phthalate in the diet. *Reprod. Toxicol.* 14, 21 – 36
- [72] Zacharewski, T.R., Clemons, J.H., Meek, M.D., Wu, Z.F., Fielden, M.R., Matthews, JB. (1998): Examination of the in vitro and in vivo estrogenic activities of eight commercial phthalate esters. *Toxicol. Sci.* 46, 282-293
- [73] Zeiger E., Haworth S., Mortelmans K. and Speck W. (1985): Mutagenicity testing of di(2-ethylhexyl)phthalate and related chemicals in *Salmonella*. *Environmental Mutagenesis*, 7, 213-232.