

**4,4'-Isopropylidendiphenol
(CAS-NR.: 80-05-7)**

Vorbemerkung:

Diese Stellungnahme beruht im wesentlichen auf den im Risk Assessment Draft Report (RAR) vom Mai 2001 zitierten Literaturstellen [1]. Die Daten zur Reproduktionstoxizität werden im Detail dargestellt.

Stoffwechsel:

BPA wird in der Ratte nach oraler Verabreichung schnell resorbiert und durch einen First-pass-Metabolismus zu Konjugaten verstoffwechselt. Es wird überwiegend BPA-Glucuronid gebildet, in geringen Mengen auch BPA-Sulfat. Die Ausscheidung erfolgt hauptsächlich über den Feces, wobei der Großteil der verabreichten Menge innerhalb von 24 Stunden ausgeschieden wird [1].

Neue in-vivo Daten über die vergleichende Pharmakokinetik von BPA nach oraler Verabreichung weisen beim Menschen im Gegensatz zur Ratte auf eine schnellere und vollständige Verstoffwechslung zum BPA-Monoglucuronid und dessen Ausscheidung über den Urin hin [2].

Reproduktionstoxizität/Fertilitätsminderung:

BPA wurde bezüglich dieses Endpunktes eingehend an der Ratte unter Einbeziehung eines Niedrigdosisbereiches („low doses“) und Parametern der postnatalen Entwicklung untersucht (siehe Tabelle 1).

Tabelle 1: Daten zur Fertilitätsminderung durch BPA

STUDY DESIGN	EFFECT LEVEL	CRITICAL EFFECT	REFERENCE
Rat			
<p><u>1-Generation-Study:</u> CD rats; 10/sex/group (F0); 15/sex/group (F1); administration in diet during pre mating, mating, gestation, lactation; 1000, 3000, 9000 ppm (70, 200, 650 mg/kg bw/day for males and 100, 300, 950 mg/kg bw/day for females) F1 animals were initiated in a 90 day feeding study</p>	<p><u>NOAEL parental:</u> 1000 ppm (70 mg/kg bw/day for males and 100 for mg/kg bw/day for females) based on reduced body weight gain</p> <p><u>NOAEL reproductive performance and developmental effects:</u> 1000 ppm based on reduced body weight gain</p>	<p><u>Parental:</u> At 3000 and 9000 ppm: reduction in body weight gain</p> <p><u>Reproduction and offspring:</u> At 3000 and 9000 ppm: slightly decreased body weight gain</p>	General Electric, IRDC study 313-078 (1976)
<p><u>1-Generation-Study:</u> CD rats; 10/sex/group (F0); 15/sex/group (F1); administration in diet during pre mating, mating, gestation, lactation; 100, 250, 500, 750, 1000 ppm (5, 15, 30, 50, 60 mg/kg bw/day for males and 10, 25, 50, 75, 100 mg/kg bw/day for females) F1 animals were initiated in a 90 day feeding study</p>	<p><u>NOAEL parental:</u> 1000 ppm (60 mg/kg bw/day for males and 100 mg/kg bw/day for females)</p> <p><u>NOAEL reproductive performance and developmental effects:</u> 1000 ppm</p>	-	General Electric, IRDC study 313-112 (1978)
<p><u>2-Generation-Study:</u> Sprague-Dawley rats; 25/sex/group (F0, F1, F2); administration by gavage during pre mating, mating, gestation, lactation; 0.2, 2, 20, 200 µg/kg bw/day</p>	<p><u>NOAEL parental:</u> 200 µg/kg bw/day</p> <p><u>NOAEL reproductive performance and developmental effects:</u> 200 µg/kg bw/day</p>	-	Chemical Compound Safety Research Institute, No. SR-98101 (2000)
<p><u>3-Generation-Study:</u> Sprague-Dawley rats; 30/sex/group (F0, F1, F2, F3); administration in the diet during pre mating, mating, gestation, lactation; 0.15, 0.3, 4.5, 75, 750, 7500 ppm (0.001, 0.02, 0.3, 5, 50, 500 mg/kg bw/day for males and</p>	<p><u>NOAEL parental:</u> 75 ppm (5 mg/kg bw/day) based on decreased body weight gain</p>	<p><u>Parental:</u> At 750 and 7500 ppm: moderately to strongly decreased body weight gain (up to 25 %) for F0, F1, F2 parents and F3 retained adults At 7500 ppm only: commonly reduction of absolute organ weights while relative organ weights were increased or unchanged; increased incidences of renal tubular degeneration in</p>	Tyl et al., Unpublished Report, Research Triangle Institute RTI Report No. 65C-07036-000 (2000)

STUDY DESIGN	EFFECT LEVEL	CRITICAL EFFECT	REFERENCE
females)	<p><u>NOAEL reproductive performance and de-developmental effects: 750 ppm (50 mg/kg bw/day) based on reduction in implantations and total and live pups/litter at birth</u></p>	<p>kidneys and chronic hepatic inflammation</p> <p><u>Reproduction and offspring:</u> At 7500 ppm: reduction in implantations and total and live pups/litter at birth for F1, F2 and F3; reduced body weight gain of offspring during lactation beginning on PND 7 for F1, F2 and F3; delayed acquisition of vaginal patency and preputial separation for F1, F2 and F3 offspring considered secondary to decreased body weights (delayed preputial separation also at 750 ppm in F1, but not F2 or F3); reduction in absolute and relative paired ovary weights in F1, F2 and F3</p>	
Mouse			
<p><u>Continuous Breeding Study:</u> CD-1 mice; <u>Task 1:</u> preliminary toxicity study (not discussed here); <u>Task 2:</u> continuous breeding phase (controls: 20/sex/group, dosed: 10/sex/group); <u>Task 3:</u> cross-over mating trial (controls and high dose animals only; 17-19/sex/group); <u>Task 4:</u> reproductive assessment of offspring taken from Task 2 (controls: 40/sex/group, dosed: 20/sex/group); administration in the diet during pre-mating, mating, gestation, lactation; 0.25, 0.5, 1 % in the diet</p> <p>uptake according to NTP report: 437.5, 875, 1750 mg/kg bw/day</p> <p>uptake according to EC RAR: 300, 600, 1200 mg/kg bw/day for males and 325, 650, 1300 mg/kg bw/day for females</p>	<p><u>NOAEL parental:</u> < 0.25 % based on histopathological findings in the liver and kidneys of males and females (assessed and found in Task 3 and 4)</p> <p><u>NOAEL reproductive performance and developmental effects:</u> 0.25 % based on reduced numbers of litter/pair, litter size and number of live pups/litter (assessed in Task 2, 3 and 4; found in Task 2 and 3)</p>	<p>Limited assessment of parental toxicity in Task 2, 3 and 4</p> <p><u>Task 2: Parental</u> At 1 %: decreased postpartum body weight of dams (body weights were taken at specified intervals without considering pregnancy status; no assessment of organ weight or histopathology) <u>Task 2: Reproduction and offspring</u> At 0.5 and 1 %: reduced numbers of litter/pair, litter size and number of live pups/litter At 1 %: increased pup lethality in F1 animals which were used in Task 4</p> <p><u>Task 3: Parental (only controls and 1 % group tested)</u> Increased relative liver and combined kidney/adrenal gland weights in both sexes; decreased seminal vesicle weight; reduction of sperm motility (no effect on sperm morphology and concentration); decreased body weight (females); increased incidence and severity of histopathologic findings in the liver (hepatocytomegaly [males only], multifocal necrosis, multinucleated giant hepatocytes in both sexes with males being more severely</p>	<p>NTP, NTIS PB86-103 207 (1985)</p>

STUDY DESIGN	EFFECT LEVEL	CRITICAL EFFECT	REFERENCE
		<p>affected) and in the kidneys (cortical tubular dilatation and regeneration, tubular casts, large cortical microcalculi in both sexes but more pronounced in females)</p> <p><u>Task 3: Reproduction and offspring</u> Decreased number of live pups/litter</p> <p><u>Task 4: Parental (=F1 generation from Task 2)</u> At all doses: dose-related increases in adjusted liver and kidney weight in both sexes, depressed right epididymal weight; increased incidence and severity of histopathologic findings in the liver (hepatocytomegaly [males only], multifocal necrosis, multinucleated giant hepatocytes in both sexes with males being more severely affected) and in the kidneys (cortical tubular dilatation and regeneration, tubular casts, large cortical microcalculi in both sexes but more pronounced in females)</p> <p><u>Task 4: Reproduction and offspring (=F2)</u> -</p>	
<p><u>Continous Breeding Study:</u> Same study protocol as used in NTP, NTIS PB86-103 207 (1985) Administration by s.c. implants of 10, 20, 40 mg per day over 18 weeks Task 3 and 4 not conducted due to technical problems</p>	Not applicable	<p>Limited value due to technical problems with test substance application No effects on parental toxicity or reproduction parameters / offspring observed; however, no histopathology was conducted</p>	NTP, NTIS PB84-155 308 (1984)

Der NOAEL für Effekte auf Reproduktionsparameter und Nachkommen liegt bei 50 mg/kg KGW/Tag. Bei höheren Konzentrationen (ab 3000 ppm im Futter; 200 bzw. 300 mg/kg KGW/Tag für männl. bzw. weibl. Tiere) ist in der 1-Generationen-Studie an der Ratte eine leichte Verringerung der Körpergewichtszunahme bei den Nachkommen beobachtet worden. Gleichzeitig war ab 3000 ppm eine verringerte Körpergewichtszunahme der Elterntiere zu verzeichnen.

In der 3-Generationenstudie kam es in der höchsten Dosisgruppe (7500 ppm im Futter; 500 mg/kg KGW/Tag) zu einer Verringerung der Implantationen, Zahl der Nachkommen/Wurf, Zahl der Lebendgeborenen/Wurf und einer verringerten

Körpergewichtszunahme. Die zeitliche Verzögerung der Vaginalöffnung und der Ablösung des Präputiums sowie die Verringerung des Ovargewichtes werden als sekundäre Folgen der verringerten Körpergewichtszunahme der Nachkommen bewertet. Als Zeichen einer parentalen Toxizität wurde eine verringerte Körpergewichtszunahme ab einer Dosis von 750 ppm (50 mg/kg KGW/Tag) bei beiden Geschlechtern beobachtet (siehe Tabelle 2).

Tabelle 2: Daten zur parentalen Toxizität / 3-Generationen-Studie / Ratte_(Tyl et al., 2000)

Reprotox-Effekte	Dosis	Parentale Toxizität
Verringerte Zahl der Implantationen	7500 ppm BPA/Futter	Stark verringerte KGW-Zunahmen
Verringerte Anzahl Junge/Wurf	(= 500 mg/kg/Tag)	
Weniger lebende Jungtiere/Wurf		

Körpergewichte [g] zu Beginn der jeweiligen Paarungsperioden (Tag 70)

Generation	Geschlecht	Kontrolle	750 ppm	% K	7500 ppm	% K
F 0	männlich	502,5	480,4	95,6	401,0***	80,0
	weiblich	293,7	272,2**	93,0	240,8***	82,0
F 1	männlich	494,4	459,4**	92,9	363,9***	73,6
	weiblich	290,6	278,0	95,7	216,8***	74,6
F 2	männlich	521,0	463,3***	88,9	371,0***	71,2
	weiblich	290,3	278,4	95,9	225,6***	77,7
F 3	männlich	481,2 [†]	454,6 [†]	94,5	354,8****	73,7
	weiblich	279,3	274,3	98,2	228,0***	81,6

[†]) Daten für Tag 63 (am Tag 70 wegen zu geringer Tierzahl keine statistische Auswertung)

**) p < 0,01

***) p < 0,001

% K) KGW als % der Kontrolle

Körpergewichte [g] der Weibchen an den Gestationstagen 0 und 20

Generation	Gestationstag	Kontrolle	750 ppm	% K	7500 ppm	% K
F 0	0	291,3	267,6**	91,9	243,4***	83,6
	20	416,6	386,1**	92,7	333,1***	80,0
F 1	0	285,7	269,1	94,2	215,4***	75,4
	20	417,9	395,6	94,7	312,5***	74,8
F 2	0	285,4	271,6	95,2	221,0***	77,4
	20	414,3	391,0	94,4	320,0***	77,2

**) p < 0,01

***) p < 0,001

% K) KGW als % der Kontrolle

Bei 7500 ppm kam es neben der deutlich verringerten Körpergewichtszunahme (um maximal 28,8 %) in einer Vielzahl von Organen zu einer Verringerung der absoluten Organgewichte bei gleichzeitiger Erhöhung oder keiner Veränderung der relativen Organgewichte. Zusätzlich wurden in dieser Dosisgruppe histopathologische Befunde festgestellt: erhöhte Inzidenzen von Tubulusdegeneration in der Niere und chronischer Leberentzündung (siehe Tabelle 3)

Tabelle 3: Daten zur maternalen Toxizität / 3-Generationen-Studie / Ratte (Tyl et al., 2000)

Reprotox-Effekte	Dosis	Maternale Toxizität
Verringerte Zahl der Implantationen	7500 ppm BPA/Futter	Erhöhte Inzidenz an Nierentubuli-Degeneration
Verringerte Anzahl Junge/Wurf	(= 500 mg/kg/Tag)	Erhöhte Inzidenz an chronischer Leberentzündung
Weniger lebende Jungtiere/Wurf		

Nierentubuli-Degeneration / Inzidenz und Schweregrad

F0/Kontrolle/weibl.	0/30	(0 %)
F0/7500 ppm/weibl.	4/17	(24 %; Grad 1 = minimal)
F1/Kontrolle/weibl.	0/30	(0 %)
F1/7500 ppm/weibl.	8/11	(73 %; 7 x Grad 1= minimal; 1 x Grad 2 = mild)
F2/Kontrolle/weibl.	0/30	(0 %)
F2/7500 ppm/weibl.	7/14	(50 %; Grad 1 = minimal)
F3/Kontrolle/weibl.	0/30	(0 %)
F3/7500 ppm/weibl.	0/10	(0 %)

Chronische Leberentzündung / Inzidenz und Schweregrad

F0/Kontrolle/weibl.	0/30 (0 %)
F0/7500 ppm/weibl.	2/17 (12 %; Grad 1 = minimal)
F1/Kontrolle/weibl.	3/30 (10 %; Grad 1 = minimal)
F1/7500 ppm/weibl.	3/11 (27 %; Grad 1 = minimal)
F2/Kontrolle/weibl.	3/30 (10 %; Grad 1 = minimal)
F2/7500 ppm/weibl.	5/14 (36 %; Grad 1 = minimal)
F3/Kontrolle/weibl.	4/30 (13 %; Grad 1 = minimal)
F3/7500 ppm/weibl.	1/10 (10 %; Grad 1 = minimal)

Ähnliche Zeichen der parentalen Toxizität wurden auch in der Continuous Breeding Studie an der Maus beobachtet: Hier kam es ab einer Konzentration von 0,25 % BPA im Futter (438 mg/kg KGW/Tag) zu einem dosisabhängigen Anstieg von histopathologischen Befunden in Leber (Riesenzellen, multifokale Nekrosen; siehe Tabelle 4) und Niere (Tubulusdilatation, Tubulusregeneration, Mikrokalkuli). Weiterhin wurde ab 0,25 % BPA ein Anstieg des Leber- und Nierengewichtes festgestellt. Bei 1 % BPA (1750 mg/kg KGW/Tag) war zusätzlich das Körpergewicht der Muttertiere am Tag der Geburt verringert; weitere Körpergewichtsbestimmungen wurden in Intervallen unabhängig vom Schwangerschaftsstatus erhoben. Die eingeschränkten Untersuchungen zur parentalen Toxizität wurden in den verschiedenen Teilabschnitten der Studie in unterschiedlichem Ausmaß durchgeführt. Verringerungen der Zahl von Würfen/Paar, der Zahl von Lebendgeburten/Wurf, und der Wurfgröße wurden in 2 von 3 Teilabschnitten bei 0,5 % und 1 % BPA (875 bzw. 1750 mg/kg KGW/Tag) festgestellt. Bei Aufzucht der Nachkommen in einer der Teiluntersuchungen war zudem die postnatale Sterblichkeit der Nachkommen bis zum Alter von 74 Tagen in der 1 %-Dosisgruppe deutlich erhöht (37,5 % versus 6,3 % in der Kontrolle).

Tabelle 4: Daten zur parentalen Toxizität / Continuous Breeding Studie / Maus (NTP 1985)

Reprotox-Effekte	Dosis	Parentale Toxizität
NOEL	0,25 % BPA/Futter (= 438 mg/kg/Tag)	Ver mehrt multifokale Lebernekrosen
Verringerte Zahl der Würfe pro Paar	0,5 % BPA/Futter (= 875 mg/kg/Tag)	Deutlich vermehrt multifokale Lebernekrosen
Verringerte Zahl der Lebendgeborenen/Wurf		
Verringerte Zahl der Würfe pro Paar	1 % BPA/Futter (= 1750 mg/kg/Tag)	Stark vermehrt multifokale Lebernekrosen
Verringerte Zahl der Lebendgeborenen/Wurf		
Deutlich erhöhte postnatale Mortalität (74 Tage)		
Vermindertes Samenvesikel-Gewicht		

Multifokale Lebernekrosen / Inzidenz und Schweregrad

Task 3:

F0/Kontrolle/männl.	3/19	(16 %; Grad 1 = minimal)
F0 (1 %) männl.	15/19	(79 %; 3 x Grad 1; 8 x Grad 2; 4 x Grad 3)
F0/Kontrolle/weibl.	6/19	(32 %; Grad 1 = minimal)
F0 (1 %) weibl.	11/19	(58 %; 3 x Grad 1; 5 x Grad 2; 3 x Grad 3)

Task 4:

Kontrolle/männl.	0/20	(0 %)
438 mg/kg/d (0,25 %)/männl.	14/20	(70 %; 8 x Grad 1; 4 x Grad 2; 2 x Grad 3)
875 mg/kg/d (0,50 %)/männl.	19/20	(95 %; 9 x Grad 1; 8 x Grad 2; 2 x Grad 3)
1750 mg/kg/d (1 %)/männl.	11/11	(100 %; 1 x Grad 1; 3 x Grad 2; 7 x Grad 3)
Kontrolle/weibl.	4/20	(20 %; 3 x Grad 1; 1 x Grad 2)
438 mg/kg/d (0,25 %)/weibl.	5/19	(26 %; 4 x Grad 1; 1 x Grad 2)
875 mg/kg/d (0,50 %)/weibl.	9/20	(45 %; 4 x Grad 1; 5 x Grad 2)
1750 mg/kg/d (1 %)/weibl.	11/11	

In einer erst kürzlich publizierten Studie [3] wurde die Hodentoxizität von BPA bei der Ratte nach Verabreichung im Futter untersucht. Dazu erhielten je 8 männliche, 4-Wochen-alte F344-Ratten über einen Zeitraum von 44 Tagen Futter mit einem BPA-Gehalt von 0; 0,25; 0,5 bzw. 1 %, entsprechend einer auf der Basis des Futtermittelsverbrauchs von den Autoren kalkulierten BPA-Aufnahme von 0; 235; 466 bzw. 950 mg/kg KGW/Tag.

Allgemeine Toxizität und Organtoxizität:

Der Futtermittelsverbrauch war in allen BPA-Dosisgruppen nach dem 35. Versuchstag leicht verringert; die Körpergewichtszunahme war ab der niedrigen Dosis beeinträchtigt. Die Körpergewichte bei der Sektion lagen 5,4; 13,3 bzw. 17,9 % unter dem Kontrollwert. Statistische Signifikanz lag bei 0,5 % und 1 % vor. Der Serum-Testosteronspiegel blieb nach BPA-Behandlung unbeeinflusst.

Die absoluten und relativen Lebergewichte waren ab der niedrigen Dosis erniedrigt. Statistisch signifikante Unterschiede traten bei 0,5 und 1 % auf. Das absolute Lebergewicht war bei 0,25 % um 9,5 % erniedrigt. Die relativen Nierengewichte waren ab der niedrigen Dosierung statistisch signifikant erhöht, was vermutlich im Zusammenhang mit dem erniedrigten Körpergewicht steht, da die absoluten Nierengewichte unbeeinflusst waren.

Somit zeigte die Dosis von 0,25 % eine geringgradige systemische Toxizität und Lebertoxizität, während die Dosierungen von 0,5 und 1 % eine deutliche Toxizität zeigten.

Toxizität der männlichen Geschlechtsorgane:**Organgewichte:**

Die absoluten und relativen Organgewichte von Hoden und Nebenhoden waren nicht statistisch signifikant beeinflusst. Die Gewichte der Samenblasen und Koagulationsdrüsen waren ab der niedrigen Dosierung erniedrigt, ein statistisch signifikanter Unterschied lag nur bei den absoluten Gewichten bei 1 % vor. Die Gewichte der dorsolateralen Prostata waren ab der niedrigen Dosis erniedrigt, ein

statistisch signifikanter Unterschied trat nur bei den absoluten und relativen Gewichten bei 1 % auf. Die absoluten und relativen Gewichte der Präputialdrüsen waren ab der niedrigen Dosis statistisch signifikant erniedrigt. Die absoluten Hypophysengewichte waren ab der niedrigen Dosis erniedrigt; ein statistisch signifikanter Unterschied trat nur bei 1 % auf.

Der historische Streubereich ist leider für die Organgewichte nicht angegeben, so dass die Bewertung ausschließlich auf Grund der 8 Tiere in der Kontrollgruppe erfolgen muss. Historische Daten wären insbesondere für die Bewertung der ab der niedrigen Dosis statistisch signifikant erniedrigten Gewichte der Präputialdrüsen hilfreich, da für die absoluten Gewichte nur eine flache Dosis-Wirkungs-Beziehung vorliegt, und für die relativen Gewichte bei 0,5 und 1 % keine Dosisabhängigkeit erkennbar ist.

Die Untersucher setzen das prozentuale Ausmaß der Erniedrigung der Gewichte der männlichen Geschlechtsorgane in Beziehung zur prozentualen Beeinflussung der Lebergewichte und der Körpergewichte. Für die Bewertung werden historische Daten zum Zusammenhang der Beeinträchtigung des Körpergewichtes und der Gewichte der männlichen Geschlechtsorgane aus subakuten Studien des gleichen Labors an 5 Wochen alten F344- bzw. Wistar-Ratten zugrunde gelegt.

Im vorliegenden Versuch wurden 4 Wochen alte Ratten über 44 Tage behandelt. Bei den 4 Wochen alten Ratten erfolgte die Entwicklung der männlichen Geschlechtsorgane während der Behandlungszeit, während bei den normalerweise in 4 Wochen-Versuchen eingesetzten

6-7 Wochen alten Tieren sich die männlichen Geschlechtsorgane bereits in einem reiferen Zustand befinden. Das heisst, systemisch toxische Effekte wie eine Verminderung des Körpergewichtes oder eine Organtoxizität können bei 4 Wochen alten Tieren vermutlich einen stärkeren Effekt auf die Gewichte der männlichen Geschlechtsorgane bewirken als bei älteren Tieren. Hinzu kommt, dass die längere, mehr als 4 Wochen dauernde Behandlungsdauer in diesem Versuch möglicherweise auch eine stärkere Beeinträchtigung der Gewichte der Geschlechtsorgane zur Folge hat, als dies bei einer Einwirkungsdauer von 4 Wochen der Fall wäre.

Histologie:

Die histologischen Untersuchungen am Hoden erfolgten an formalinfixiertem und Hämatoxylin/Eosin (HE)-gefärbtem Material. Diese Art der Aufarbeitung lässt keine sichere Beurteilung zu. Eine detaillierte Beurteilung wird nach heutigem Standard z.B. an Bouin-fixiertem Material durchgeführt (siehe entsprechende Test-Guidelines).

Ab der niedrigsten Dosis wurden histologische Veränderungen im Hoden gesehen. Die Samenkanälchen waren kleiner und die dem Lumen zugewandte Schicht bestand aus Spermatozyten oder runden Spermatiden. Eine Hemmung der Spermatogenese und eine Abnahme von elongierten Spermatiden wurden ebenfalls gesehen. Ausserdem traten ein Verlust an Step 19 Spermatiden in den Stadien VII und VIII und eine Disorganisation später Spermatiden in den Stadien I - VI auf. Bei 0,5 % und 1 % wurde bei einzelnen Tieren Sloughing und Pyknose von späten Spermatiden gesehen. Ab der niedrigen Dosis befanden sich weniger Samenkanälchen in den Stadien I - VI, während die Zahl der Samenkanälchen in den

Stadien IX - XI und XII - XIV erhöht war. Diese Befunde, die lediglich auf der Auswertung von 30 Tubuli/Schnitt basieren, zeigen jedoch keine klare Dosisbezogenheit.

In dieser Studie wurden sehr junge Ratten behandelt (siehe oben). Bei Ratten in diesem Alter finden sich physiologisch bedingt durch die Säuberung des Epithels Zellreste in den Samenkanälchen. Die durch Bisphenol A bedingte Verzögerung in der Körpergewichtsentwicklung bzw. die Lebertoxizität können die Ursache für eine Verzögerung des testikulären Reifungsprozesses mit den beobachteten histologischen Befunden sein. Das beschriebene Sloughing kann auch artefiziell bedingt sein.

Bewertung der Studie:

Es wurde ab der niedrigsten Dosis eine systemische Toxizität festgestellt, die bei 0,25 % geringfügig und bei 0,5 % und 1 % deutlich ausgeprägt war. Die Körpergewichtsbeeinträchtigung ab 0,5 % lag über den Anforderungen an eine MTD.

Ab der niedrigsten Dosis wurden Effekte auf die Gewichte der männlichen Geschlechtsorgane festgestellt und histologische Hodenbefunde erhoben. Ein statistisch signifikanter Unterschied bezüglich der Gewichte der männlichen Geschlechtsorgane wurde bei 0,25 % nur für die Präputialdrüsen ermittelt. Der Vergleich des prozentualen Ausmaßes der Organgewichtserniedrigungen bezogen auf das Körpergewicht mit Ergebnissen aus anderen subakuten Versuchen ist wegen des etwas unterschiedlichen Tialters bei Versuchsbeginn (4 Wochen versus 5 Wochen alt) nicht unproblematisch. Der Grad der Toxizität für die Hoden und akzessorischen Geschlechtsorgane wird von den Untersuchern als nicht groß und die Effekte werden als möglicherweise reversibel nach Absetzen der Behandlung bezeichnet.

Somit traten Effekte auf die männlichen Geschlechtsorgane ausschließlich im Bereich systemischer Toxizität auf. Die „nicht großen“ Effekte auf die männlichen Geschlechtsorgane korrelierten mit geringer (0,25 %) bzw. deutlicher (0,5 % und 1 %) systemischer Toxizität und Lebertoxizität. Auf Grund der Verwendung junger, bezüglich der Geschlechtsorgane sehr unreifer Tiere, ist zu vermuten, dass die beobachteten Effekte auf die männlichen Geschlechtsorgane die unspezifische Folge der systemischen Toxizität mit verzögerter Körpergewichtsentwicklung sind.

Reproduktionstoxizität/Entwicklungsschädigung:

Die vorliegenden Studien zur entwicklungsschädigenden Wirkung sind in Tabelle 5 zusammengestellt. Es sind je eine valide Teratogenitätsstudie an Ratten und Mäusen nach oraler Verabreichung von BPA vorhanden.

Tabelle 5: Daten zur entwicklungsschädigenden Wirkung von BPA

STUDY DESIGN	EFFECT LEVEL	CRITICAL EFFECT	REFERENCE
Rat			
<u>Teratogenicity Study:</u> CD pregnant rats; 18-29/group; administration by gavage on gestation days 6 to 15; 160, 320, 640, 1280 mg/kg bw/day	<u>NOAEL maternal:</u> < 160 mg/kg bw/day based on clinical signs and decreased body weight gain <u>NOAEL offspring:</u> 640 mg/kg bw/day	<u>Maternal:</u> At 1280 mg/kg bw/day high mortality occurred (26 %) therefore this group was excluded for statistical analysis; At all dose levels: clinical signs of toxicity; decrease in body weight gain during treatment and gestation period <u>Offspring:</u> -	NTP, NTIS PB85-205 112 (1985c)
<u>OECD 421:</u> Pregnant Wistar rats; 4/sex/group; administration by gavage during pre-mating, mating, gestation and lactation until PND6; single dose of 1000 mg/kg bw/day	Not applicable	Limited study due to study design weaknesses (e.g. small litter numbers); pregnancy was achieved in 3 of 4 pairs Reduced body weight gain in parental animals over complete dosing period; increased number of corpora lutea number in one of three pregnant rats	Piersma et al., RIVM Rapport No. 650030 002 December 1998
<u>Teratogenicity Study:</u> Pregnant Sprague-Dawley rats; 4-12/group; administration by i.p. injection on gestation days 1 to 15; 85 and 125 mg/kg bw/day	Not applicable	Limited study due to limited reporting and study design weaknesses (e.g. small litter numbers) No reliable information on maternal toxicity, at necropsy of dams signs of toxicity to the lungs and peritonitis at 125 mg/kg bw/day At both doses: decreased number of live fetuses/ litter, fetal body weight, crown-rump lengths; increases in number of litters with incomplete ossification, reduced sternbrae and enlarged cerebral ventricles	Hardin et al., Scand. J. Work. Environ. Health 7, 66-75, 1981
Mouse			
<u>Teratogenicity Study:</u> CD-1 pregnant mice; 21-26/group; administration by gavage on gestation days 6 to 15; 500, 750, 1000, 1250 mg/kg bw/day	<u>NOAEL parental:</u> < 500 mg/kg bw/day based on increased liver weight	<u>Parental:</u> Mortality at 0, 500, 750, 1000 and 1250 mg/kg bw/day: 0 %, 7.1 %, 3.6 %, 6.3 % and 18.2 %, respectively At 1250 mg/kg bw/day: decrease of maternal body weight gain during gestation and treatment; decreased gravid uterine weight At 500, 750, 1000 and 1250 mg/kg bw/day: increased relative liver weight	NTP, NTIS PB85-205 102 (1985a)

STUDY DESIGN	EFFECT LEVEL	CRITICAL EFFECT	REFERENCE
	NOAEL offspring: 1000 mg/kg bw/day based on resorbed and dead fetuses/litter and decreased fetal body weight	Offspring: At 1250 mg/kg bw/day: increased percentage of resorbed and dead fetuses/litter; decreased fetal body weight; no teratogenicity was observed	

An der Ratte zeigten sich keine schädigenden Wirkungen auf Reproduktionsparameter oder Feten. Hingegen war im gesamten Dosisbereich (160-1280 mg/kg bw/day) eine deutliche maternale Toxizität zu beobachten, welche durch klinische Symptome und verringerte Körpergewichtszunahme gekennzeichnet war. Die hohe Mortalitätsrate nach 1280 mg/kg KGW/Tag führte zu einem Ausschluss der Dosisgruppe von der statistischen Auswertung.

Bei der Maus wurden in der höchsten Dosisgruppe von 1250 mg/kg ein erhöhter Prozentsatz an resorbierten und toten Feten pro Wurf, aber keine teratogenen Effekte, verzeichnet. In dieser Dosisgruppe kam es bei den Muttertieren zu verringerter Körpergewichtszunahme, verringertem graviden Uterusgewicht und erhöhter Mortalität. Zusätzlich wurde bei den Muttertieren ab einer Dosis von 500 mg/kg eine Erhöhung des relativen Lebergewichts festgestellt.

In einer orientierenden Studie nach OECD Guideline 421 wurden keine teratogenen oder fetotoxischen Effekte berichtet. Bei einem von drei trächtigen Muttertieren wurde eine erhöhte Zahl an Corpora lutea gefunden. Bei beiden Geschlechtern zeigte sich eine deutliche Verringerung der Körpergewichtszunahme während der gesamten Applikationsdauer.

Weiterhin wurden verschiedene exploratorische Studien an Ratte und Maus durchgeführt, welche sich mit der Wirkung sehr geringer Dosen bei in-utero Exposition beschäftigen. Positive Befunde konnten in umfangreichen Nachstelluntersuchungen und auch in 2- oder 3-Generationenstudien (siehe Tabelle 1) nicht bestätigt werden (siehe [1]).

Ergebnisse weiterer toxikologischer Untersuchungen (Details siehe [1]):

In einer 2-Jahres-Fütterungsstudie an F344 Ratten wurde ein LOAEL von 74 mg/kg KGW/Tag basierend auf einer Verringerung der Körpergewichtszunahme ermittelt.

An Mäusen zeigte sich in einer 2-Jahres-Fütterungsstudie ein LOAEL von 120 mg/kg KGW/Tag für männliche Tiere, basierend auf dem Auftreten mehrkerniger Riesenzellen in der Leber, und ein LOAEL von 650 mg/kg KGW/Tag für weibliche Tiere, basierend auf einer Verringerung der Körpergewichtszunahme.

In einer 90-Tage-Fütterungsstudie an Hunden wurde ein NOAEL von 80 mg/kg KGW/Tag definiert, welchem eine Zunahme des relativen Lebergewichtes zugrunde liegt.

Zahlreiche in vitro und in vivo Untersuchungen (siehe z.B. EPA [4] und UBA [5]) beschäftigten sich mit der Untersuchung der endokrinen Wirkung von BPA. In vitro Screeningtests zeigten eine östrogenähnliche Aktivität von BPA, welche um den Faktor 10^3 bis 10^5 geringer war als die Aktivität von Östradiol. In vivo Screeningtests

zeigten eine schwache östrogenähnliche Wirkung von BPA im Uterotrophietest nach oraler Verabreichung systemisch toxischer Dosen, erbrachten aber keine Hinweise auf anti-östrogene, androgene oder anti-androgene Aktivität.

Fazit:

Reproduktionstoxizität/Fertilitätsminderung:

Im Zusammenhang mit der Frage der Einstufung von BPA als fertilitätsmindernd sind Befunde aus einer Studie an der Maus sowie aus zwei Studien an Ratten zu diskutieren.

- 1) In der Continuous Breeding Studie an der Maus werden nur in der höchsten Dosisgruppe (1 % BPA im Futter = 1750 mg/kg KGW/Tag) ein verringertes Samenvesikel-Gewicht und eine verringerte Spermienmotilität bei unveränderter Spermienmorphologie und -Konzentration beobachtet; ausserdem ist die postnatale Mortalität der Jungtiere deutlich erhöht. Da diese Dosierung deutlich oberhalb der Limit-Dosis liegt, werden diese Befunde als nicht einstufigsrelevant gewertet. Die ausserdem ab einer Dosis von 0,5 % BPA im Futter (875 mg/kg KGW/Tag) beobachtete verminderte Anzahl der Würfe pro Paar sowie der Lebendgeborenen/Wurf sind als Folgen der ausgeprägten parentalen Toxizität anzusehen (multifokale Lebernekrosen).
- 2) In der 3-Generationen-Studie an der Ratte sind in der Gruppe mit der höchsten Dosis (500 mg/kg KGW/Tag) die Zahl der Implantationen, die Wurfgröße und die Zahl der Lebendgeborenen/Wurf verringert. Allerdings war bei dieser Dosis die maternale Toxizität stark ausgeprägt (Nierentubuli-Degenerationen, Leberentzündungen, drastisch verminderte Körpergewichtszunahme). Daher werden die beobachteten Reproduktionseffekte als sekundäre Folge der primären maternalen Toxizität und damit als nicht einstufigsrelevant gewertet.
- 3) In einer erst kürzlich publizierten Studie von Takahashi et al. werden nach 44-tägiger Verabreichung von ≥ 235 mg/kg KGW/Tag ($\geq 0,25$ % im Futter) an 4 Wochen alte Tiere ein verringertes Präputialdrüsengewicht sowie histologische Befunde einer Hodentoxizität festgestellt. Derartige Effekte wurden jedoch in zwei anderen validen Studien mit vergleichbaren Dosierungen nicht gefunden (90-Tage-Studie/General Electrics und 3-Generationen-Studie/Tyl et al.). Allerdings weist die Studie von Takahashi et al. eine besondere Untersuchungstiefe (u.a. Staging der Spermaentwicklung) auf im Gegensatz zu den beiden anderen Rattenstudien. Die Effekte auf die männlichen Geschlechtsorgane korrelierten mit geringer (0,25 %) bzw. deutlicher (0,5 und 1 %) systemischer Toxizität und Lebertoxizität. Auf Grund der Verwendung junger, bezüglich der Geschlechtsorgane sehr unreifer Tiere, ist zu vermuten, dass die beobachteten Effekte auf die männlichen Geschlechtsorgane die unspezifische Folge der systemischen Toxizität mit verzögerter Körpergewichtsentwicklung sind.

Während die 3 obengenannten Studien jeweils für sich allein betrachtet eher für keine Einstufung dieses Endpunktes sprechen, erscheint in der Gesamtschau der vorliegenden Daten eine Einstufung von BPA bezüglich fertilitätsmindernder Effekte in Kategorie 3 (R_F: 3) dennoch angemessen, um den verbleibenden leichten

Unsicherheiten bei der Bewertung der Effekte - besonders in der Studie von Takahashi & Oishi - Rechnung zu tragen.

Reproduktionstoxizität/Entwicklungsschädigung:

In den Teratogenitätsstudien zeigt sich eine ausgeprägte maternale Toxizität bei Ratte und Maus. Während bei der Ratte in validen Studien keine entwicklungsschädigenden Effekte beobachtet werden, kommt es bei der Maus bei 1250 mg/kg KGW/Tag zu einem erhöhten Prozentsatz an resorbierten und toten Feten/Wurf und zu einem verringerten fetalen Körpergewicht, aber zu keinen Hinweisen auf eine teratogene Wirkung von BPA. Da embryotoxische Effekte somit nur bei der Maus und erst bei einer Dosis deutlich oberhalb der Limit-Dosis und im Bereich ausgeprägter maternaler Toxizität auftreten, erfolgt gemäß den EG-Einstufungskriterien keine Einstufung von BPA (R_E: -).

Literatur:

- [1] Health and Safety Executive: Risk assessment of 2,2-bis (4-hydroxyphenyl)propane (Bisphenol A). Human health effects. Draft of May 2001
- [2] Dekant, W. et al.: Comparative toxicokinetics of environmental hormones and phytohormones in humans and rats. Second Status Seminar on Endocrine Disrupters, Berlin, Abstract Book, p. 61 (2001)
- [3] Takahashi, O. and Oishi, S.: Testicular toxicity of dietary 2,2-bis(4-hydroxyphenyl)-propane (bisphenol A) in F344 rats. Archives of Toxicology 75, 42-51 (2001)
- [4] EPA: U.S Environmental Protection Agency, National Institute of Environmental Health Sciences / NIEHS, National Toxicology Program / NTP; 10-12. Okt., 2000, Final Report of the Endocrine Disruptors Low-Dose Peer Review, vom 14. Mai 2001. <http://ntp-server.niehs.nih.gov/htdocs/liason/LowDoseWebPage.html>
- [5] UBA: Umweltbundesamt, Berlin, 18 – 29 Nov. 2000, Bisphenol A: Low dose effects - high dose effects. <http://www.status-umwelthormone.de/>.

Stand: November 2001