

Akademie für Ärztliche Fortbildung und Weiterbildung
der Landesärztekammer Hessen

„Umwelttoxinen auf dem Prüfstand: Wie schädlich sind Acrylamid und Phthalate“

Bad Nauheim, 19.03.2005

Toxikologie der Phthalate

Volker Mersch-Sundermann



Institut für Innenraum- und Umwelttoxikologie
Universitätsklinikum
der Justus-Liebig-Universität Gießen



DEHP

Expositionsquellen und -pfade

- Nahrungsmittel
- Innenraumlufth (Luft und Stäube) auch Kfz
Fußbodenbeläge
Einrichtungsgegenstände
- Außenluft
- Trinkwasser
- Medizinprodukte (PVC-Schläuche)
Ernährung
Beatmung
Infusionen
ECMO
- Kinderspielzeug / Babyartikel
- Bekleidung (PVC-haltige)
- Verpackungsmaterialien
- Kosmetika / (Kinder)pflgeartikel

Aufnahmepfade: oral – inhalativ – dermal - intravenös

DEHP

Expositionsquellen und -pfade

- Nahrungsmittel
- Innenraumluft (Luft und Stäube) auch Kfz
Fußbodenbeläge
Einrichtungsgegenstände
- Außenluft
- Trinkwasser
- Medizinprodukte (PVC-Schläuche)
Ernährung
Beatmung
Infusionen
ECMO
- Kinderspielzeug / Babyartikel
- Bekleidung (PVC-haltige)
- Verpackungsmaterialien
- Kosmetika / (Kinder)pflegeartikel

Aufnahmepfade: oral – inhalativ – dermal - intravenös

DEHP

(geschätzte tägliche Aufnahme aus verschiedenen Quellen)

Quelle	µg/kg KG x d	Kommentar
Koch et al. (2003)	13,8	Gesamtaufnahme (Mittelwert)
	52,1	Gesamtaufnahme (95%-Perzentile)
Anderson et al. (2001)	7,1	Gesamtaufnahme
NTP / DHHS (1985)	82,9	Gesamtaufnahme (entspr. 5,8 mg/d)
EU (CSTEE)	21,0	Frauenmilch (<i>worst case</i> ; 0-3 Monate) ¹⁾
	8,0	Frauenmilch (<i>worst case</i> ; 3-12 Monate) ¹⁾
	13,0	Ersatzmilch (<i>worst case</i> ; 0-3 Monate) ²⁾
	8,0	Ersatzmilch (<i>worst case</i> ; 3-12 Monate) ²⁾
	21,0	Innenraumlufte (kalkuliert, 0,5-3 Jahre) ³⁾
Sheldon et al. (1993)	0,2	Innenraumlufte (Gase und Stäube)

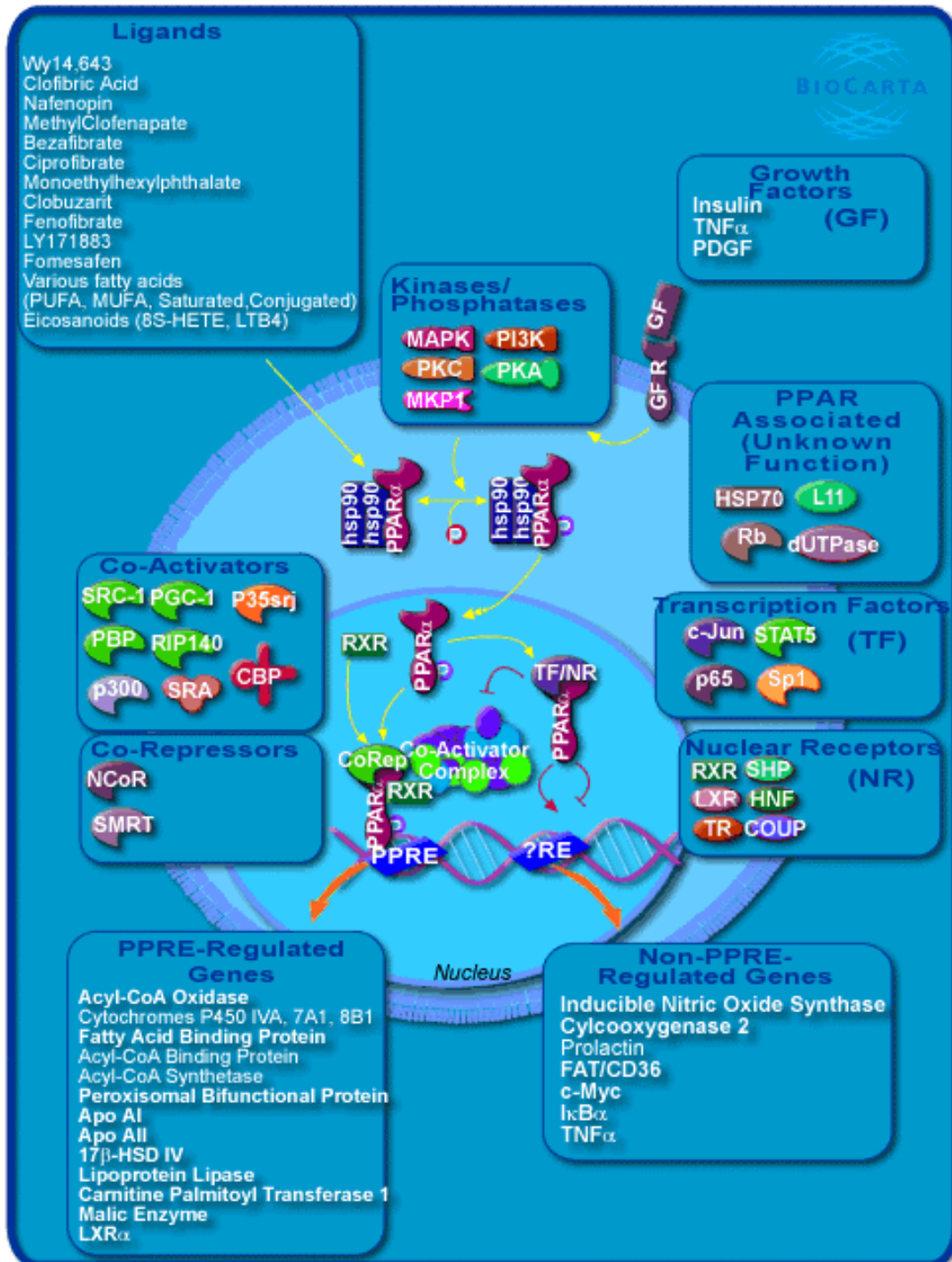
1) Bei 160 µg DEHP/kg Milch

2) bei 440 µg DEHP/kg Trockengewicht der Babynahrung (größte gefundene Konzentration in 39 Proben von 14 Marken)

3) Die Kalkulation basiert auf DEHP-Luftsättigung von 5,3 µg/m³ plus dem 3-fachen der Luftsättigung als Staubbelastung = 21,2 µg/m³.

Internationale, peer-reviewte Publikationen zu Phthalaten und DEHP
(1975-2005)

Stichwort	Anzahl
Phthalate	2910
DEHP	1340
DEHP Toxizität	520
DEHP Peroxisomenproliferation	120
DEHP Reproduktionstoxizität	130
DEHP Kanzerogenität	40



DEHP

Bekannter Wirkmechanismus:
PPAR α -Ligand

PPAR α :
Ligandenaktivierter Trans-
kriptionsfaktor aus der Familie
der nukleären Rezeptoren

PPAR α bildet mit RXR α hetero-
dimere Komplexe, die über eine
PPRE-Bindung an Promotor-
sequenzen die Transkription
unterschiedlicher Gene
aktivieren

PPAR α interferiert mit
Signaltransduktionswegen bei
der Steuerung der Zellproliferation

Zusätzlich: vermutlich
PPAR α -unabhängige
Wirkungen

Effekte einer PPAR α -Rezeptor-Aktivierung in Leberzellen
beim Nagetier (Ratte, Maus)

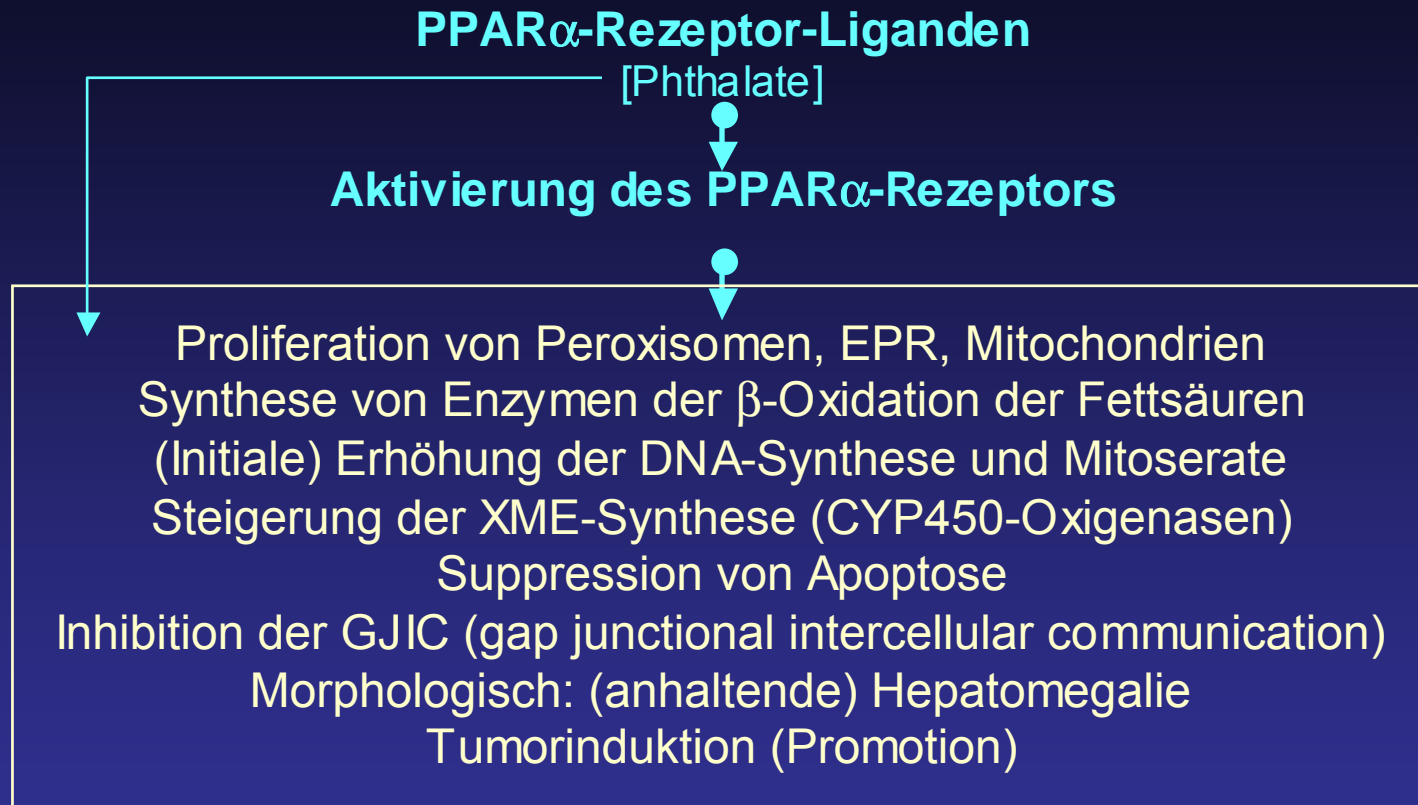
PPAR α -Rezeptor-Liganden

[Phthalate]

Aktivierung des PPAR α -Rezeptors

Proliferation von Peroxisomen, EPR, Mitochondrien
Synthese von Enzymen der β -Oxidation der Fettsäuren
(Initiale) Erhöhung der DNA-Synthese und Mitoserate
Steigerung der XME-Synthese (CYP450-Oxygenasen)
Suppression von Apoptose
Inhibition der GJIC (gap junctional intercellular communication)
Morphologisch: (anhaltende) Hepatomegalie
Tumorinduktion (Promotion)

Effekte einer PPAR α -Rezeptor-Aktivierung in Leberzellen
beim Nagetier (Ratte, Maus)



ACHTUNG:

Im Vergleich zur Maus besitzt der Mensch nur 1-10% der PPAR α -Rezeptordichte
Außerdem: in Primaten inaktivere Form des PPAR α -Rezeptors

DEHP und Phthalate

(diskutierte biologische und toxikologische Effekte)

- Hepatotoxizität / Hepatomegalie
- Nephrotoxizität
- Genetische Toxizität / Mutagenität
- Kanzerogenität / Promotorwirkung
- Teratogenität / Embryotoxizität
- Entwicklungstoxizität
- Reproduktionstoxizität / Testikuläre Toxizität

SPECIES	PROTOCOL	RESULTS	REFERENCES
hamster, Syrian golden 65 treated animals and 80 controls/sex/group	life-time, inhalation, 15 µ/m ³ (total exposure of 7 – 10 mg/kg bw)	No significant differences in tumour incidence	Schmezer et al., 1988
rat, F344 50 rats/sex/group	103 weeks, diet 0, 6000, 12000 ppm (0, 322/394, 674/774 males/females, mg/kg bw/day)	↑ incidence of hepatocellular carcinomas and neoplastic nodules ↓ incidence of pituitary, thyroid C-cell, and testicular interstitial- cell tumours in males	NTP (1982)
rat, F344, only females 20 animals/group	2 years, diet 0, 0.03, 0.1, 1.2% (ca. 0, 15, 50, 550 mg/kg bw/day*)	↑ incidence of hepatocellular carcinomas and neoplastic nodules at 1.2%-dose group	Cattley et al. (1987)
rat, F344, only males 10 treated, 8 controls	95 weeks, diet 2% (ca. 1000 mg/kg/d*)	liver tumours in 6/10 dosed rats and in 0/8 controls	Rao et al. (1987)
rat, F344, only males 14 treated, 10 controls	108 weeks, diet 2% (ca. 1000 mg/kg/d*)	hepatocellular carcinomas and neoplastic nodules in 11/14 dosed rats and in 1/10 controls	Rao et al. (1990)
rat, F344, only males 4 – 6 rats/group	up to 79 weeks, 2% DEHP in diet	hepatocellular carcinomas in 1/4 and 2/4 given DEHP for 52 and 78 weeks, respectively	Tamura et al. (1990 a, b)
rat, Wistar, only males 4 – 6 rats/group	up to 79 weeks, 2% DEHP in diet	No neoplastic lesions	Tamura et al. (1990 b)
rat, F344 70 – 85 rats/sex/group	104 weeks, diet 0, 100, 500, 2500 and 12500 ppm (0, 6/7, 29/36, 147/182, 789/939 mg/kg bw/day for males/females)	↑ incidence of hepatocellular adenoma and carcinomas ↑ incidence of monocellular leukemia	Moore (1996)
mouse, B6C3F1 50 mice/sex/group	103 weeks, diet 0, 3000, 6000 ppm (0, 672/799, 1325/1821 males/females; mg/kg bw/day)	↑ incidence of hepatocellular carcinomas	NTP (1982)
mouse, B6C3F1 70 mice/sex/group	104 weeks, diet 0, 100, 500, 1500, 6000 ppm (0, 6/7, 29/36, 147/182, 789/939 mg/kg bw/day for males/females)	↑ incidence of hepatocellular adenoma and carcinomas	Moore (1997)

DEHP
als nicht-gerontoxisches
Hepatokarzinogen

A Cancer Risk Assessment of Di(2-ethylhexyl)phthalate: Application of the New U.S. EPA Risk Assessment Guidelines

John Doull,* Russell Cattley,† Cliff Elcombe,‡ Brian G. Lake,§ James Swenberg,[¶]
Christopher Wilkinson,|| Gary Williams,** and Marcia van Gemert††¹

**University of Kansas Medical Center, Kansas City, Kansas; †Chemical Industry Institute of Toxicology, Research Triangle Park, North Carolina; ‡Biochemical Research Centre, University of Dundee, Dundee, United Kingdom; §BIBRA International; ¶University of North Carolina, Chapel Hill, North Carolina; ||Jellinek, Schwartz & Connolly, Inc., Arlington, Virginia; **American Health Foundation, Valhalla, New York; and ††van Gemert & Hauswirth, L.L.C., Charlotte Hall, Maryland 20622*

Fazit:

Der der Hepatokanzerogenität im Nagetier zugrunde liegende, molekulare Wirkmechanismus scheint mit hoher Evidenz die PPAR α -induzierte Mitogenese und Zellproliferation zu sein. Andere Prozesse wie etwa die Inhibition von Apoptose und GJIC scheinen ebenso nur im Nagetier eine Rolle zu spielen.

Critical Reviews in Toxicology, 33(6):655–780, 2003

Copyright © Taylor and Francis Inc.

ISSN: 1040-8371

DOI: 10.1080/10408440390250154

PPAR α Agonist-Induced Rodent Tumors: Modes of Action and Human Relevance[‡]

*James E. Klaunig,¹ Michael A. Babich,² Karl P. Baetcke,³
Jon C. Cook,⁴ J. Chris Corton,⁵ Raymond M. David,⁶
John G. DeLuca,⁷ David Y. Lai,⁸ Richard H. McKee,⁹
Jeffrey M. Peters,¹⁰ Ruth A. Roberts,¹¹
and Penelope A. Fenner-Crisp^{12*}*

¹Indiana University School of Medicine, Indianapolis, IN, USA; ²U.S. Consumer Product Safety Commission, Bethesda, MD, USA; ³U.S. Environmental Protection Agency, Washington, DC, USA; ⁴Pfizer, Inc., Groton, CT, USA; ⁵Consultant, Chapel Hill, NC, USA; ⁶Eastman Kodak Company, Rochester, NY, USA; ⁷Merck Research Laboratories, West Point, PA, USA; ⁸U.S. Environmental Protection Agency, Washington, DC, USA; ⁹ExxonMobil Biomedical Sciences, Inc., Annandale, NJ, USA; ¹⁰The Pennsylvania State University, University Park, PA, USA; ¹¹Aventis Pharma, Paris, FRANCE; and ¹²ILSI Risk Science Institute, Washington, DC, USA

„Limited studies of PPAR α agonists in other animal species such as the hamster and nonhuman primates did not show any carcinogenic responses. Human clinical and epidemiology data collected following PPAR α agonist exposure are scant.“

Carcinogenicity assessment by national and international organizations

Organizations	Classification	Significance	References
EPA	Group B2	A substance fully evidenced to have carcinogenicity in animals, and according to the epidemiological study have the insufficient evidence for carcinogenicity in human or no evidence in human.	IRIS, 2002
EU	—	No evaluation.	ECB, 2000
NTP	R	Reasonably anticipated to be human carcinogens.	NTP, 2000
IARC	Group 3*	Unclassifiable as to carcinogenicity in human.	JARC, 2001
ACGIH	A3	Animal carcinogen.	ACGIH, 2001
Japan Society for Occupational Health	Group 2B	Substance assumed to have carcinogenicity in human but the evidence is insufficient.	Japan Society for Occupational Health, 2001

* : Changed from Group 2B to Group 3 in 2000

Deutschland (DFG): **Kategorie 4**: Stoffe mit krebserzeugender Wirkung, bei denen genotoxische Effekte keine oder nur eine untergeordnete Rolle spielen (DFG, 2003)

Reproduktions- und Entwicklungstoxizität der Phthalate

Erkenntnisse aus Tierstudien zur Reproduktionstoxizität der Phthalate

Targetzellen der reproduktionstoxischen Effekte der Phthalate:

- Sertolizellen (Testis)
- [Granulosazellen (Ovarien)]

Hypo(thesen) zu Wirkmechanismen (nach IARC)

- Veränderungen von Signalprozessen (FSH, NF κ B)
- Veränderungen im Hormonstatus (Testosteron)
- Veränderung metabolischer Funktionen (Lipidstoffwechsel)
- Erniedrigung des testikulären Zn- und/oder Fe-Spiegels

Die reproduktionstoxischen Wirkungen sind

- dosisabhängig (in zumeist hohen Dosen)
- vermutlich Hormonrezeptor- und PPAR α -unabhängig
- abhängig vom Zeitpunkt der Exposition (Entwicklungsphase)

Effekte bei intrauteriner Exposition gegenüber Phthalaten:

- Verringerung des Geburtsgewichtes / Hodengewichtes
- Embryotoxizität bis -letalität, Teratogenität
- Missbildungen verschiedener Organe und Strukturen
- Störungen der Reproduktionsfunktion (Testis)

Phthalate-induced Leydig cell hyperplasia is associated with multiple endocrine disturbances

Benson T. Akingbemi*, Renshan Ge*, Gary R. Klinefelter[†], Barry R. Zirkin[‡], and Matthew P. Hardy*⁵

*Center for Biomedical Research, Population Council, New York, NY 10021; [†]Reproductive Toxicology Division, National Health and Environmental Effects Research Laboratory, U.S. Environmental Protection Agency, Research Triangle Park, NC 27711; and [‡]Division of Reproductive Biology, Department of Biochemistry and Molecular Biology, School of Hygiene and Public Health, Johns Hopkins University, Baltimore, MD 21205

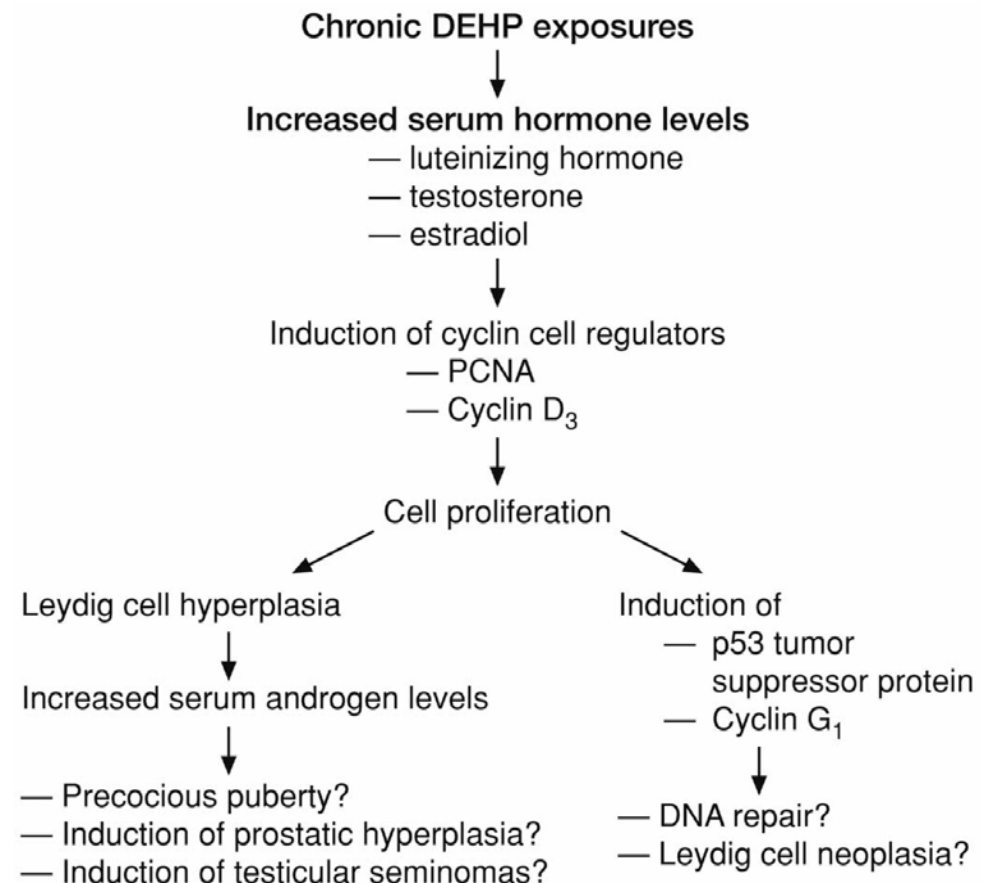
PNAS | January 20, 2004 | vol. 101 | no. 3 | 775–780

Study design:

Rodents (Long Evans rats)

Exposure: DEHP concentrations of
0, 10 and 100 mg/kg bw/d (gavage)
postnatal day 21-120

- ↑ LH (serum)
- ↓ Testosterone (T) (Leydig cells)
- ↑ β-Estradiol (E2) (Leydig cells)
- ↑ Leydig cell hyperplasia
- ↑ proliferating cell nuclear antigen (PCNA)
- ↑ Cyclin G₁ / D₃
- ↑ p53
- ↑ [³H] incorporation (Leydig cells)
- ↑ Aromatase (CYP19) mRNA PCR



NF- κ B Is Activated in the Rat Testis Following Exposure to Mono-(2-Ethylhexyl) Phthalate

BIOLOGY OF REPRODUCTION 72, 479–486 (2005)

Reza J. Rasoulpour and Kim Boekelheide¹

Department of Pathology and Laboratory Medicine, Brown University, Providence, Rhode Island 02912

The process of spermatogenesis requires a delicate balance of proapoptotic and antiapoptotic signaling to maintain optimal sperm output. A major transcription factor known to regulate numerous apoptosis-related genes is NF- κ B. Here we show that mono-(2-ethylhexyl) phthalate (MEHP, 1 g/kg) induces translocation of NF- κ B subunits (p65, p50, and c-Rel) to germ cell nuclei in young rats (Postnatal Day 28) as early as 1 h after exposure. Immunohistochemistry of rat testes exposed to MEHP showed increased p50 and c-Rel presence in spermatocytes and spermatogonia. In addition, there was increased p65 nuclear positivity in Sertoli cells and germ cells after MEHP, while Rel-B localization was unchanged. These alterations correlated with increased nuclear NF- κ B-binding activity after MEHP exposure, as shown by electrophoretic mobility shift assays of whole-testis nuclear protein extracts. The increased activity of this transcription factor was associated with a transient protection of the seminiferous epithelium manifested as a decreased number of germ cell apoptotic nuclei measured by TUNEL assay 6 h after MEHP exposure. These results suggest that NF- κ B is involved in the testicular response to MEHP-induced injury.

Alterations of Activities of Cytosolic Phospholipase A₂ and Arachidonic Acid-Metabolizing Enzymes in Di-(2-Ethylhexyl)Phthalate-Induced Testicular Atrophy

Hyung-Sub KIM¹⁾, Mayumi ISHIZUKA¹⁾, Akio KAZUSAKA¹⁾ and Shoichi FUJITA^{1)*}

¹⁾Laboratory of Toxicology, Department of Environmental Veterinary Sciences Graduate School of Veterinary Medicine, Hokkaido University, Sapporo 060-0818, Japan.

(Received 3 February 2004/Accepted 23 April 2004)

ABSTRACT. Di-(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP), a peroxisome proliferator-activated receptor α (PPAR α) ligand, alters the lipid composition of rat testis, yet the mechanism is unclear. In this study, we investigated the effect of DEHP on the synthesis and metabolism of arachidonic acid (AA), a precursor of eicosanoids, in the testis of prepubertal rats. DEHP (100 and 1,000 mg/kg, 5 days) administration caused a significant reduction in activity of cytosolic phospholipase A₂ (cPLA₂), the rate-limiting enzyme in the AA and eicosanoid synthesis pathways. DEHP increased the expression of 12-lipoxygenase (12-LOX) in rat testis, whereas cyclooxygenase-2 (COX-2) expression was not altered. Cytochrome P450 4A1 (CYP4A1), a product of a PPAR α -regulated gene, was markedly increased in the testis by DEHP administration. Taken together, DEHP suppresses cPLA₂ activity and induces the AA metabolizing enzymes such as 12-LOX and CYP4A1, resulting in the reduction of AA level. These data suggest that altered AA metabolic cascades may be related to the decrease of testosterone concentration in DEHP-induced testicular atrophy.

KEY WORDS: arachidonic acid, cytosolic phospholipase A₂, di-(2-ethylhexyl) phthalate, 12-lipoxygenase, testis.

J. Vet. Med. Sci. 66(9): 1119–1124, 2004

Phthalate Exposure and Human Semen Parameters

*Susan M. Duty,¹ Manori J. Silva,² Dana B. Barr,² John W. Brock,² Louise Ryan,^{3,4}
Zuying Chen,⁵ Robert F. Herrick,¹ David C. Christiani,^{1,6} and Russ Hauser¹*

Background. There is scientific and public concern about commonly used chemicals, including phthalates, that are associated with reproductive toxicity in laboratory animals and are hormonally active. People are exposed to phthalates through diet, consumer products and medical devices. The present study explored whether environmental levels of phthalates are associated with altered semen quality in humans.

Methods. We recruited 168 men who were part of subfertile couples and who presented to the Massachusetts General Hospital andrology laboratory for semen analysis between January 2000 and April 2001. Semen parameters were dichotomized based on 1999 World Health Organization reference values for sperm concentration (<20 million/ml) and motility (<50% motile), as well as Tygerberg Strict criteria for morphology (<4% normal). The comparison group was men for whom these semen parameters were all above the reference values. In urine, eight phthalate

metabolites were measured with high-performance liquid chromatography and tandem mass spectrometry. Specific gravity-adjusted phthalate metabolite levels were categorized into tertiles.

Results. There was a dose-response relation between tertiles of mono-butyl phthalate and sperm motility (odds ratio per tertile = 1.0, 1.8, 3.0; *P*-value for trend = 0.02) and sperm concentration (1.0, 1.4, 3.3; *P*-value for trend = 0.07). In addition, there was a dose-response relation between tertiles of monobenzyl phthalate and sperm concentration (1.0, 1.4, 5.5; *P*-value for trend = 0.02).

Conclusions. There were dose-response relations for mono-butyl phthalate and monobenzyl phthalate with one or more semen parameters, and suggestive evidence for monomethyl phthalate with sperm morphology. The lack of a relation for other phthalates may indicate a difference in spermatotoxicity among phthalates.

(EPIDEMIOLOGY 2003;14:269–277)

Identification of Phthalate Esters in the Serum of Young Puerto Rican Girls with Premature Breast Development

Ivelisse Colón,¹ Doris Caro,¹ Carlos J. Bourdony,^{2,3} and Osvaldo Rosario¹

¹Department of Chemistry, University of Puerto Rico, San Juan, Puerto Rico; ²Pediatric Endocrinology and Diabetes Division, San Juan City Hospital, San Juan, Puerto Rico; ³Department of Pediatrics, University of Puerto Rico, School of Medicine, San Juan, Puerto Rico

Environmental Health Perspectives • VOLUME 108 | NUMBER 9 | September 2000

41 serum samples of girls with premature thelarche (6 months – 8 years old); 35 controls
Collection time: 1994-98 (San Juan City Hospital, Pediatric Endocrinology Section)
GS/MS measurement

Results:

28 serum samples of study group with significant higher levels of phthalate compared to controls:

54 – 117	µg/L	BBP (n=2)
8 – 37	µg/L	DEP (n=5)
15 – 276	µg/L	DBT (n=13)
187 – 2098	µg/L	DEHP (n=25)
6,3 – 38	µg/L	MEHP (n=5)
438	µg/L	DnOP (n=1)

DEPH (study group): Ø 450 ppb

DEHP (controls): Ø 70 ppb

Total (study group): Ø 512 ppb

total (controls): Ø 86 ppb

**Toxikologische Risikobewertung
einer in Frage stehenden Reproduktions- (bzw. Entwicklungstoxizität)
von Phthalaten beim Menschen**

National Toxicology Program – Center for the Evaluation of Risks to Human Reproduction
NTP-CERHR Expert Panel Report on Di(2-ethylhexyl)phthalate
October 2000

European Commission - Scientific Committee on Toxicity, Ecotoxicity and the Environment
(EU CSTE)
Opinion on the results of a second risk assessment of Bis(2-ethylhexyl)phthalate [DEHP]
January 2004

Agency for Toxic Substances & Disease Registry / U.S. Dept. of Health & Human Services
(ATSDR)
Toxicological Profile of Di(2-ethylhexyl)phthalate
September 2002

Centers of Disease Control and Prevention (**CDC**)
Second National Report on Human Exposure to Environmental Chemicals
January 2003

Ministry of Economy, Trade and Industry of Japan (**METI**)
Risk Assessment of Endocrine Disrupters
February 2002

Beratungskommission der Sektion Toxikologie der **DGPT**
Stellungnahme der Beratungskommission der Sektion Toxikologie der DGPT zu möglichen
Gesundheitsgefahren durch Di(2-ethylhexyl)phthalat (DEHP) aus Medizinprodukten in
neonatologischen Intensivstationen
Oktober 2002

DEHP

(Testikuläre Toxizität und Entwicklungstoxizität)

G.W. Wolfe und K.A. Layton (Wolfe *et al.* 2002)

TherImmune Research Corporation, Gaithersburg, Maryland)

TRC study No. 7244-200

3-Generationsstudie zur Reproduktionstoxizität von DEHP in SD-Ratten

0,1; 0,5; 1,4; 4,8; 14; 46; 359 und 775 mg DEHP/kg KG x d (mit der Nahrung)

Endpunkte:

- Vermindertes Hodengewicht
- Kleine und/oder aplastische Hoden
- Atrophie der Tubuli seminiferi
- Infertilität (nur in hohen Dosen)

NOAEL: 4,8 mg/kg KG x d

im Vergleich:

13-Wochenstudie mit SD-Ratten von Poon *et al.* (1997):

NOAEL: 3,7 mg/kg KG x d

Margin-of-Safety (MOS) values

Sicherheitsabstand zwischen Aufnahmenge und NOAEL
(hier: 4,8 mg/kg KG x d für DEHP und testikuläre Toxizität)

MOS	bei Aufnahme von
676	7,1 µg/kg KG x d (nach Anderson et al., 2001)
92	52,1 µg/kg KG x d (90%-Perzentile nach Koch et al., 2003)
229	21 µg/kg KG x d (worst-case bei Frauenmilchbelastung mit 160 µg/kg Milch)
218	21,2 µg/kg KG x d (worst case-Kalkulation Indoor Air und Staub)*

* Die Kalkulation basiert auf DEHP-Luftsättigung von 5,3 µg/m³ plus dem 3-fachen der Luftsättigung als Staubbelastung = 21,2 µg/m³; dieser kalkulierte Wert liegt etwa um das 100-fache über der 90%-Perzentile von DEHP-Innenraummessungen in 125 kalifornischen Häusern (Sheldon et al., 1993), bei denen 240 ng/m³ (Aerosol- und Gasphase) ermittelt wurden

National Toxicology Program
U.S. Department of Health and Human Services
Center for the Evaluation of Risks to Human Reproduction

NTP-CERHR Expert Panel Report on DEHP

October 2000

Conclusions

...the Panel has a **minimal concern** that ambient human exposures (3-30 µg/kg bw/day) adversely affect adult human reproduction. This level of concern is not appreciably altered for adults medically exposed to DEHP or MEHP.

If healthy human infant/toddler exposure is several-fold higher than adults, the Panel has **concern** that exposure may adversely affect male reproductive tract development.

...that exposures of intensively-treated infants/children can approach toxic doses in rodents, which causes the Panel **serious concern** that exposures may adversely affect male reproductive tract development.

...the Panel has **concern** that ambient oral DEHP exposures to pregnant or lactating women may adversely affect the development of their offspring.

Neue Fakten seit dem NTP-CERHR Report 2000

Studien zur Toxikokinetik / PBPK-Modelle

Die Absorption von „schwereren“ (>C8) Phthalaten aus dem MDT von Primaten ist deutlich geringer als bei Nagern

15% hinsichtlich AUC (Kessler *et al.*, 2004); 12-14% MEHP (Anderson *et al.* 2001)

Zus.: Primaten scheiden Phthalate in höherem Maße über die Galle aus als Nager (Kurata *et al.* 2003).

→ bei Primaten geringere Bioverfügbarkeit der Phthalate am Zielorgan

Studien mit *Callithrix jacchus* zur Reproduktionstoxizität in Primaten

(Tomonari *et al.* 2003)

Applikation von 100, 500 und 2500 mg DEHP/kg KG/d beginnend mit 100 Tage alten Tieren über einen Zeitraum von 65 Wochen

→ keine Veränderung des Leber- und Hodengewichtes

→ keine licht- und elektronenmikroskopisch erkennbaren testikulären Läsionen

→ keine Veränderungen des Spermienzahl

Studien zur Interaktion mit Androgenrezeptoren

AR Reporterassays mit *S.cerevisiae* und HepG2-Zellen (Zacharewski *et al.* 1998)

→ kein Hinweis auf Interaktion der Phthalate und Monoester mit Androgenrezeptoren

Studien zur Beeinflussung der Testosteron-Biosynthese

(Gazouli *et al.* 2002)

→ Phthalate beeinflussen eventuell via PPAR α -abhängiger und PPAR α -unabhängiger Mechanismen die Testosteron-Biosynthese (Reduzierter, zellulärer Cholesteroll-Uptake?)

Reevaluation des NTP-CERHR Report 2000 anhand neuer Studien



Reproductive Toxicology 18 (2004) 1–22

Reproductive
Toxicology

www.elsevier.com/locate/reprotox

Review

NTP center for the evaluation of risks to human reproduction reports on phthalates: addressing the data gaps

Richard H. McKee*, John H. Butala, Raymond M. David, Gerhard Gans

Toxicology Research Task Group of the Phthalate Esters Panel of the American Chemistry Council, 1300 Wilson Blvd., Arlington, VA 22209, USA

- Exposures within the general U.S. population are at levels similar to or lower than the estimates used by NTP-CERHR (2000).
- NOAELs are similar to or higher than those used by NTP-CERHR (2000).
- Primates may be less sensitive than rodents to the reproductive effects of certain Phthalates.
- Levels of concern are minimal to negligible.
(„Given that general human exposures are well below the no effect levels in rodents, potential human risk for development and reproductive toxicity from phthalates at Environmental exposure levels is highly unlikely“)

Table 6
Comparisons of NTP-CERHR consensus views to new exposure and hazard data

Phthalate	Exposed group	Exposure estimate (CERHR) ($\mu\text{g}/\text{kg}$ per day)	More recent exposure estimates ($\mu\text{g}/\text{kg}$ per day)	NOAEL (CERHR) (mg/kg per day)	NOAEL new data (mg/kg per day)	MOE ^a	
						CERHR ^b	New data
BBP	Adult	2	0.43 (2.08) ^c	Reproductive NOAEL (not defined)	50	Not defined	$\sim 10^5$
	Young child	≤ 6	1.64 ^d	Developmental NOAEL (182)	No change	9×10^4	4×10^5
DBP	Adult	2–10	0.86 (3.86) ^c	Reproductive LOAEL M:52, F:80	NOAEL M:60, F:600	Not defined	6×10^4
	Young child	Not provided	2.65 ^d	Developmental (50)	No change	~ 5000 – 25000	19×10^3
DEHP	Adult	3–30	0.61 (3.51) ^c	Reproductive (3.7–14)	~ 100	~ 100	$\sim 39 \times 10^3$
	Healthy infant	10–20 ^e	2.57 ^d	Developmental (~ 40 mg)	No change	Not defined	$\sim 65 \times 10^3$
DEHP—medical	Critically ill infant	1800–3300	12000 ^f	3.7–14	60	~ 1	~ 5
Device use							
DINP	Adult	< 3 – 30	$< \text{LOD}$ (0.73) ^c	Reproductive (> 600)	No change	2×10^5	$\sim 6 \times 10^5$
	Children using toys	Mean < 320	$< \text{LOD}$ (1–11) ^g	Developmental (100–200)	No change	Not defined	10^4 to 10^5
DIDP	Adult	< 3 – 30	DINP is best analogue ^h	Reproductive (427–929)	No change	> 14000	$> 4 \times 10^5$
	Children	> 3 – 30 (?)		Developmental (≥ 38 mg/kg per day)	50	> 1000	$\sim 50 \times 10^3$

^a MOE: margin of exposure, the ratio between the no effect level in rodent studies and the estimated human exposure.

^b Calculations based on data provided in the CERHR monographs.

^c Mean and 95th percentile values for the general population based on the CDC urinary metabolite data [20].

^d Mean value based on urinary metabolite data [21].

^e Estimated exposure by infants reported in the CERHR monograph on DEHP [5].

^f The estimate of 12,000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ per day for critically ill infants is from an FDA assessment of the potential total DEHP contribution from medical treatments and feeding tubes [82].

^g As reported by CPSC [106] “for ‘all toys, teethingers and rattles’ exposure was greatest among 3–12-month-old children”. The mean exposure was 2.91 $\mu\text{g}/\text{kg}$ per day, the median was 1.45 $\mu\text{g}/\text{kg}$ per day and the 95th percentile value was 10.71 $\mu\text{g}/\text{kg}$ per day. Lower values were found for children of other ages.

^h Based on very limited urinary metabolite data [23] as well as information on exposure sources, exposures to DIDP in the general population are believed to be similar to or less than those to DINP.

Stellungnahme der Beratungskommission der Sektion Toxikologie der DGPT
zu möglichen Gesundheitsgefahren durch Di(2-ethylhexyl)phthalat (DEHP) aus
Medizinprodukten in neonatologischen Intensivstationen
(überarbeitete Fassung vom 18.10.2002)

Expositionen

Bluttransfusion bei Neugeborenen	:	1,7 mg/kg KG x d	(EU 2000)
ECMO bei Neugeborenen	:	14,0 mg/kg KG x d	(Shneider et al. 1989)
Parenterale Ernährung d. Neugeborenen	:	3,0 mg/kg KG x d	(Loff et al. 2000)
Resultierende Blutkonzentrationen	:	40-80 mg/L Vollblut	(FDA 2001)
<hr/>			
LOAEL (SD, oral, Sertolizell-Vakuolisierung)*	:	37,6 mg/kg KG x d	(Poon et al. 1997)
LOAEL (SD, oral, Atrophie der <i>T.seminiferi</i>)*	:	367,0 mg/kg KG x d	(Poon et al. 1997)
NOAEL (SD, oral, testikul. und Entwickl.toxizität)*	:	4,8 mg/kg KG x d	(CSTEE 2004)
NOAEL (Ratte, i.v., Läsionen d. Sertolizellen)	:	25,0 mg/kg KG x d	(Sjöberg et al. 1985)
NOAEL (Ratte, i.v. Läsionen d. <i>T.seminiferi</i>)	:	60,0 mg/kg KG x d	(NTP 2001)

* Höhere Freisetzung des aktiven Metaboliten MEHP bei oraler Applikation im Gegensatz zur parenteralen DEHP-Gabe

Stellungnahme der Beratungskommission der Sektion Toxikologie der DGPT
zu möglichen Gesundheitsgefahren durch Di(2-ethylhexyl)phthalat (DEHP) aus
Medizinprodukten in neonatologischen Intensivstationen
(überarbeitete Fassung vom 18.10.2002)

Kalkulation von Margin-of-safety (MOS) values auf der Basis von NOAEL-Werten aus
Tierversuchen und abgeleiteten Expositionen beim Menschen
(der MOS value sollte >100 betragen)

NOAEL ¹⁾	MOS ³⁾ (Erwachsene)	MOS ⁴⁾ (Kinder)	MOS Erwachsene (LZ-Dialyse)	MOS Neugeborene (Transfusion)	Referenz
3,7 (2 ²⁾)	167 ²⁾	9 ²⁾	0,6 ²⁾	1,1 ²⁾	Poon et al. 1997
60	5010	270	18	33	AdvaMed (FDA) 2001
340 (170 ²⁾)	14195 ²⁾	765 ²⁾	51 ²⁾	94 ²⁾	Schilling, unveröff.

- 1) Angaben in mg DEHP pro Kilogramm Körpergewicht und Tag (mg/kg KG x d)
- 2) Korrigiert für 50% Resorption bei oraler Verabreichung an der Ratte (100% parenteral)
- 3) Innenraumluft + PVC-Handschuhe + Autointerieur
- 4) Innenraumluft + Spielzeug + Autointerieur

Stellungnahme der Beauftragtenkommission der Sektion Toxikologie der DGPT
zu möglichen Gesundheitsgefahren durch Di(2-ethylhexyl)phthalat (DEHP) aus
Medizinprodukten in neonatologischen Intensivstationen
(überarbeitete Fassung vom 18.10.2002)

Daten zum Auftreten von Hodenschäden bei Männern, bei denen in der Neugeborenenperiode Behandlungen mit PVC-haltigen Schlauchmaterialien durchgeführt wurden, sind nicht vorhanden.

Der Mechanismus der testikulären Wirkung von DEHP ist unbekannt;

Sowohl PPAR α -abhängige wie auch PPAR α -unabhängige Mechanismen werden diskutiert.

Es ist nicht daher auszuschließen, dass die bei Ratte und Maus beobachteten Hodenschäden auch beim Menschen auftreten können.

Aus der derzeitigen Datenlage lässt sich für Patienten neonatologischer Intensivstationen durch die Benutzung DEHP-haltigen Weich-PVC-Materials ein dringender Handlungsbedarf ableiten

Sind Phthalate beim Menschen reproduktionstoxisch?

National Toxicology Program
U.S. Department of Health and Human Services
Center for the Evaluation of Risks to Human Reproduction

NTP-CERHR Expert Panel Report on DEHP

October 2000

Critical Data Needs

Identification and follow-up studies of human populations (e.g., premature infants) who were heavily exposed to DEHP

Obtain better medical exposure data (e.g., common clinical research design with unified analysis approaches across centers to study DEHP/MEHP exposed neonates and adults longitudinally over decades to capture reproductive, developmental, and other outcomes of concern)

Significance of perinatal exposure (dose-response relationship, relevant animal models, kinetics and mechanisms of action)

Extension of PBPK model (pregnancy, species, ADME, including immature animals and humans, model DEHP/MEHP dose for IV exposure)