



universität
wien

DIPLOMARBEIT

Titel der Diplomarbeit

„Neuere Ergebnisse zur Risikobewertung von Bisphenol A“

Verfasserin

Johanna Rittinger

angestrebter akademischer Grad

Magistra der Naturwissenschaften (Mag.rer.nat.)

Wien, April 2011

Studienkennzahl lt. Studienblatt: A 190 477 456<
Studienrichtung lt. Studienblatt: UF Haushaltsökonomie und Ernährung
UF Geographie und Wirtschaftskunde
Betreuerin: Ao. Univ.-Prof. Mag. Dr. Rosa Lemmens

Danksagung

Ich bedanke mich bei Prof. Rosa Lemmens für die Betreuung meiner Arbeit. Besonderer Dank gilt auch meinen Eltern, die mir dieses Studium ermöglicht haben und mir eine große Stütze waren.

1. EINLEITUNG UND FRAGESTELLUNG	1
2. CHEMISCHE CHARAKTERISTIK UND EINSATZGEBIETE VON BISPHENOL A.....	2
2.1. Chemische Eigenschaften von BPA.....	2
2.1.1. Einsatzgebiete von BPA.....	3
2.2. Faktoren, die die Freisetzung von BPA aus der Verpackung in das Lebensmittel beeinflussen	5
2.3. Metabolismus von BPA im menschlichen Körper.....	7
2.3.1. Dekonjugation	8
2.3.2. Aufnahmewege die den First Pass Mechanismus umgehen	9
2.3.3. Verunreinigungen im Labormaterial führen zu falsch positiven Ergebnissen.	10
3. ANALYSE VON BPA IN LEBENSMITTELN UND BIOLOGISCHEN PROBEN	11
3.1. Probenaufbereitung	11
3.2. Trennmethoden und Detektoren:.....	12
4. EXPOSITION DER BEVÖLKERUNG GEGENÜBER BPA	15
4.1. Studien zur BPA Exposition der Bevölkerung.....	16
4.2. BPA Exposition in verschiedenen Lebensphasen	21
4.2.1. <i>In Utero</i> Exposition von BPA.....	21
4.2.2. BPA Exposition während des Wachstums	21
4.2.3. Unterschiede in der BPA Exposition zwischen den Altersgruppen	23
4.3. Gesammelte Daten zur BPA Konzentration in Körperflüssigkeiten und - Geweben	24
5. TOXIKOLOGISCHE BEWERTUNG VON BISPHENOL A	30
5.1. Diskrepanz zwischen den Sicherheitsagenturen und der “restlichen Wissenschaft”	30
5.1.1. Sicherheitsbeurteilung von BPA in den USA	31
5.1.2. Sicherheitsbeurteilung von BPA in der EU.....	33

5.1.3.	Sicherheitsbeurteilung von BPA in Kanada	34
5.2.	Referenzwerte der Sicherheitsagenturen.....	35
5.2.1.	Entwicklung des Richtwertes der FDA	35
5.2.2.	Entwicklung des Richtwertes der EFSA.....	36
5.2.3.	Entwicklung des Richtwertes von Health Canada.....	37
5.3.	Dosis-Wirkung Beziehung	37
5.4.	Übertragung der Ergebnisse aus den Tierversuchen auf den menschlichen Organismus:	42
5.5.	BPA - ein endokrin aktiver Stoff - Einflüsse auf den Stoffwechsel (Wirkungsmechanismen von BPA).....	43
5.5.1.	Die mögliche östrogene Wirkung von BPA	44
5.5.2.	Androgene Wirkung	47
5.5.3.	Wechselwirkungen mit den Schilddrüsenhormonen	47
5.6.	Einflüsse auf den Stoffwechsel.....	48
5.6.1.	Einfluss auf die Glukosehomöostase	48
5.6.2.	Einfluss auf den Stoffwechsel im Fettgewebe.....	52
5.7.	BPA und oxidativer Stress	57
5.8.	Wirkungen auf das Herz-Kreislauf System	59
5.9.	Wirkungen die im Zusammenhang mit Krebserkrankungen stehen	61
5.9.1.	BPA und seine Rolle bei der Entstehung von Brustkrebs	62
5.9.2.	Prostatakrebs	66
5.9.3.	Wechselwirkungen mit chemotherapeutischen Stoffen	67
5.10.	Weitere Ergebnisse zur Reproduktionstoxizität	73
5.10.1.	Verfrühte Geschlechtsreife bei Mädchen:	73
5.10.2.	Einfluss auf die Reproduktionsorgane	74
6.	SCHLUSSBETRACHTUNG.....	78
7.	ZUSAMMENFASSUNG	79
8.	SUMMARY	81
9.	LITERATURVERZEICHNIS	83

I. Abbildungsverzeichnis

Abbildung 2.1.1: Strukturformel BPA, [BPA-Europe, 2011]	2
Abbildung 5.3.1: Modelle der Dosis- Wirkungsbeziehung, [Vandenberg et al., 2009]	39

II. Tabellenverzeichnis

Tabelle 2.1.1.1: Freisetzung von BPA durch DAB und CHBMA ,[Maia et al. 2010].	6
Tabelle 2.3.3.1: Übersicht über die LODs verschiedener Analysemethoden.....	14
Tabelle 2.3.3.1: BPA Aufnahme, [Lakind und Naiman, 2010].....	17
Tabelle 4.2.3.1: Urinkonzentrationen an Gesamt BPA I	24
Tabelle 4.2.3.2: Urinkonzentrationen an Gesamt BPA II	25
Tabelle 4.2.3.3: BPA Konzentrationen im menschlichen Blut	26
Tabelle 4.2.3.4: BPA Konzentrationen in der Schwangerschaft	27
Tabelle 4.2.3.5: BPA in der Muttermilch.....	28
Tabelle 4.2.3.6: Urinkonzentrationen an freiem BPA.....	29
Tabelle 5.6.1.1: Blutparameter, [Alonso- Magdalena et al., 2010].....	52
Tabelle 5.6.2.1: metabolische Parameter, [Miyawaki et al., 2007].....	56
Tabelle 5.6.2.1: BPA und kardiovaskuläre Erkrankungen/Diabetes, [Melzer et al., 2010].....	60

III. Abkürzungen

ADT: Androgen-Deprivations-Therapie

AR: Androgenrezeptor

BA: Bindungsaffinität

BPA: Bisphenol A

BPF: Bisphenol F

CHBMA: 1,3-Cyclohexan-bis-Methylamin

DAB: 1,4-Diaminobutan

Da: Dalton

DMBA: Dimethylbenzanthracen

E2: Estradiol

ECD: *endocrine disruptor*

ELISA: *enzyme-linked immunosorbent assay*

ER: *estrogen receptor*

Erk: *Extracellular-signal regulated kinase*

ERR: *estrogen related receptor*

GPR-30: *G-Protein coupled estrogen receptor*

GC: Gaschromatographie

IC 50: inhibitorische Konzentration

HPLC: *high pressure (oder auch performance) liquid chromatography*

HWZ: Halbwertszeit

MS: Massenspektroskopie

FD: Fluoreszenz Detektor

Kg: Kilogramm

KG: Körpergewicht

LC: *Liquid Chromotography*

LOAEL: *lowest observed adverse effect level*

LOD: *limit of detection*

NGO: *non governmental organization*

NHANES: *National Health and Nutrition Examination Survey*

NOAEL: *no observed adverse effect level*

PC: Polycarbonat

PET: Polyethylenenterephthalat

pTDI: *provisional tolerable daily intake*

qRT-PCR: *quantitative real time polymerase chain reaction*

SPE: *solid-phase-extraction*

TDI: *tolerable daily intake*

UGT2B1: *UDP glucuronyltransferase 2 family, polypeptide B1*

1. Einleitung und Fragestellung

Spätestens seit dem Dokumentationsfilm „Plastic Planet“ ist 2,2-bis(4-hydroxyphenyl)-propan, besser bekannt unter dem Trivialnamen Bisphenol A (BPA), nicht nur WissenschaftlerInnen ein Begriff. Die Diskussion um BPA nimmt teilweise sehr hitzige Formen an, immer wieder warnen NGOs (in Österreich besonders GLOBAL 2000) vor der schädlichen Wirkung von BPA. Die Art wie derartige Meldungen herausgegeben werden, lässt den/die Konsument/in oft im Glauben, dass die Schädlichkeit gänzlich erwiesen ist und die aufgezeigten Effekte bei BPA Exposition auf jeden Fall eintreten. Dadurch entsteht teilweise eine große Hysterie, die allerdings, wenn es eine Zeit lang ruhig geworden ist um BPA, wieder völlig erlischt. Besonders kontrovers wird die Metabolisierung von BPA diskutiert, die ganz entscheidend dafür ist, ob BPA als unbedenklich oder nicht eingestuft wird. Geht man davon aus, dass die Exposition nur auf oralem Weg erfolgt und BPA sofort durch den „First Pass“ Mechanismus der Leber konjugiert und damit für den Körper unschädlich gemacht wird, bestehe kein Grund zur Sorge über eine Gesundheitsgefährdung des erwachsenen Menschen durch BPA. Eine Reihe an wissenschaftlichen Publikationen spricht sich allerdings dagegen aus und kommt zu dem Schluss, es bestehe eine Gefahr für die Gesundheit. Diese Ergebnisse stehen allerdings im Widerspruch zu einer Reihe anderer Ergebnisse, die die Gefährdung nur als sehr gering und als vernachlässigbar einstufen. Letztere berufen sich auf Studien, die nicht selten durch die chemische Industrie getragen werden. Diese Arbeit geht den Fragen nach, ob zum heutigen Zeitpunkt von einer gesundheitsgefährdenden Wirkung von BPA ausgegangen werden kann und über welche Wirkungsmechanismen BPA seine Wirkung auf welche Organe ausübt.

Die Literaturquellen dieser Arbeit sind zum überwiegenden Teil englischsprachig, zu vielen Fachbegriffen, die teilweise noch relativ neu sind, existiert kein deutsches Gegenstück, daher wurde teilweise der englische Begriff verwendet.

2. Chemische Charakteristik und Einsatzgebiete von Bisphenol A

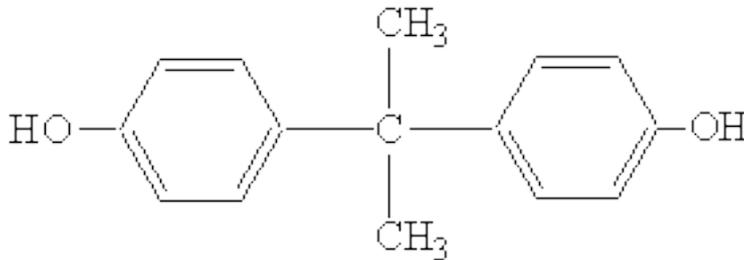


Abbildung 2.1.1: Strukturformel BPA, [BPA-Europe, 2011]

2.1. Chemische Eigenschaften von BPA

2,2-bis(4-hydroxyphenyl)-propan (Trivialname Bisphenol A, Abkürzung BPA) ist ein Kohlenwasserstoff, der in großen Mengen in der chemischen Industrie eingesetzt wird. BPA enthält zwei funktionelle Phenolgruppen (siehe Abbildung 2.1.1), es wird durch die Kombination von zwei Äquivalenten Phenol mit einem Äquivalent Aceton hergestellt. 1891 wurde BPA erstmals von A.P. Dianin synthetisiert, näher erforscht wurde es erstmals in den 1930er bei der Suche nach einem Stoff mit östrogenen Wirkung. Durch seine zwei Benzenringe und die zwei OH Substituenten, passt BPA in die Bindungstasche von Östrogenrezeptoren. Es wurde aber nie als Medikament verwendet, da man kurz darauf Diethylstilbestrol „entdeckte“ und letzteres für diese Zwecke in großem Ausmaß eingesetzt wurde (bis zu dem Verdacht auf schädliche Nebenwirkungen) [Vandenberg et al., 2009].

In den 1950er wurde BPA erstmals kommerziell als Bestandteil von Epoxidharzen eingesetzt, 1957 wurde die Eignung von BPA für die Herstellung von Polycarbonat

erforscht. Durch seine Eigenschaften wie Härte und Transparenz konnte es Stahl auf der einen Seite und Glas auf der anderen Seite ersetzen [Vogel, 2009].

2.1.1. Einsatzgebiete von BPA

Die globale Produktion von BPA betrug 2006 an die 3.8 Millionen Tonnen, davon entfallen 66% auf Polycarbonatprodukte, 30% auf Epoxydharze, 2% auf restliche Harze und weitere 2% werden als Flammschutzmittel in Form von Tetrabrom-Bisphenol A (TBBA) verwendet. Der Anteil an BPA, der für die Produktion von Gegenständen, die mit Lebensmittel üblicherweise in Kontakt kommen, verwendet wird, ist mit 3% relativ gering. Weit höher ist der Anteil bei optischen Medien und elektronischen Geräten (zusammen über 50%). Ferner findet BPA Anwendung in der Bautechnik, der Automobilherstellung, medizinischen Produkten und vielem mehr. Besonders zahnmedizinische Produkte wie Zahnfüllungen oder Versiegelungen, werden im Zusammenhang mit der BPA-Problematik immer wieder erwähnt. Auch wenn der Anteil der Verpackungsmaterialien in der Lebensmittelbranche an der gesamten BPA Produktion gering ist, so ist die Bedeutung dieses Anteiles für die Gesundheit dennoch beträchtlich, wenn man von einer gesundheitsgefährdenden Wirkung von BPA ausgeht. Auf die anderen Quellen, wenn sie auch großen Anteil an der BPA Produktion haben, wird in dieser Arbeit nur am Rande eingegangen, nichtsdestoweniger ist auch ihre Wirkung auf die Gesundheit nicht auszuschließen. Die Haupteinsatzgebiete von BPA im Lebensmittelsektor sind auf der einen Seite als Monomer im Polycarbonat (PC) und als Epoxidharz auf den Innenbeschichtungen von Getränkedosen und Lebensmittelkonserven. In Form von Polycarbonat wird BPA hier vor allem für wieder verwendbare Getränkeflaschen, Babyflaschen, Wasserkocher, wiederbefüllbare Wasserspender und Behälter für Lebensmittel generell verwendet [Bisphenol A Europe, 2010].

2.1.1.1. Einsatz von Polycarbonat in lebensmittelbezogenen Gebrauchsgegenständen

Polycarbonat zeichnet sich durch Transparenz, sein geringes Gewicht und seine Schlagbeständigkeit aus [MAIA et al., 2009]. Nicht zu verwechseln ist Polycarbonat mit Polyethylenenterephthalat (PET). PET wird vor allem für die weicheren Trinkflaschen, deren Gebrauch im letzten Jahrzehnt besonders stark angestiegen ist, verwendet. Auch wenn PET Flaschen von sich aus kein BPA enthalten, so wurde BPA trotzdem in Getränken aus PET Flaschen gefunden. Es wird angenommen, dass BPA schon vorher durch andere Kunststoffbehälter in das entsprechende Getränk gelangt ist. PC hingegen ist wesentlich härter als PET, seine Einsatzbereiche im Lebensmittelsektor sind daher wie erwähnt hitze- und formbeständige Lebensmittelbehältnisse wie Babyflaschen, Mikrowellengeschirr, aber auch Lebensmittelverpackungen. Für den Verbraucher ist es schwer festzustellen in welchen Gegenständen BPA enthalten ist, teilweise ist auf der Lebensmittelverpackung das Kürzel für die Plastikart zu finden. Problematisch ist aber, dass die Kennzeichnung der Plastikart auf der Verpackung nicht verpflichtend ist [Global 2000, 2010].

2.1.1.2. Einsatz von BPA-hältigen Epoxydharzen in lebensmittelbezogenen Gebrauchsgegenständen

Durch Kondensation mit Epichlorhydrin entsteht ein BPA Diglycidylether, der wiederum für die Synthese von Epoxydharzen verwendet werden kann. Beispielsweise werden Metalldosen für die Verpackung von Lebensmitteln innen mit Epoxydharzen beschichtet um sie vor Rosten und Korrosion zu schützen [Vandenberg et al., 2009].

2.2. Faktoren, die die Freisetzung von BPA aus der Verpackung in das Lebensmittel beeinflussen

Neben den genannten Vorteilen von Polycarbonat, liegen seine Schwachstellen in der Anfälligkeit für Degradierung durch Sonnenlicht, Sauerstoff und Feuchtigkeit. Werden die Esterbindungen der BPA Moleküle hydrolysiert, wird BPA freigesetzt. Beschleunigt wird die Hydrolyse durch Hitze und niedrigen bzw. hohen pH - Wert. Hohe Temperaturen können z.B. durch Sterilisation des Lebensmittels in der Verpackung oder Reinigung des Polycarbonat-Behältnisses erreicht werden. Weiter wird die Ablösung von BPA aus der Verpackung durch mechanische Schädigungen begünstigt [Talsness et al., 2009].

Aufgrund der Unterschiede zwischen Erwachsenen und Kleinkindern hinsichtlich der Metabolisierung (siehe S. 7ff.) von BPA und der höheren Exposition pro kg Körpergewicht, ist die Analyse der Freisetzung von BPA aus Babyflaschen besonders wichtig. Durch Maia et al. (2009, 2010) wurden in zwei Studien die Wirkung von Detergentien bzw. Aminen und Amidn auf die Freisetzung von BPA aus Babyflaschen überprüft. Babyflaschen werden nach/vor dem Gebrauch auf unterschiedliche Art gereinigt (manuell, mit einer Geschirrspülmaschine oder durch Auskochen in Seifenlauge). In der Studie aus 2009 wurden fünf handelsübliche Geschirrspülmittel (zwei für die manuelle Reinigung, drei für die Maschine) und ein Bleichmittel (Natrium Hyperchlorit) getestet. Die Flaschen wurden zuerst eine Stunde bei 120°C (Schritt 1) und anschließend fünf Tage bei 25°C (Schritt 2) mit jeweils einem der Spülmittel bzw. dem Bleichmittel erhitzt. Anschließend erfolgten drei Waschgänge (Schritt 3-5) mit destilliertem Wasser, jeweils 1 Stunde bei 120°C. Nach jedem einzelnen Schritt erfolgte eine Analyse des BPA Gehaltes in der Flüssigkeit. BPA wurde in allen Proben, einschließlich der Kontrollgruppe (destilliertes Wasser anstatt des Reinigungsmittels) gefunden. Bis auf ein Reinigungsmittel führten alle zu einer Erhöhung der Freisetzung von BPA in den ersten zwei Schritten. Nach dem ersten Waschgang (Schritt 3) war die BPA Konzentration nicht mehr in allen

Fällen signifikant erhöht (im Vergleich zur Kontrollgruppe), nach dem dritten Waschgang nur mehr durch ein Mittel.

Die zweite Studie von Maja et al. (2010) beschäftigte sich mit dem Umstand, dass PC durch Aminolyse abgebaut werden kann, Amine werden aus diesem Grund auch für den Einsatz im Polycarbonat Recycling angedacht. Es liegt daher nahe, dass aminhaltige Lebensmittel die Freisetzung von BPA aus der Verpackung erhöhen könnten. Maia et al. (2010) untersuchten diese These in einer Studie mit 14 Aminen und 2 Amiden. Die Behandlung erfolgte analog zur Studie aus 2009. Statt mit Detergentien wurden die Flaschen mit einer amin- bzw. aminhaltigen Lösung befüllt. 9 der 16 Substanzen riefen keine erhöhte Freisetzung, im Vergleich zur Kontrollgruppe, von BPA aus den Flaschen hervor. Eine sehr hohe Freisetzung aber verursachten 1,3-Cyclohexan-bis-Methylamin (CHBMA) und 1,4-Diaminobutan (DAB), letzteres ist auch bekannt unter dem Trivialnamen Putrescin. Nach dem ersten Arbeitsschritt setzten CHBMA und DAB die 3853- bzw. 5363-fache Menge BPA im Vergleich zur Kontrollgruppe frei, nach den weiteren Schritten verringerte sich diese Menge (siehe Tabelle 2.1.1.1). Amine kommen in einer Vielzahl von Lebensmitteln vor, DAB kann in Milchprodukten durch Proteindegradation entstehen. Vertiefende Studien zu diesen, teilweise sehr deutlichen Ergebnissen sind unbedingt notwendig.

Substanz	BPA Konzentration (ng/ml)				
	S1 (120°C, 1h)	S2 (25°C, 5 Tage)	S3 (120°C, 1h, danach WG 1)	S4 (120°C, 1h, danach WG 2)	S5 (120°C, 1h, danach WG 3)
Kontrolle* für Charge A	0.097	0.091	0.094	0.036	0.044
DAB**	520.296	492.573	35.839	15.857	7.943
Kontrolle* für Charge B	0.047	0.045	0.033	0.020	0.022
CHBMA***	181.091	180.236	25.795	8.538	6.085

DAB: 1,4-Diaminobutan, CHBMA: 1,3-Cyclohexan- bis-Methylamin, S: Arbeitsschritt, WG: Waschgang; *destilliertes Wasser, **in Charge 1 geführt, *** in Charge 2 geführt

Tabelle 2.1.1.1: Freisetzung von BPA durch DAB und CHBMA ,[Maia et al. 2010]

Da die Freisetzung von BPA hauptsächlich auf die Degradierung des Polycarbonatpolymers zurück zu führen ist, suchte man nach geeigneten Schutzmaßnahmen. Als besonders wirkungsvoll haben sich UV-absorbierende Substanzen erwiesen, aber auch „*hindered amine light stabilizers*“ (HALS) sind wirksam gegen die, für das PC schädigende, Einwirkung von UV-Licht [Diepens und Gjisman, 2010].

2.3. Metabolismus von BPA im menschlichen Körper

Eine der grundlegenden Fragestellungen die Risikobewertung von BPA betreffend, ist die Art seiner Metabolisierung im menschlichen Körper. Oral aufgenommenes BPA wird in der Leber durch Glucuronidierung zu dem wasserlöslichen BPA Glucuronid konjugiert und mit dem Urin ausgeschieden. Daneben wurde *in vivo* auch die Sulfatierung von BPA nachgewiesen. Die biologische Aktivität und damit auch die Toxizität dieser Derivate sind sehr gering. Durch den First Pass Mechanismus in der Leber wird BPA daher unschädlich gemacht. Wird freies BPA aber auf einem Weg aufgenommen, der nicht durch die Leber führt, (z.B. über die Haut oder die Lunge), entgeht BPA dieser Detoxifikation und freies BPA kann seine Wirkung entfalten. Wird von einer rein oralen Aufnahme und einer 100% Detoxifikation durch den First Pass Metabolismus ausgegangen, und die Dekonjugierung von BPA im Körper bis zur Ausscheidung über die Niere ausgeschlossen, so könnte die Diskussion um eine mögliche negative Wirkung von BPA auf den menschlichen Körper abgeschlossen werden und BPA in weiterer Folge als unbedenklich eingestuft werden [Vandenberg et al., 2009]. Das Hauptargument, das gegen diese Tatsache spricht, ist, dass in mehreren Studien freies BPA in menschlichen Geweben und Körperflüssigkeiten gefunden wurde (siehe S.15ff.). Woher das freie BPA in diesen Proben stammt, ist nicht vollständig klar, folgende Möglichkeiten werden diskutiert:

- Dekonjugation im Körper: es existiert die Hypothese, dass konjugiertes BPA im Körper dekonjugiert werden kann, eindeutig belegt ist diese Annahme aber nicht.
- Aufnahmewege die den First Pass Mechanismus umgehen
- Verunreinigungen/Kontamination im/durch das Labormaterial führen zu falsch positiven Ergebnissen

[Vandenberg et al., 2007]

2.3.1. Dekonjugation

Bei der Übertragung von Studienergebnissen, die über die Metabolisierung von BPA im Tierversuch durchgeführt wurden, sind unterschiedliche Ausscheidungswege bei Menschen und Nagetieren zu beachten. Nagetiere scheiden BPA vor allem durch die Fäzes aus, da die Molekülmasse von BPA (404 Da) über dem Grenzwert für die Ausscheidung mit dem Harn liegt, dieser Grenzwert beträgt bei Ratten 350 Da. Beim Menschen liegt dieser Grenzwert aber bei 550 Da, die Ausscheidung über den Harn macht den größten Teil der Ausscheidung von BPA aus. BPA gelangt bei Ratten daher in den enterohepatischen Kreislauf, wo eine Dekonjugierung durch die intestinale β -Glucuronidase erfolgen kann [Ginsberg et al., 2009].

Um Aufschluss darüber zu erhalten, wie BPA im Körper metabolisiert wird, führten Völkel et al. (2002, 2008) zwei Humanstudien durch, bei denen den Probanden mit Deuterium markiertes BPA verabreicht wurde. Bei einem relativ hohem LOD (*Limit of Detection*, siehe S.11ff.) von 2,3 μ g/L konnten sie kein freies BPA im Urin detektieren, ferner ermittelten sie eine biologische Halbwertszeit (HWZ) von konjugiertem BPA von 5,3 Stunden. Die Autoren schließen daraus, dass sich der Metabolismus von BPA beim Menschen wesentlich von der Pharmakokinetik von BPA in

Nagetieren unterscheidet. Der Mensch würde daher BPA vollständig konjugieren (im Gegensatz zu Nagetieren, bei denen freies BPA detektiert werden kann) und auch wesentlich schneller eliminieren (bei Ratten wurde eine biologische HWZ von BPA von 20-80h beobachtet, außerdem bestehe beim Menschen kein Dekonjugationsmechanismus für BPA [Völkel et al., 2008]. Allerdings ist die β -Glucuronidase nicht nur im Intestinum aktiv, sondern wurde auch in anderen menschlichen Geweben gefunden, einschließlich Plazenta und fetaler Leber. Die primäre Funktion dieses Enzyms ist eigentlich die Degradation von Proteoglykanen, es besitzt aber auch das Potential xenobiotische Substanzen, wie BPA, die bereits die Phase II Glucuronidation durchlaufen haben, zu dekonjugieren. Hiermit ist auch im menschlichen Organismus eine Dekonjugation von konjugiertem BPA möglich [Richard et al., 2001].

2.3.2. Aufnahmewege die den First Pass Mechanismus umgehen

BPA ist durch seinen breiten Einsatzbereich in der Industrie in der Umwelt ubiquitär verbreitet, die menschliche Exposition gegenüber BPA beschränkt sich daher nicht auf die orale Aufnahme durch Lebensmittel. Genaue Daten wie viel BPA auf welchen Wegen in den menschlichen Körper gelangt, gibt es nicht, die Erhebung dieser Daten würde sich auch als äußerst schwierig darstellen, da es zum direkten Vergleich Versuchspersonen bedürfte, die durch ihre Umwelt keinem BPA ausgesetzt sind, ein Umstand der nur auf ganz wenigen Teilen der Erde noch anzutreffen ist. Die Teilnahme autark lebender Volksgruppen würde aber jeglichen ethischen Grundsätzen widersprechen. Es bleibt daher nur die Abschätzung der BPA Konzentration in der Umwelt. Das in der Luft vorhandene BPA wird durch die Lunge und die Haut aufgenommen, ebenso stellt Wasser, das bei der Körperhygiene etc. verwendet wird, eine dermale Exposition da. Wenn auch die Mengen, die durch diese Quelle aufgenommen werden, nicht bekannt sind, dürften die Ausmaße im Vergleich zu der Menge, die lebensmittelbezogen aufgenommen werden, sehr ge-

ring sein. Daher wird in dieser Arbeit nur kurz auf die Belastung durch das im Staub enthaltene BPA eingegangen.

Eine Zusammenschau bisheriger Ergebnisse und einen Vergleich zu ihrer eigenen Studie stellen Geens et al. (2010) in ihrer Arbeit dar. Geens et al. sammelten Staubproben aus Privathaushalten und Bürogebäuden, analysierten u.a. die BPA Konzentration und errechneten unter Berücksichtigung altersspezifischer Parameter die geschätzte BPA Aufnahme durch den Staub. So wird die mittlere tägliche Staubaufnahme eines Erwachsenen auf 20mg/ Tag und die eines Kleinkindes, das durch sein Verhalten, Dinge in den Mund zu stecken, stärker exponiert ist, auf 50 mg/ Tag geschätzt. Zieht man die Studie mit der größten Stichprobenanzahl von Rudel et al. (2003) und dem darin ermittelten mittleren BPA Gehalt im Staub von 820ng/g heran, so ergibt sich eine mittlere tägliche BPA Aufnahme durch den Staub von 16,4ng bei einem Erwachsenen und 41ng bei einem Kleinkind. Bei einer 70kg schweren Person wären das 0,23ng/kg KG. Im Rahmen der NHANES 2005/06 (Beschreibung dieser Studie in 4.1, S.16) wurde die tägliche Aufnahme von BPA geschätzt, der Mittelwert für die gesamte Bevölkerung beträgt 35ng/kg KG, die Aufnahme durch den Staub, dürfte daher nur etwa 1% ausmachen [LaKind und Naiman, 2010].

2.3.3. Verunreinigungen im Labormaterial führen zu falsch positiven Ergebnissen.

Studien, die BPA in Körperflüssigkeiten und –Gewebe nachweisen konnten, werden oft dahingehend kritisiert, dass das detektierte freie BPA ursprünglich nicht in der Probe vorhanden war. Das freie BPA würde aus Verunreinigung durch Laborbehältnisse etc. resultieren, bzw. durch Dekonjugation während der Lagerung und der Analyse entstanden sein. Die Autoren der entsprechenden Studien argumentieren aber, diesen Fehlerquellen Rechnung getragen zu haben und die entsprechenden Maßnahmen dagegen, wie Mitführen von Blindproben, getroffen zu ha-

ben. Außerdem argumentieren Ginsberg et al. (2009) mit dem ermittelten demographischen Unterschied bei den BPA Konzentrationen in menschlichen Proben und der Korrelation dieser Ergebnisse mit den Ergebnissen aus Tierstudien. So zeigten Schönfelder et al. (2002) eine größere Konzentration an BPA in männlichen Föten, im Vergleich zu weiblichen Föten. Takeuchi et al. (2004) zeigten bei männlichen Ratten eine höhere Konzentration an freiem BPA als bei weiblichen Ratten, korrelierend mit einer verminderten Expression des wichtigsten Enzyms für die BPA Glucuronidierung (UGT2B1) in der Leber von Ratten. Ein weiterer genereller Trend bei der BPA Konzentration in menschlichen Proben ist die Altersabhängigkeit. In Tabelle 4.2.3.1. und Tabelle 4.2.3.2 sind die Ergebnisse etlicher Studien zusammengefasst, die großteils eine Abnahme der BPA Konzentration mit steigendem Alter zeigen. Ein Sachverhalt der sich nicht mit Verunreinigungen von Labormaterial erklären lässt. Das Argument der möglichen Dekonjugation von konjugierten BPA nach der Probenentnahme lässt sich dadurch allerdings nicht entkräften.

3. Analyse von BPA in Lebensmitteln und biologischen Proben

Eine adäquate Risikobewertung von BPA setzt dessen präzise Quantifikation voraus. Da der Schwerpunkt dieser Arbeit auf den toxikologischen Eigenschaften von BPA liegt, seien in diesem Kapitel nur kurz die Möglichkeiten der Probenaufbereitung, Trennung und Detektion von BPA angeführt.

3.1. Probenaufbereitung

Die Probenaufbereitung erfolgt meistens durch lösungsmittelbasierte Extraktion (*solvent-based*) oder Festphasen-Extraktion (*solid-phase-extraction* SPE).

Feste Lebensmittel werden am häufigsten mittels Lösungsmittelbasierter Extraktion bearbeitet, Acetonitril ist das am meisten eingesetzte Extraktionsmittel, daneben finden auch Aceton, Methanol und Ethanol Anwendung. Die Zugabe von 0.1N HCl verhindert eine Degradation von BPA während der Extraktion. Besonders bei Lebensmittel tierischen Ursprungs ist nach der Extraktion (vor der Analyse) ein CLEAN-Up (Waschen) notwendig um Lipide zu entfernen. Dieser Vorgang erfolgt meist durch *Solid Phase Extraktion*, die auch die am häufigsten eingesetzte Extraktionsmethode für BPA in flüssigen Lebensmitteln ist [Ballesteros-Gómez et al., 2010].

3.2. Trennmethode und Detektoren:

Das wesentlichste Qualitätskriterium einer Detektionsmethode ist die Nachweisgrenze, jene geringste Menge (Konzentration) einer gesuchten Substanz, die eine Methode nachweisen kann. Im Englischen wird dafür der Begriff *limit of detection* verwendet, die international gängige Abkürzung LOD wird auch in dieser Arbeit verwendet. Die Detektionsmethoden für BPA müssen sehr selektiv, empfindlich und präzise sein, um niedrige Konzentrationen detektieren zu können. Erstens, da dies jene Konzentrationen sind, in denen BPA auch in menschlichen Proben gefunden wird (siehe S.15ff.). Zweitens, gerade Konzentrationen in diesem Bereich stehen im Verdacht eine gesundheitsschädliche Wirkung auszulösen (siehe S.37). Empfehlenswert bei BPA Studien ist ein $LOD \leq 0,1 \text{ ng/ml}$. Gerade bei Studien, die angeben, kein (freies) BPA detektieren zu können, ist also genau auf den LOD zu achten, da vor allem bei älteren Studien weniger empfindliche Methoden verwendet wurden [Vandenberg et al., 2007].

Untenstehend sind die am häufigsten eingesetzten Analysemethoden angeführt, in Tabelle 2.3.3.1 werden diese hinsichtlich ihres potentiellen LODs verglichen.

Flüssigchromatographie (Liquid Chromatography, LC): Vorteil der LC ist die einfache Handhabung, eine Derivatisierung ist meist nicht notwendig, der Arbeits- und Zeitaufwand hält sich daher in Grenzen. Folgende Varianten der LC werden häufig eingesetzt:

- LC mit Fluoreszenzdetektion (LC-FD): Nachteil bei dieser Methode ist die Möglichkeit eines falsch positiven Ergebnisses durch andere Stoffe, die aus der Verpackung in das Lebensmittel migrieren und ebenfalls fluoreszierende Eigenschaften haben, wie BPA-Diglycidyl-Ether (BADGE) oder BPF-Diglycidyl-Ether (BFDGE). Mit LC-FD kann ein LOD zwischen 0.1- 2ng/ml (1,5 ng/g) erreicht werden.
- LC-MS: die Koppelung einer LC mit einer Massenspektroskopie (MS) erhöht die Präzision der Analyse und somit kann ein niedrigerer LOD (0.1 -50 ng/g) erreicht werden.

[Ballesteros-Gómez et al., 2010]

Gaschromatographie (gas chromatography, GC): bei der Gaschromatographie besteht zwar in den meisten Fällen die Notwendigkeit einer Derivatisierung, was neben einem erhöhten Arbeits- und Zeitaufwand auch eine mögliche Fehlerquelle mit sich bringt, allerdings weisen GCs eine höhere Resolution und niedrigere LODs auf. Die Derivatisierung erfolgt meist durch Silylierung oder Acetylierung. Die Kopplung mit einer MS ist die Methode mit der höchsten Selektivität bei der Detektion von BPA im Lebensmittel. Es können LODs von 0.4 -6.3ng/L (= 0.4pg/ml oder 0.4-2ng/g) erreicht werden.

[Ballesteros-Gómez et al., 2010]

Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (auch Hochdruckflüssigkeitschromatographie, high pressure liquid chromatography, HPLC): das US Center for Disease Control and Prevention (US CDC) sieht eine Kopplung von Isotopenverdünnungs-HPLC und MS, mit vorhergehender Festphasen-extraktion als

geeignetste Methode zur Bestimmung von BPA in Urinproben an, aufgrund der hohen Genauigkeit und der Fähigkeit chemische Strukturen zu erkennen. Mit dieser Methode sind üblicherweise LODs im Bereich von 0.02- 1ng/ml möglich [Vandenberg et al., 2010].

Immunochemische Methoden: eingesetzt werden polyklonale Antikörper von Säugetieren oder Hühnern mit einem „Enzyme Linked Immunosorbent Assay“ (ELISA, zu deutsch Enzymgekoppelter Immunadsorptionstest EIA). ELISA ist relativ kostengünstig und relativ leicht durchzuführen. Es besteht allerdings die Gefahr, dass es hier zu unspezifischen Wechselwirkungen mit BPA Antikörpern kommt und andere Stoffe mit detektiert werden. Wenn aber eine Validierung durchgeführt wird und eine Kreuzreaktivität ausgeschlossen wird, können durch ELISA ähnliche Ergebnisse erzielt werden, wie durch andere, als präziser angesehene, Methoden. Der LOD reicht von 0.05 – 500ng/ml [Vandenberg et al., 2010].

Methode	LOD
LC-FD	0.1- 2ng /ml (1,5 ng/g)
LC-MS	0.1 -50ng/g
GC-MS	0.0004 -0.006 ng/ml
HPLC- MS	0.02- 1ng/ml
Immunochemische Methoden	von 0.05 – 500 ng/ml

Tabelle 2.3.3.1: Übersicht über die LODs verschiedener Analysemethoden

4. Exposition der Bevölkerung gegenüber BPA

Untenstehend sind die Ergebnisse einiger Studien beschrieben, die sich mit der Exposition des menschlichen Körpers an BPA beschäftigten. Zwei grundsätzliche Varianten der Durchführung sind möglich:

- a. Direkt: Messung/ Schätzung der BPA Aufnahme durch die Nahrung, bzw. durch bestimmte Nahrungsmittel (-gruppen).
- b. Indirekt: Messung der BPA Konzentration in Geweben/ Körperflüssigkeiten.

Die Berechnung der gesamten, vom Menschen aufgenommenen Menge an BPA stellt sich als ausgesprochen schwierig dar. Wird die BPA Aufnahme nur aus der aufgenommenen Nahrung errechnet, lässt man andere Quellen unberücksichtigt. So könnte BPA auch durch Inhalation (2.3.2, S.9ff) oder durch die Haut aufgenommen werden, hierbei unterläuft das freie BPA nicht dem First Pass Metabolismus der Leber und kann somit eine Quelle für unkonjugiertes und daher aktives BPA sein [Vandenberg et al.,2010].

Die Variante der direkten Messung der gesamten BPA Aufnahme wird eigentlich nicht eingesetzt, ein hoher Aufwand würde einem ungenauen Ergebnis gegenüber stehen. Allerdings wird immer wieder der BPA Gehalt einzelner Lebensmittel ermittelt und die BPA Aufnahme durch diese durch die Bevölkerung geschätzt. Für die toxikologische Bewertung von BPA sind die Menge an BPA in einzelnen Lebensmitteln nur von beschränkter Bedeutung, viel entscheidender ist wie viel BPA insgesamt in den Körper gelangt. Hierfür werden biometrische Analysen durchgeführt. Die meisten Daten sind zur BPA Konzentration im Urin erhältlich. Um die Gesamtmenge von BPA im Urin zu detektieren, wird die Probe mit Glucuronidase und/oder Sulfatase behandelt, da der Großteil des BPA im Urin als Konjugat vorkommt. Der Anteil an freiem BPA wird im unbehandelten Urin analysiert [Vandenberg et al., 2007].

Zur BPA Konzentration anderer Körperflüssigkeiten wie Blut und Geweben wie Plazenta oder Fettgewebe sind aufgrund der invasiven Vorgangsweise bei der Probenentnahme nur wenige Studien und vor allem weniger Stichproben bei den einzelnen Studien vorhanden. Bei Analyse der Blutproben wurde aber, im Gegensatz zur Analyse der Urinproben, in vielen Fällen auch freies BPA alleine detektiert. Die meisten Analysen detektieren wie erwähnt nur das gesamte BPA (konjugiertes und unkonjugiertes BPA), nur wenige Ergebnisse liegen zur Konzentration des unkonjugierten, freien BPA alleine vor. Die entscheidende Fragestellung wäre aber, wie viel freies und daher aktives BPA im menschlichen Körper zu finden ist. Dennoch sind jene Studien, die nur das Gesamt-BPA messen wichtig, da sie durch ihre teilweise hohe Stichprobenanzahl viel repräsentativer sind, als jene wenige Studien, die auch freies BPA detektieren, deren Stichprobenanzahl dagegen meist sehr gering ist. Sie können daher als Vergleichsmöglichkeit (jene Studien, die freies BPA analysierten, untersuchten meist auch das Gesamt BPA) herangezogen werden, d.h. wenn eine Studie zu freien BPA auch nur eine geringe Stichprobenanzahl enthält, die Konzentrationen des detektierten Gesamt BPA aber mit den Ergebnissen jener größerer (nur Gesamt-BPA erfassenden) Studien korrelieren, gewinnen diese kleineren Studien an Glaubwürdigkeit.

In diesem Kapitel werden zunächst einzelne Studien besprochen, Werte der BPA Konzentration in Tabellen vorgestellt, im Anschluss wird auf das besondere Risiko von Heranwachsenden eingegangen. Zur Übersicht bieten die Tabellen 4.2.3.1 bis 4.2.3.6 eine Zusammenschau bisheriger Ergebnisse.

4.1. Studien zur BPA Exposition der Bevölkerung

Besonders Studien mit hoher Stichprobenanzahl findet man kaum, daher wird oft auf die Ergebnisse der NHANES Studie (2003/4 und 2005/6) zurückgegriffen, unter anderem auch auf die BPA Konzentration im Urin. Die mittlere BPA Konzentration

im Urin betrug 2003/04 2,49mg/ml (95% Konfidenzintervall 2,2-2,83ng/ml), 2005/06 war sie 1,79ng/ml (95% Konfidenzintervall 1,64-1,96ng/ml). Das freie BPA wurde nicht getrennt ermittelt. In Rahmen der Auswertung der Studie wurde auch ein möglicher Zusammenhang von BPA und Herz-Kreislaufkrankungen untersucht (siehe dazu S.59f) [Melzer et al., 2010].

Von der BPA Konzentration im Urin aus, wurde die täglich aufgenommene Menge an BPA geschätzt, für die Gesamtbevölkerung errechnete man eine durchschnittliche tägliche Aufnahme von 35,1ng BPA/kg KG. Zwischen der aufgenommenen Menge an BPA pro kg KG und dem Lebensalter zeigte sich ein inverser linearer Zusammenhang (siehe Tabelle 2.3.3.1).

[Lakind und Naiman, 2010]

Bevölkerungsgruppe	BPA Aufnahme (ng/kg KG/ Tag)
	MW (95% KI)
Gesamt	35.1 (33.3–37.0)
weiblich	31.2 (28.9–34.0)
Männlich	39.6 (36.9–42.9)
6-11 jährige	54.0 (46.4–63.2)
12-19 jährige	48.0 (44.0–52.9)
20-39 jährige	38.5 (34.9–43.0)
40-59 jährige	28.9 (25.8–32.4)
>60 jährige	27.3 (24.4–30.7)
MW: Mittelwert, KI: Konfidenzintervall	

Tabelle 2.3.3.1: BPA Aufnahme, [Lakind und Naiman, 2010]

Die Ergebnisse der Studie von Calafat et al. (2005) werden in diversen wissenschaftlichen Arbeiten herangezogen, besonders jenes Ergebnis, dass BPA in 95% der Proben gefunden werden konnte. Für die Qualität der Studien spricht der erreichte niedrige LOD von 0,1ng/ml, die qualitätssichernden Maßnahmen und die relativ hohe Stichprobenanzahl von 394 Personen. Letzteres führen die AutorInnen aber selbst als Kritikpunkt an, ihnen ist die Stichprobenanzahl zu gering, die Ergebnisse seien daher mit Vorsicht zu beurteilen. Die wirklich große Schwachstelle

liegt allerdings in der Analyse. Leider wurden hier konjugiertes und freies BPA nicht getrennt gemessen, alle Urinproben wurden vor der Analyse mit β -Glucuronidase behandelt, um die konjugierten Verbindungen zu hydrolysieren. Dieser Umstand stellt die Relevanz der Ergebnisse in Frage. Gewiss, die Studie zeigt eindeutig, dass ein Großteil der Bevölkerung BPA aufnimmt, über dessen mögliche gesundheitsschädigende Wirkung kann durch die Ergebnisse dieser Studie allerdings keine Aussage gemacht werden [Calafat et al., 2005].

Eine Studie an 77 College-StudentInnen untersuchte den direkten Zusammenhang zwischen dem Verzehr von Getränken aus Polycarbonatflaschen und der BPA Konzentration im Urin. Das Studiendesign sah am Beginn eine 7-Tage Auswasch-Phase vor. In dieser Zeit waren die ProbandInnen angehalten ihren Getränkekonsum ausschließlich über eigens dafür ausgehändigte Metallflaschen durchzuführen. Nach dieser Phase gaben die ProbandInnen zweimal, an hintereinander folgenden Tagen, eine Urinprobe ab und erhielten zwei Polycarbonatflaschen, aus denen sie eine Woche lang ihre Getränke konsumieren sollten. Anschließend folgten wieder zwei Urinprobeabgaben, ergänzend füllten die Probanden einen Fragebogen über ihr Trinkverhalten in diesen zwei Wochen aus, damit bei der Auswertung der Proben die Compliance abgeschätzt werden konnte. Die Compliance betrug 50-100%, mit einem Median bei 90%. Bei Proben mit einer Compliance A von $> 90\%$ war der Unterschied zwischen der Auswasch-Phase und der Interventionsphase größer als bei Proben mit einer Compliance B $< 90\%$, der Unterschied von A und B war aber statistisch nicht signifikant. Konjugiertes und freies BPA wurde gemeinsam als Gesamt-BPA in den Proben mit HPLC/ MS gemessen. Der Mittelwert von BPA nach der Auswasch-Phase betrug $1,3\mu\text{g/L}$ ($1,2\mu\text{g/g}$ Kreatinin), nach der Interventionsphase $2,1\mu\text{g/L}$ ($2,0\mu\text{g/g}$ Kreatinin). Die Umrechnung in Gramm pro Kreatinin hat den Zweck, Unterschiede in der Urinverdünnung zu bereinigen [Carwile et al., 2009].

Die Studie hat einige Schwachpunkte, so kann die Abnahme von nur 2x2 Urinproben kritisiert werden, noch dazu waren die ProbandInnen angehalten nur kalte Ge-

tränke aus den jeweiligen Flaschen zu trinken. Man geht aber davon aus, dass höhere Temperaturen die Freisetzung von BPA in das Lebensmittel erhöhen (siehe auch 2.2, S.5). Allerdings zeigt die Studie eindeutig, wie stark der Gebrauch von PC Flaschen die BPA-Konzentration im Urin ansteigen lässt. Vergleicht man die Ergebnisse mit anderen Studien (Tabelle 4.2.3.1 und Tabelle 4.2.3.2) so korrelieren die BPA-Werte der Interventionsphase relativ gut mit anderen Ergebnissen, wenn sie auch eher darunter liegen. Die Ergebnisse aus der Auswasch-Phase liegen deutlich darunter. Außerdem wurde das freie BPA leider nicht getrennt erfasst, besonderes Augenmerk sollte aber auf epidemiologische Studien gelegt werden, die auch freies BPA in den Proben messen:

Cunha und Fernandez entwickelten eine Methode um freies BPA und das gesamte BPA (nach Hydrolyse durch β -Glucuronidase) gemeinsam mit BPB (Bisphenol B) zu bestimmen. Dazu wird eine dispersive flüssig-flüssig Mikroextraktion (DLLME) mit anschließender multidimensionaler „heart-cutting“¹ GC-MS Analyse durchgeführt. Laut den Autoren zeichnet sich diese Methoden durch ihre schnelle (15 Minuten Gesamtzeit) und einfache Handhabung, sowie durch ihre Empfindlichkeit und Zuverlässigkeit aus. Mit dieser Methode untersuchten sie Urinproben von 20 portugiesischen ProbandInnen (16 Frauen, 4 Männern). Freies BPA konnte in 9 von 20 Proben (45%) gefunden werden, BPA gesamt in 17 von 20 Proben (85%). Der LOD wird mit 0.03ng/ml angegeben, allerdings wurde nicht zwischen einem LOD für freies BPA und Gesamt-BPA differenziert. Bei jenen 9 ProbandInnen, bei denen freies BPA detektiert werden konnte, bewegte sich dessen Konzentration zwischen 0,41 μ g/L und 1,64 μ g/L bzw. 0,8 μ g/g und 2.39 μ g/g Kreatinin. Die Konzentration des gesamten BPAs reichte von 0,39 μ g/L bis 4,99 μ g/L bzw. von 0,33 μ g/g bis 8,87 μ g/g Kreatinin. Zur Qualitätssicherung wurden Blindwerte mitgeführt und eine Kalibrationskurve erstellt [Cunha et Fernandez, 2010].

Aufgrund der geringen Stichprobenanzahl können die Ergebnisse zwar nicht für die Gesamtbevölkerung als repräsentativ angesehen werden, sie sind aber ein An-

¹Heart cutting: spezielle, besonders empfindliche Form der MS

haltspunkt, dass freies BPA im menschlichen Urin gefunden werden kann, wenn auch nur bei einem Teil der Bevölkerung.

Bei ihrer Studie aus 2005 kamen Völkel et al. zu dem Ergebnis, BPA sei in keiner Probe enthalten (siehe Tabelle 4.2.3.1). Ob diese Studie es als einzige geschafft hat, Kontaminationen vollständig zu verhindern, ist anzuzweifeln. Der LOD war zwar relativ hoch (1.14ng/ml), jedoch andere Studien mit hohen LODs konnten BPA nachweisen. Für höhere Konzentrationen wurden in dieser Studien mit BPA gespikte Kontrollproben analysiert und die Methode war fähig diese zu detektieren. Die Ursache für die Ergebnisse bleibt ungeklärt, da Reproduzierbarkeit aber ein wichtiger wissenschaftlicher Grundsatz ist und diese Ergebnisse eben nicht wiederholt werden konnten, sind die Ergebnisse dieser Studie eher als Ausreißer zu betrachten.

Im Rahmen des Vergleiches von HPLC/FD und LC/MS/MS durch Yi et al. (2010), zeigte sich ein entscheidender Unterschied zwischen den zwei Methoden bei der Analyse des freien BPAs. Mit HPLC/FD konnte kein freies BPA in den Proben (Muttermilch) detektiert werden, mit LC/MS/MS aber bei 100% Proben, im Konzentrationsbereich von 0,65- 29,9µg/L. Die Autoren vermuten aufgrund der ähnlichen LODs der beiden Methoden falsch-positive Ergebnisse bei der LC/MS/MS Methode, gehen aber in ihrer Publikation nicht näher auf dieses Problem ein [Yi et al., 2010]. Die LODs der beiden verglichenen Methoden sind mit 0,6ng/ml für die HPLC/FD Methode und 0,39ng/ml für die LC/MS/MS als relativ niedrig einzustufen, wenn sie auch höher sind, als bei der oben angeführten Methode von Cunha und Fernandez (2010), die einen LOD von 0.03µg/L erreichten. Es ist daher nicht auszuschließen, dass die Proben tatsächlich kein freies BPA enthielten.

4.2. BPA Exposition in verschiedenen Lebensphasen

4.2.1. In Utero Exposition von BPA

Besonderes Augenmerk muss auf die BPA Exposition während der Entwicklung gelegt werden. Den Ergebnissen diverser Studien nach ist anzunehmen, dass BPA die Barriere der Plazenta durchbricht und daher von der Mutter an das Kind weitergegeben wird. Ikezuki et al. (2002) fanden im Fruchtwasser zwischen der 15.-18. Gestationswoche 8,3ng/ml BPA, im Vergleich dazu detektierten sie zum selben Zeitpunkt im mütterlichen Serum 1,4-2,4ng/ml. Die Konzentration im Fruchtwasser sank im Verlauf der Schwangerschaft. Die Autoren führen das auf die im frühen fetalen Stadium sehr niedrige Clearance von BPA zurück.

In anderen *in vivo* Studien [Takahashi und Oshi, 2000; Schönfelder et al., 2002; Domoradzki et al. 2003] fand man allerdings im Fruchtwasser niedrigere Konzentrationen als im mütterlichen Serum. Ferner konnten Takahashi und Oshi (2000) eine dreimal höhere HWZ von BPA im Fetus im Vergleich zur Mutter feststellen. Bedenklich auch das Ergebnis von Domoradzki et al. (2003), dass, auch wenn die Konzentration des Gesamt-BPA im fetalen Plasma niedriger war als im mütterlichen Plasma, das Verhältnis unkonjugiertes/konjugiertem BPA im fetalen Plasma wesentlich höher war.

4.2.2. BPA Exposition während des Wachstums

Die BPA Konzentration in der Muttermilch wurde nur in wenigen Biomonitoring Studien ermittelt, mit geringer Stichprobenanzahl. Dabei ist gerade die BPA Exposition im Säuglingsalter besonders kritisch zu betrachten, da angenommen wird, dass zu diesem Zeitpunkt der Organismus freies BPA noch nicht (vollständig) zu konjugiertem BPA umwandeln kann.

Kinder sind aufgrund mehrerer Faktoren besonders dem Risiko ausgesetzt schädliche Wirkung durch BPA zu erleiden:

- Durch das geringe Körpergewicht höhere Aufnahme/ kg KG
- Durch ihr Bedürfnis Dinge in den Mund zu stecken.
- Der Metabolismus des Neugeborenen bzw. des Kleinkindes gleicht nicht dem des erwachsenen Menschen.

[Quitmeyer et al., 2007]

Es kann nicht davon ausgegangen werden, dass Kinder BPA in gleichen Maßen in der Leber zu konjugiertem BPA metabolisieren können. Besonders für Neugeborene geht man von einem erhöhten Risiko durch eine BPA Exposition aus, da die UDP-Glucuronyltransferase möglicherweise noch nicht ihre vollständige Aktivität erreicht hat und damit der First Pass Metabolismus möglicherweise noch nicht vollständig ausgereift ist. Allerdings besteht die Möglichkeit, dass der Säugling diesen Umstand durch die Aktivität der Sulfotransferase kompensiert. Gegen diese vollständige Kompensation spricht, dass durch Sulfatierung die biologische Aktivität von endokrinen Hormonen nicht beendet wird. Sulfatierte Östrogene haben eine lange HWZ im Blut und eine höhere Konzentration als aktive Hormone. Sie fungieren als zirkulierende Reserve und können durch Arylsulfatase C dekonjugiert und somit wieder in ihre aktive Form übergeführt werden. Die Arylsulfatase C entwickelt sich *in utero* und konnte in der Leber von Neugeborenen nachgewiesen werden [Richard et al., 2001].

Es wird angenommen, dass die Ontogenese der β -Glucuronidase rasch erfolgt, da sie bei einer Reihe von Versuchstieren (Spezies) in diversen Geweben und Organen gefunden wurde. Aufgrund der Aktivität der β -Glucuronidase und der unreifen Kapazität der Glucuronidierung besteht Grund zur Annahme, dass sich das Gleichgewicht Konjugation - Dekonjugation, beim Ungeborenen und beim Säugling, zugunsten der Dekonjugation verschiebt. Denn auch wenn die HWZ von BPA tatsächlich nur 5,3h beträgt, bleibt ausreichend Zeit um das konjugierte BPA zur Placenta zu transportieren und dort zu dekonjugieren. Ein kritischer Punkt, der

noch der Untermauerung durch pharmakokinetische Studien bedarf. Es kann jedenfalls nicht sicher gesagt werden, dass beim Mensch in seinen frühen Entwicklungsstadien eine vollständige Detoxifikation von BPA erfolgt [Richard et al., 2001], [Ginsberg et al., 2009].

4.2.3. Unterschiede in der BPA Exposition zwischen den Altersgruppen

Generell dürfte die BPA Konzentration in einem umgekehrten Verhältnis zum Lebensalter stehen. In den untenstehenden Tabellen sind auch altersspezifische BPA Daten zusammengefasst. Neben der erhöhten Exposition pro kg KG im Kindesalter, sind weitere Faktoren möglich, die zur erhöhten Exposition beitragen. Junge Menschen essen häufiger außer Haus, wobei sowohl mitgebrachte, oft in Polycarbonatbehältnissen aufbewahrte Speisen und Getränke, wie auch Fast Food, das ebenfalls teilweise in diesen Behältnissen erhältlich ist, verwendet werden.

4.3. Gesammelte Daten zur BPA Konzentration in Körperflüssigkeiten und -Geweben

BPA Konzentration in menschlichen Urin I				
Quelle	Studienpopulation	LOD (ng/ml)	DR (%)	Total BPA(ng/ml)
Kawaguichi et al., 2005	5 Erwachsene	0.02	80	<LOD-5.41
Lui et al., 2005	9 jährige US-amerikanische Mädchen	0.5	89	MW: 2.4
	24 U.S. amerikanische Erwachsene	0.5	50	MW: 0.47
Völkel et al., 2005)	6 deutsche Erwachsene	1,14	0	<LOD
Ye et al. 2005b	30 U.S. amerikanische Erwachsene	0.3	97	MW 3.2
Yang et al. 2006	172 Koreaner	0.026	97.5	ME 7.86
Schöringhumer et al. 2007	12 österreichische Erwachsene	0.2	100	MW 1.1
	12 österreichische Dialyse Patienten		100	MW 1.2
Calafat et al., 2008	314 Kinder	0.4	92.6	MW 4.3
	713 Jugendliche			MW 2.8
	950 Erwachsene			MW 2.4
	537 Senioren			MW 2.3
DR: Detektionsrate, k.A.: keine Angaben, LOD: Limit of Detection, MW: Mittelwert, ME: Median				

Tabelle 4.2.3.1: Urinkonzentrationen an Gesamt BPA I

BPA Konzentration in menschlichen Urin II				
Quelle	Studienpopulation	LOD (ng/ml)	DR (%)	Total BPA(ng/ml)
Garcia Preto et al., 2008	8 spanische Studenten	0.197	100	4.03 - 49
Völkel et al., 2008	31 deutsche Frauen	0.3	k.A.	ND- 6.5
	30 deutsche Kinder			ND- 7.5
Becker et al., 2009	137 deutsche Kinder (3-5J.)	0.25	k.A.	MW 3.6
	145 deutsche Kinder (6-8J.)			MW 2.7
	149 deutsche Kinder (9-11J.)			MW 2.2
	186 deutsche Jugendliche (12-14)			MW 2.4
Calafat et al., 2009	Frühgeburten	0.4	100	1.6-946, MW 30.3, Median 3.7
Carwile et al., 2009	amerikanische Studenten (vermeiden von PC-Flaschen)	0.4	88%	MW 1.3
	amerikanische Studenten (Verwendung von PC-Flaschen)		96%	MW 2.1
Melzer et al., 2010	NHANES 2003/4*	0.36	k.A.	MW 2.49
	NHANES 2005/6*	0.4	k.A.	MW
DR: Detektionsrate, k.A.: keine Angaben, LOD: Limit of Detection, MW: Mittelwert, ME: Median				

Tabelle 4.2.3.2: Urinkonzentrationen an Gesamt BPA II

BPA Konzentrationen in menschlichen Blut				
Quelle	Studienpopulation	Probentyp	LOD (ng/ml)	BPA Konzentration (ng/ml)
Sugiura- Ogasawara et al., 2005	32 Japanerinnen	Serum	0.5	0.77 ± 0.067
Völkel et al., 2005	k.A.	Plasma	0.57 – 1.14	<LOD
Liu et al., 2007	10 chinesische Erwachsene	Serum	0.05	<LOD – 0.28
Dirtu et al., 2008	7 belgische Erwachsene	Serum	0.003	0.98 ± 1.09
	14 belgische Frauen	Serum		1.17 ± 1.09
He et al., 2009	404 chinesische Männer	Serum	0.39	MW 0.2
	482 chinesische Frauen	Serum		MW 0.16
Kaddar et al., 2009	207 Franzosen und Französinen		0.08	<LOD - >2,
Yang et al., 2009	82 Koreanerinnen		0.012	ME: 0.03
k.A.: keine Angaben, ME: Median, MW: Mittelwert				

Tabelle 4.2.3.3: BPA Konzentrationen im menschlichen Blut

BPA Konzentration in Serum und Blut von Schwangeren und Föten				
Quelle	Studienpopulation	Probentyp	LOD (ng/ml)	BPA Konzentration (ng/ml)
Yamada et al. 2002	200 Schwangere*	Serum	0.5	ME: 2.24
	48 Schwangere**	Serum		ME: 2.97
Kuroda et al. 2003	9 Gebärende	Serum	0.04	0.46 ± 0.067***
		Serum (Nabelschnur)		0.62 ± 0.043***
Tan & Mohd 2003	180 Proben aus Malaysia	Plasma (Nabelschnur)	0.05	SB: <LOD - 4.05
Lee et al. 2008	300 Gebärende (Korea)	maternales Blut	0.625	9.04 ± 0.81***; SB: <LOD – 66.48
		Blut (Nabelschnur)		1.13 ± 0.08***; SB: <LOD – 8.86
Padmanabhan et al. 2008	40 Gebärende (USA)	Blut	0.5	5.9 ± 0.94***; SB: <LOD – 22.3
k.A.: keine Angaben, LOD: Limit of Detection, ME: Median, MW: Mittelwert; SB: Spannweite,*Fötus mit normalem Karyotyp,**Fötus mit anormalen Karyotyp,*** MW ± Standardabweichung,				

Tabelle 4.2.3.4: BPA Konzentrationen in der Schwangerschaft

BPA Konzentration in der Muttermilch				
Quelle	Studienpopulation	LOD (ng/ml)	DR	BPA Konzentration (ng/ml)
Otaka et al., 2003	3 Japanerinnen	0.09	k.A.	LOD - 0.70*
Sun et al., 2004	23 Japanerinnen	0.11	k.A.	0.61 ± 0.042
Ye et al., 2006	20 US Amerikanerinnen	0.28	Freies BPA 60%, Gesamt BPA 90%	Freies BPA: MW 1.3, 60% Detektion, Gesamt BPA: MW 1.9; 90% Detektion
Ye et al., 2008	4 US Amerikanerinnen	0.3	k.A.	Freies BPA: MW 0.80; Gesamt BPA: MW 1.02
Kuruto-Niwa et al., 2007	101 Japanerinnen	0.3	k.A.	3.41 ± 0.013
DR: Detektionsrate;k.A.: keine Angaben, LOD: Limit of Detektion, MW: Mittelwert, * Angabe in ng/g				

Tabelle 4.2.3.5: BPA in der Muttermilch

Konzentration an unkonjugiertem (freiem) BPA im menschlichen Urin				
Quelle	Studienpopulation	LOD (ng/ml)	DR unkonjugiertes BPA (%)	BPA Konzentration (ng/ml)
Kim et al., 2003	koreanische Erwachsene	0.28	k.A.	MW: 0.57ng/ml
Ye et al.,2005	Median und MW < LOD	30%	k.A.	MW: <LOD
Schöringhumer et al. 2007	12 österreichische Erwachsene	0.2	75	MW 0.3
	12 österreichische Dialyse Patienten		90	MW 0.2
Völkel et al., 2008	31 deutsche Frauen	0.3	k.A.	<LOD -2.5
	30 deutsche Kinder			<LOD - 0.9
Calafat et al., 2009	Frühgeburten	0.4	92	SB: <LOD-17.3; Median 1.7, MW 1.8
ME: Median, MW: Mittelwert, LOD: Limit of Detection, SB: Spannweite				

Tabelle 4.2.3.6: Urinkonzentrationen an freiem BPA

5. Toxikologische Bewertung von Bisphenol A

5.1. Diskrepanz zwischen den Sicherheitsagenturen und der „restlichen Wissenschaft“

Die Unterschiede in den Stellungnahmen der staatlichen/behördlichen Sicherheitsagenturen und jener, die von unabhängigen WissenschaftlerInnen erbracht werden, haben ihren Ursprung darin, welche wissenschaftliche Studien als zulässig (valide) und glaubwürdig (reliabel) betrachtet werden. Ein wichtiges Schlagwort in diesem Zusammenhang ist „Good Laboratory Practice“ (**GLP**), (dt. „gute Laborpraxis“), ein Qualitätssicherungssystem für wissenschaftliche Studien, das nach Meinung der Sicherheitsagenturen zwingend befolgt werden muss. Diese Vorgabe erfüllen die Studien etlicher WissenschaftlerInnen aber nicht, auch weil jene diese Richtlinien stark kritisieren. Die Vorschriften diesbezüglich wurden in den 1970er Jahre, nach einem großen Laborskandal festgelegt. Sie beinhalten eine Reihe von Maßnahmen, die der Qualitätssicherung von wissenschaftlichen Studien dienen sollen. Darunter fallen ein umfassendes Kontrollsystem und konkrete Standards, die bei Erstellung eingehalten werden müssen. Bei diesen, nicht von den Sicherheitsagenturen anerkannten Studien, handelt es sich durchwegs um fundierte wissenschaftliche Arbeiten, die ein Peer-Review Verfahren durchlaufen haben. Beide Seiten sparen nicht mit Kritik an der „Gegenseite“, Zugeständnisse werden selten gemacht. Nicht außer Acht zu lassen ist auch der Einfluss der Industrie, für die ein mögliches Verbot von BPA drastische ökonomische Auswirkungen hätte. Wissenschaftliche Studien sind in der Regel sehr kostspielig, staatliche Förderungen sind oft nicht ausreichend und es wird auf Drittmittel zurückgegriffen. Wenn die Ressourcen aus Unternehmen stammen, auf die diese Ergebnisse großen Einfluss haben, ist die Gefahr einer Publikationsbias gegeben. Wenn, wie im Falle von BPA, jene Studien, die keine negativen Effekte von BPA vermuten lassen, zu Großteil von den chemischen Industrie gesponsert worden sind, so ist eine gewisse Skepsis durchaus angebracht. Problematisch ist nun, dass fast ausschließlich diese Studien von den Sicherheitsagenturen anerkannt werden. Das Einhalten der GLP bei der Durchfüh-

rung einer Studie, ist Voraussetzung, um von den Sicherheitsagenturen (allen) für gültig befunden zu werden [Vogel et al.].

5.1.1. Sicherheitsbeurteilung von BPA in den USA

Die US-amerikanische Sicherheitsbehörde, die *U.S. Food and Drug Administration* (FDA) stufte BPA lange Zeit als unbedenklich ein, bis 1988 gab es keinerlei Richt- oder Grenzwerte. Frühe Studien hatten nur eine geringe Toxizität von BPA gezeigt. Aufgrund der hohen Exposition von ArbeiterInnen gegenüber BPA in bestimmten Bereichen der chemischen Industrie, startete das National Cancer Institute (USA, NCI) 1977 die ersten Studien zur Kanzerogenität von BPA. Die Studie entsprach den Standards zur Evaluation von möglichen karzinogenen Substanzen durch ein 2 Jahres Modell mit ausgewachsenen Ratten, denen hohe Dosen BPA verabreicht wurde, da man damals annahm, dass, wenn Effekte erreicht wurden, diese durch hohen Dosen erreicht würden. Die Ergebnisse wurden in einer Bewertung mit den Kategorien „*no convincing evidence*“ und „*convincing evidence*“ dargestellt, der Befund lautete, dass für die Kanzerogenität des BPA „*no convincing evidence*“ festgestellt werden konnte. Für die *Environmental Protection Agency* (EPA) in den USA stellte diese Studie die Basis der ersten Sicherheitsbeurteilung von BPA dar, die wiederum die *US Food and Drug Administration* (FDA) zur Ermittlung der ersten Referenzdosis heranzog. Die niedrigste Dosis der Studien wurde als LOAEL (*lowest observed adverse effect level*) gesetzt. Für die Berechnung der bis heute gültigen Referenzdosis von 50µg/kg KG/Tag wurde der LOAEL durch den Sicherheitsfaktor 1000 dividiert. Üblicherweise wird eine Referenzdosis aus dem NOAEL (*no observed adverse effect level*) verwendet, da dieser aber nicht ermittelt wurde, wurde stattdessen der LOAEL herangezogen und der Sicherheitsfaktor von 100 auf 1000 erhöht [Vogel, 2009].

Bedingt durch die jüngsten wissenschaftlichen Ergebnisse, räumt die FDA jetzt allerdings Bedenken ein und führt daher zurzeit in Kooperation mit dem *National Toxicology Program* Studien zur Wirkung von BPA auf Gehirn, Verhalten und Prostata durch. In der Zwischenzeit ist FDA bemüht Alternativen für BPA zu finden und die Produktion von BPA hältigen Babyflaschen etc. zu verringern [FDA, 2010a].

Auf ihrer Website gibt die FDA auch Ratschläge wie man die BPA Exposition von Säuglingen/Kleinkindern verringern kann:

- Befolgen der Richtlinien zur Ernährung eines Säuglings, wenn möglich soll mindestens 12 Monate gestillt werden.
- Zerkratzte Babyflasche, Schnabeltasse etc. entsorgen
- Temperatur
 - Bei der Reinigung der Gebrauchsgegenstände für die Säuglings- und Kindernahrung genau den Instruktionen des Herstellers folgen, nur spülmaschinengeeignete Waren in den Geschirrspüler geben.
 - Kein kochendes Wasser in diese Gegenstände füllen

[FDA, 2011b]

5.1.2. Sicherheitsbeurteilung von BPA in der EU

Die *European Food Safety Authority* EFSA, zu deutsch „europäische Behörde für Lebensmittelsicherheit“ ist für die Sicherheitsbeurteilung von BPA in der EU zuständig. 2006 stufte die EFSA die Bioverfügbarkeit von Bisphenol A durch die rasche Metabolisierung und Ausscheidung als sehr gering ein. 2008 wurde die EFSA von der Europäischen Union aufgefordert ihre Position zu überdenken, besonders die altersabhängige Toxizität von Bisphenol A betreffend. Laut EFSA stellt die altersabhängige Toxizität keinen Grund dar, ihre Risikobewertung von Bisphenol A abzuändern. Die EFSA beruft sich vor allem auf zwei toxikokinetische Studien [Völkl et al., 2002; Völkl et al., 2005], hingegen lehnt sie (den wissenschaftlichen Wert von) über 80 biometrischen Studien ab, da diese nicht nach den GLP Prinzip durchgeführt wurden.

Es wurde darauf hingewiesen, dass es bei der Verwendung von ELISA zu Kontaminationen kommen kann und BPA aus dem Material für die Probenentnahme, Lagerung und Probenaufbereitung ausgewaschen werden kann und somit in die Probe gelangen kann. Durch diese Kontaminationen sei die angegebene Konzentration von BPA im Blut in diesen Studien höchstwahrscheinlich überschätzt [Vandenberg et al., 2010].

Im September 2010 gab die EFSA die bisher (Stand 15.März 2011) letzte Pressemitteilung zur Risikobewertung von BPA heraus. Vorangegangen war eine erneute Überprüfung der Thematik durch das CEF (*food contact materials, enzymes, flavourings and processing aids*) Gremium. Dabei wurden über 800 wissenschaftliche Studien analysiert. Das Gremium sieht keinen Anlass für die Abänderung des bisherigen tolerierten täglichen Aufnahme (tolerable daily intake, TDI) von 50µg/kg KG (zur Entstehung dieses TDI siehe 5.2.2). Einige Studien hätten zwar eine gesundheitsgefährdende Wirkung von BPA nachgewiesen, allerdings wiesen gerade diese Studie laut dem Gremium etliche Mängel auf und könnten daher nicht als valide und zuverlässig betrachtet werden. Ein Mitglied des Gremiums, sprach sich

allerdings dafür aus, einige dieser Studien doch zur Bewertung des TDI heranzuziehen und den bisherigen TDI nur als provisorischen TDI anzusetzen, dieser Aufforderung wurde aber nicht nachgegangen [EFSA, 2010].

5.1.3. Sicherheitsbeurteilung von BPA in Kanada

Health Canada ist in Kanada für die Sicherheitsbeurteilung von BPA verantwortlich. 2008 wurde BPA in Kanada als „gefährliche Substanz“ eingestuft, in Folge sollen BPA-hältige Babyfläschen nicht mehr erhältlich sein. Die Umsetzung dieses Vorstoßes ist aber noch nicht komplett erfolgt, sondern befindet sich immer noch im Werden: *„we are moving to ban the importation, sale and advertising of polycarbonate baby bottles.“* [Health Canada, 2011a]

Auffallend ist aber, dass auch für die kanadische Sicherheitsbehörde BPA eigentlich kein Sicherheitsrisiko darstellt:

“Health Canada’s Food Directorate has concluded that the current dietary exposure to BPA through food packaging uses is not expected to pose a health risk to the general population, including newborns and infants.” [Health Canada, 2011b]

Tatsache ist aber, dass Kanada aber trotzdem „auf Nummer sicher geht“ und diverse Maßnahmen getroffen hat um die kanadische Bevölkerung, insbesondere Säuglinge und Kleinkinder, zu schützen. Sie empfiehlt daher das ALARA1 (*as low as reasonably achievable*) Prinzip; im Oktober 2008 wurden dazu u.a. folgende Maßnahmen bekannt gegeben:

- Förderung der Industrie bei Entwicklung eines „Code of Practice“ zur Reduzierung des BPA Gehaltes in Dosennahrung für Säuglinge und Kleinkinder

- Unterstützung bei der Entwicklung von BPA Alternativen für die Beschichtung von Dosen für Säuglinge und Kleinkinder
- Erfassen von zusätzlichem Datenmaterial zur Risikobewertung von BPA

Kürzlich hat Health Canada die Industrie aufgefordert, das Voranschreiten dieser Vorhaben zu evaluieren, damit überprüft werden kann ob die Maßnahmen zur BPA Reduktion erfolgreich sind. Auf die Ergebnisse dieser Evaluierung darf man gespannt sein [Health Canada, 2011b].

5.2. Referenzwerte der Sicherheitsagenturen

Um das Risiko eines Stoffes einordnen zu können, werden von den Sicherheitsagenturen einzelner Länder bzw. Staatengemeinschaften wie der EU, Referenzwerte herausgegeben, so auch für BPA. Auch wenn die Bezeichnung unterschiedlich ist, (in den USA wird der Wert als *reference dose* RfD herausgegeben, in Europa wird er aber als *tolerable daily intake* TDI bezeichnet), halten sowohl die U.S. amerikanische Sicherheitsbehörde, die *U.S. Food and Drug Administration* (FDA), als auch die europäische, die *European Food Safety Authority* (EFSA), an derselben täglich tolerierbaren Dosis für BPA von 50µg/kg KG fest. Health Canada setzt einen provisorischen TDI (pTDI) mit 25µg/kg KG fest, der damit deutlich niedriger liegt. Die 50µg//kg KG Marke hat ihren Ursprung in der eingangs eben erwähnten Studie aus dem Jahre 1977; mehrere Studien zur Überprüfung in den einzelnen Ländern folgten [Krishnan et al., 2010].

5.2.1. Entwicklung des Richtwertes der FDA

So bezieht sich die FDA auf eine Studie des *National Toxicology Programm* NTP aus 1982. Hier wurde eine Gewichtsreduktion an Ratten bei Dosen ab 50mg/kg KG

beobachtet. Dieser Wert ergibt daher die niedrigste Dosis, bei der eine schädliche Wirkung gezeigt werden konnte (LOAEL). Da kein NOAEL ermittelt wurde (jene niedrigste Dosis, bei der keine Wirkung festgestellt wird), erfolgte eine Extrapolation von LOAEL auf NOAEL mit dem Faktor 10, zusätzlich wurde der Sicherheitsfaktor 10 für die Unterschiede zwischen den Spezies und nochmals ein Sicherheitsfaktor 10 für individuelle Unterschiede berechnet um die tolerierbare tägliche Aufnahme zu errechnen.

Die Berechnung der FDA:

$$50\text{mg/kg KG pro Tag} / 10/10/10 = 0,05\text{mg} = 50\mu\text{g/ kg KG pro Tag}$$

[US EPA, 1993]

5.2.2. Entwicklung des Richtwertes der EFSA

Die letzte Revision des TDI durch die EFSA erfolgte 2006 durch die 3 Generationen Studie an Ratten von Tyl et al. (2002), die nachträglich auch durch die Ergebnisse einer Studie derselben Autoren im Jahr 2008 gestützt wurde. Hier wurden mögliche Reduktionen des Körpergewichtes von ausgewachsenen Ratten und von Körper- und Organgewicht von Jungtieren untersucht. Aus den Ergebnissen wurde ein NOEL von 5mg/kg KG ermittelt. Danach erfolgte wie üblich die Einberechnung des Sicherheitsfaktors 10 für die Unterschiede zwischen den Spezies und nochmals ein Sicherheitsfaktor 10 für individuelle Unterschiede. Daher ergab sich wieder ein TDI von ebenfalls 50µg/kg KG.

Die Berechnung der EFSA:

$$5\text{mg /kg KG pro Tag} / 10/10 = 0,05\text{mg} = 50\mu\text{g/ kg KG pro Tag}$$

[EFSA, 2006]

5.2.3. Entwicklung des Richtwertes von Health Canada

Health Canada setzt einen provisorischen TDI (*provisional tolerable daily intake*) mit 25µg/kg KG fest, basierend auf einer 90 Tage Studie an Ratten, durchgeführt durch das NTP (1982), in der ein NOAEL von 25mg/kg KG pro Tag hinsichtlich Gewichtsreduktion von Ratten ermittelt wurde. Unter Einbeziehung dreier Sicherheitsfaktoren (jeweils Faktor 10) ergibt sich ein pTDI von 25µg/kg KG. Neben den bereits erwähnten Sicherheitsfaktoren für die Unterschiede zwischen den Spezies und für die individuellen Unterschiede, musste hier auch noch der Sicherheitsfaktor für die Umlegung von Effekten, die bei subchronischer Exposition ermittelt wurden, auf jene, die sich bei chronischer Exposition ergeben könnten, mit einberechnet werden.

Die Berechnung von Health Canada:

$25\text{mg/ kg KG pro Tag} / 10/10/10 = 0.025\text{mg} = 25\mu\text{g/kg KG pro Tag}$

[Health Canada, 2008]

5.3. Dosis-Wirkung-Beziehung

„Die Dosis macht das Gift“, ein bekannter Satz, der auch auf die Wirkung von BPA zutrifft, allerdings anders als langläufig angenommen. In der Wissenschaft galt lange das Prinzip, „je größer die Dosis, desto größer die Wirkung“. Dass diese These nicht auf alle Wirkungsweisen von BPA angewendet werden kann, ist ein wichtiger Punkt in der Debatte um seine Risikobewertung.

Es wird dabei immer wieder von „*Low Doses*“, also niedrigen Dosen gesprochen, das *National Institut for Environmental Health Sciences* (NIEHS) definiert „*Low Doses*“ als Dosen, die sich unterhalb des NOAEL für eine chemische Substanz befin-

den. Im Falle von BPA sind das daher Dosen unter 50mg/kg KG pro Tag. Teilweise werden „*low doses*“ auch als jene Dosen definiert, die unter dem Referenzwert von 50µg/ kg KG liegen [Vandenberg et al., 2007].

Zur Darstellung der Abhängigkeit einer bestimmten Wirkung von einer bestimmten Dosis gibt es mehrere (graphische) Modelle (siehe Abbildung 5.3.1). Sowohl A als auch B gehen von der Annahme aus, je höher die Konzentration eines Stoffes, desto größer seine Wirkung. Nach diesem Prinzip wurde auch lange Zeit die Toxizität von endokrinen Disruptoren bewertet. Abbildung 5.3.1A zeigt ein lineares Modell mit einem Schwellenwert, das für nicht kanzerogene Stoffe herangezogen wird. Der Schwellenwert wird durch die Ermittlung des NOEL ermittelt. Für die Risikobewertung von Kanzerogenen wird Modell B (Abbildung 5.3.1B) benutzt, ein lineares Modell ohne Schwellenwert. Etliche Studien (u.a. Sheehan et Saal, 1997; Welshons et al., 2003; Vandenberg et al., 2006) kommen allerdings zur Erkenntnis, dass weder Modell A noch Modell B für die Dosis-Wirkungs-Beziehung von Hormonen und hormonähnlichen Stoffen geeignet ist, sondern es sich hierbei oft um eine zweiphasige Dosis-Wirkungs-Beziehung mit verschiedenen Endpunkten, bei verschiedenen hohen Dosen handelt. Diese Modelle lassen sich graphisch mit der Form eines „U“ bzw. eines umgekehrten „U“ (Abbildung 5.3.1) darstellen und zeigen keine monotone Steigung der Wirkung bei Erhöhen der Dosis (NMDR *non monotonic dose response*). Zeigt ein Stoff eine Dosis-Wirkungs-Beziehung in Form eines „U“, so findet sich die größte Wirkung bei sehr niedrigen und sehr hohen Dosen. Ergibt das Verhältnis Dosis-Wirkung ein umgekehrtes „U“, so sind die größten Effekte bei einer mittleren Dosis zu verzeichnen.

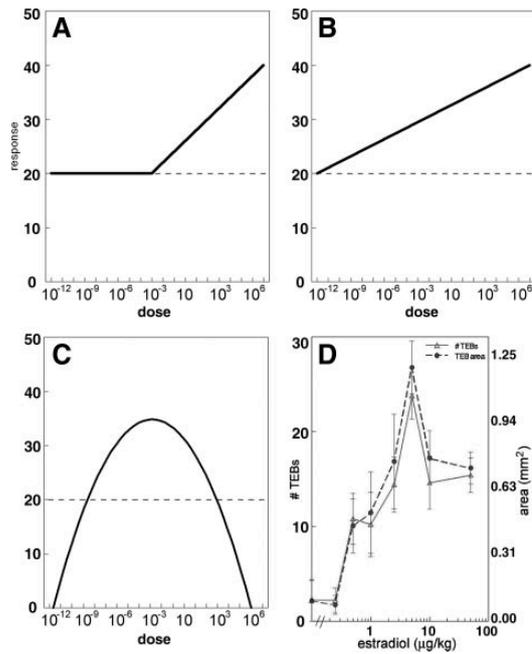


Abbildung 5.3.1: Modelle der Dosis- Wirkungsbeziehung, [Vandenberg et al., 2009]

Studien zu diesen Modellen sind sehr aufwändig, da ein weites Spektrum verschiedener Dosen, inklusive Dosen, die unter der bisherigen ermittelten Wirkungsschwelle (dem bisher angenommenen LOAEL) liegen, getestet werden müssen. Die Mechanismen die zu einer U-förmigen Dosis-Wirkungs-Beziehung führen, sind noch weitgehend ungeklärt. Einige Studien [u.a. Medlock et al., 1991; Tibetts et al., 1998] lassen vermuten, dass höhere Hormonkonzentrationen zu einer „*Down Regulation*“ der Rezeptoren führt. Eine andere mögliche Erklärung wäre die Existenz von zwei oder mehreren (unterschiedlichen) monotonen Dosis-Wirkungskurven, die aus unterschiedlichen Wirkungspfaden mit einem gemeinsamen Endpunkt mit entgegengerichteten Effekten resultieren. So haben *in vitro* Studien (Sonnenschein et al., 1989) gezeigt, dass niedrige Dosen von Androgenen eine proliferative Wirkung in den Zielzellen vermitteln, höhere Dosen aber die Zellproliferation inhibieren. Wenn die Zellzahl den Endpunkt darstellt, ergibt das eine Kurve mit einem umgekehrten U. Die zwei Arme dieser Kurve werden unabhängig voneinander hervorgerufen, einzeln betrachtet ergeben sich monotone Dosis-

Wirkungskurven. Zusätzlich untermauert wird die Annahme der nicht-monotonen Dosis-Wirkungsbeziehung durch weitere Studien. So zeigten Wozniak et al. (2005) an GH3/B6 hypophysären Zellen eine U-förmige Dosis-Wirkungsbeziehung, BPA führte bei Konzentrationen von 10^{-8} M, 10^{-11} M und 10^{-12} M zu signifikanten Veränderungen der Zellen, in den Konzentrationen von 10^{-10} M und 10^{-9} M wurden diese Veränderungen nicht hervorgerufen. Wetherill et al. (2005) zeigten eine Dosis Wirkungsbeziehung zwischen BPA Konzentration und der Proliferation von LNCaP Prostatakrebs Zellen in Form eines umgekehrtes U. Die maximale Proliferationsrate wurde bei 10^{-9} M gemessen, sowohl bei 10^{-10} M als auch bei 10^{-8} M und 10^{-7} M wurde eine niedrigere Proliferationsrate verzeichnet. Auch bei Untersuchungen der Wirkung von BPA auf die Adiponectinsekretion in Explantaten aus menschlichem Fettgewebe konnte eine Dosis- Wirkungsbeziehung in Form eines umgekehrten „U“ gefunden werden [Hugo et al., 2008]; ebenso zeigten Alonso-Magdalena et al. (2008) bezüglich des Einflusses von BPA auf die Insulinsekretion (Zellstudien an Langerhans'schen Inseln) eine Dosis-Wirkungsbeziehung in Form eines umgekehrten U. Diese Problemstellung wurde auch *in vivo* untersucht, bei präpubertären CD1-Weibchen wurde die Wirkung von Estradiol auf die Milchdrüsen getestet, die stärksten morphometrischen Veränderungen zeigten sich bei mittleren Dosen, hohe Dosen waren weniger effektiv. Bei Sprague Dawley Ratten führte eine postnatale Verabreichung von Estradiol-Benzooat in niedrigen Dosen zu einer Zunahme des Prostatagewichtes, während dieses bei hohen Dosen verringert wurde [Keri et al., 2007].

Diese Überlegungen sind deswegen so wichtig, da dadurch nicht davon ausgegangen werden kann, dass, wenn BPA bei einer Dosis x die Wirkung y nicht zeigt, die Wirkung y auch nicht in einer Dosis, die geringer als x ist, ausgelöst wird. Es ist daher sehr fraglich, ob die linearen Dosis-Wirkungsbeziehungsmodelle für das Herausgeben von Risikobewertungen von BPA durch die Sicherheitsagenturen überhaupt geeignet sind.

Haltung der Sicherheitsagenturen zur Frage der „Low Doses“

2001 veröffentlichte die NTP den „*Report of the Endocrine Disruptors Low Dose Peer Review*“, in dem man zu dem Schluss kam, dass ein „*credible evidence*“ über die Effekte von BPA unter der Referenzdosis bestünde [Melnick et al., 2002]. In diesem Bericht wurde auf die Studien von vom Saal et al. (1998) und die Reproduzierbarkeit seiner Ergebnisse in einer anderen Studie [Gupta, 2000] Bezug genommen. Es wurden aber auch zwei, von der chemischen Industrie finanzierte, Studien erwähnt, die „*credible evidence*“ für keine von BPA verursachte Wirkungen zeigten [Ashby et al, 1999], [Cagen et al., 1999]. Daher kam die NTP zu dem Schluss, dass weitere Forschungen auf diesem Gebiet unbedingt notwendig seien. Ferner sollte ein neues Paradigma gefunden werden, wie mit dem Sachverhalt der möglicherweise nicht linearen Dosis-Wirkungs-Beziehung umgegangen werden sollte. Diese „neue“ wissenschaftliche Meinung stieß auf Kritik von Seiten der Industrie, es folgten Studien in Kooperation mit dem „*Harvard Center for Risk Analysis*“, eine Organisation die finanzielle Unterstützung u.a. von *American Chemistry Council*, der *Society of Plastic Industry* und *General Electric* bekommt. Das Harvard Center veröffentlichte 2006 einen Bericht, der die Risikobewertung von BPA vor allem auf 2 Multigenerationsstudien stützte, die vom *American Plastic Council* und der *Society of the Plastics Industry* finanziert worden waren. Die Qualität der Studien wurde mit der großen Anzahl an Versuchstieren, einer großen Spannweite an verabreichten Dosen und vor allem der Befolgung der GLP (siehe dazu auch 5.1, S.30), begründet. Diese zwei Studien veranlassten das Harvard Center zu der Annahme, dass die Annahmen über die schädliche Wirkung von BPA in Frage zu stellen sind. Der Bericht stellte auch die Ergebnisse bisheriger *Low-Dosis* Studien in Frage und verwies auf die unzureichende Berücksichtigung der verschiedenen Tierarten (und damit der unterschiedlichen Metabolisierung) und der verschiedenen Verabreichungsarten [Gray et al., 2004].

Darauf reagierte wiederum die Forschungsgruppe um vom Saal [vom Saal und Hughes, 2005]. Sie kritisierte, dass das Harvard Center die große vorhandene

Menge an Studien zum größten Teil nicht mit einbezogen hatte. Zwischen 1997 und 2005 wurden in den USA, Japan und Europa 115 Studien zur Wirkungsweise von BPA in Dosen auf Höhe der Referenzdosis bzw. darunter durchgeführt. 90% der staatlich finanzierten Studien zeigten Wirkung wie Entwicklungsstörungen in der fetalen Prostata und der Milchdrüse, veränderte Immunfunktionen, Veränderungen im Verhalten und der Reproduktionsfähigkeit. Von den 11 durch die Industrie finanzierten Studien zeigte keine einzige negative Wirkungen durch eine BPA Exposition auf. 2008 meldete sich die FDA erneut zu Wort und stützte sich wieder auf die zwei umstrittenen Multigenerationsstudien, die nach den Prinzipien der GLP durchgeführt worden waren. Auf Hinweis des FDA *Science Board Subcommittee on Bisphenol A*, überdachte die FDA ihren Standpunkt allerdings wiederum und verkündete die zukünftige Durchführung von umfangreichen Tests zur Toxizität von BPA. Eindeutig ist zum heutigen Zeitpunkt, dass die „Low- Dose“ Forschung wissenschaftlich volle Akzeptanz erhalten muss [Vogel et al., 2009].

5.4. Übertragung der Ergebnisse aus den Tierversuchen auf den menschlichen Organismus:

Zur Toxikologie von BPA wurde eine Reihe von *in vivo* Studien durchgeführt, ein großer Teil davon an Nagern, die zwar mit dem menschlichen Organismus viele Gemeinsamkeiten teilen, genauso aber auch Unterschiede aufweisen. So scheiden Nagetiere BPA hauptsächlich über die Fäzes aus, Affe und Mensch hingegen über den Urin (siehe dazu auch 2.3., S.7ff.). Allerdings zeigte eine Studie anhand des direkten Vergleiches an Mäusen und Affen, dass bei beiden Tieren nach der Verabreichung BPA in einer Dosis von 1mg/kg KG dieses nach 30min (Mäusen) bzw. 1h (Affen) in etlichen fötalen Geweben nachweisbar war, der Fötus daher unabhängig von der Art der Ausscheidung BPA ausgesetzt war [Vandenberg et al., 2009].

Eine weitere Schwachstelle der *in vivo* Studien ist die Dosisverabreichung, sowohl deren Häufigkeit als auch der Weg der Verabreichung. Den Tieren werden üblicherweise wenige, aber hohe Dosen verabreicht, meist einmal pro Tag. Der Mensch ist BPA aber viel häufiger (kontinuierlich) und in niedrigeren Dosen ausgesetzt. Der orale Weg der Verabreichung ist gegenüber der nicht oralen zu bevorzugen, um die physiologischen Voraussetzungen möglichst gut nachbilden zu können, besonders da BPA dem First Pass Metabolismus in der Leber durchläuft (siehe auch 2.3, S.7). Außerdem betrachten Tierstudien eine chemische Substanz häufig isoliert, auch das entspricht nicht den tatsächlichen physiologischen Bedingungen. Darüber hinaus ist BPA nicht die einzige Umweltkontaminante, der wir ausgesetzt sind, auch nicht der einzige endokrine Disruptor (ECD). Den additiven Effekten muss auch *in vivo* mehr Aufmerksamkeit geschenkt werden. Tierstudien, die diesen Umständen Rechnung tragen, sind gefordert [Vandenberg et al., 2007]. Nicht zu vergessen ist auch, dass die Anfälligkeit für Tumore in verschiedenen Nagetierstämmen sehr unterschiedlich sein kann. Daher sind auch Studien an mehreren Stämmen notwendig [Keri et al., 2007].

5.5. BPA - ein endokrin aktiver Stoff - Einflüsse auf den Stoffwechsel (Wirkungsmechanismen von BPA)

Der Begriff "endocrine disruptor EDC" bzw. „endokriner Disruptor“ ist an sich relativ neu. Der Begriff wurde Anfang der 90er „erfunden“ und definiert. Die These war, dass einige Chemikalien in den Hormonhaushalt eingreifen können. Wenn der Begriff auch neu war, über derartige Wirkung war bereits geforscht worden, wie beispielsweise mit Substanzen, die sogenannten Xenoöstrogene, die eine östrogene Wirkung aufweisen [Vogel et al., 2009].

Die EPA (*US Environmental Protection Agency*) definiert EDC folgendermaßen:
“An environmental endocrine disruptor is defined as an exogenous agent that interferes with the synthesis, secretion, transport, binding, action, or elimination of natu-

ral hormones in the body that are responsible for the maintenance of homeostasis, reproduction, development, and/or behavior.”

[EPA, 2011]

Endokrin wirksame Stoffe greifen in das endokrine System ein, rufen veränderte Funktionen in diesem hervor und können daher schädliche Effekte auf den Organismus haben. Auch Bisphenol A steht im Verdacht als EDC wirken zu können, besonders seine Rolle als Östrogen-Agonist wurde in vielen Studien untersucht, Wechselwirkungen mit Androgen und Schilddrüsenhormonen sind ebenfalls in Diskussion [Beronius et al., 2009].

Die EPA ist um Einigkeit zwischen den Stakeholder (Industrie, Politik, NGOs) bemüht und versucht diverse Fragen zu klären. Das beinhaltet die Definition eines EDC und damit die Klärung verschiedenster Fragen, so zum Beispiel ob die Fähigkeit an einen Hormonrezeptor zu binden, eine Substanz auch gleichzeitig immer zu einen EDC macht. Aber auch Fragen wie die erforschten Effekte zu bewerten sind, etwa ob die Veränderung der Prostatagröße auch negative Effekte mit sich bringt. Schlussendlich ist auch die Diskussion um ein adäquates Studiendesign von großer Bedeutung, vor allem ob „low doses“ auch getestet werden sollen (siehe auch 5.3, S.37ff.) und ob der Exposition während des Fetal- und Neonatalstadiums besondere Aufmerksamkeit geschenkt werden sollte [Vogel et al., 2009].

5.5.1. Die mögliche östrogene Wirkung von BPA

Die östrogenen Effekte von BPA betreffend, nahm die EPA die Ergebnisse einer kleineren Studie aus dem Jahr 1981 zwar zur Kenntnis, argumentierte aber, dass durch die geringe HWZ von BPA im Körper und damit durch die geringe Bioakkumulation kein Risiko von BPA ausgehe. Als Ende der 1980er ein interdisziplinäres Forschungsfeld um die hormonähnlichen Wirkungen von synthetischen Chemikalien entstand, wurde der möglicherweise östrogenen Wirkung von BPA mehr Auf-

merksamkeit geschenkt. An der Stanford Universität suchte man 1993 in einem Versuch mit auf Östrogen ansprechenden Brustkrebszellen nach einem endogenen Östrogen in Hefe. Das was die ForscherInnen für ein endogenes Östrogen gehalten hatten, stellte sich als BPA heraus, das sich von Laborbehältnissen aus Polycarbonat gelöst hatte. In weiterer Folge brach die Diskussion über endokrine Disruptoren aus [Vogel et al., 2009].

Ende der 1990er Jahre testeten Nagel et al. BPA auf seine Wirkung auf natürliche Hormone. Das besondere an den Tests war, dass nicht die bisher bei toxikologischen Tests üblichen Dosen eingesetzt wurden, sondern physiologisch für den Menschen relevante Dosen, sprich Mengen an BPA, die auch durch den Menschen laut Studien tatsächlich aufgenommen werden und die teilweise unter der Referenzdosis von $50\mu\text{g}/\text{kg KG}$ lagen. In der Studie wurden erhöhtes Prostatagewicht bei BPA Exposition und generell eine größere östrogene Wirkung als bisher angenommen festgestellt [Nagel et al., 1997].

Wirkungspfade der östrogenen Wirkung von BPA

Die Mechanismen, über die BPA seine Wirkung in biologischen Systemen ausübt, sind keineswegs vollständig geklärt. Eine der Hauptfragen ist, wie BPA seine östrogenähnliche Wirkung erzielt. Bisphenol bindet sowohl an den Östrogenrezeptor $ER\alpha$ als auch an den Östrogenrezeptor $ER\beta$. Die Bindungsaffinität von BPA an diese klassischen Östrogenrezeptoren ist allerdings 10 000 mal geringer als jene von Estradiol, es wäre daher anzunehmen, dass BPA nur im μM Bereich mit Östrogenen konkurriert. In nanomolaren Konzentrationen löst Bisphenol allerdings oft Östrogen-ähnliche Effekte aus, und zwar ähnlich stark, oder sogar stärker als Estradiol. Es wird daher angenommen, dass BPA seine östrogene Wirkung (auch) über alternative Rezeptoren erzielt. Zum einen sind das die östrogenassoziierten Rezeptoren (*ERR estrogen related receptor*), wobei $ERR\gamma$ die größte Affinität zu BPA besitzt. Zum anderen, der G-Protein gekoppelte Rezeptor 30 (GPR 30). Er zählt zu den Membranrezeptoren (*ncmER non classical membran estrogen receptor*). Durch Bindung an diesen Rezeptor kann eine schnellere Wirkung erreicht werden als über die klassischen Östrogenrezeptoren. Denn Steroidhormone wirken nicht nur über genomisch induzierte Wege, sondern zeigen auch auf schnellerem Weg, über an der Zellmembran lokalisierte Rezeptoren, ihre Wirkung. Dadurch werden sehr schnell sekundäre Botenstoffe, wie cAMP aktiviert [Ben- Jonathan et al., 2009].

GPR30 ist der erste Östrogen-Membranrezeptor, dessen Struktur bekannt ist und nicht jener der Rezeptoren im Zellkern ähnelt. Daher war es möglich eine Studie, über die Befähigung von verschiedenen EDCs an einen rekombinanten GPR30 Rezeptor zu binden, durchzuführen. Damit sollte auch das Auslösen GPR30 vermittelter sekundärer Botenstoffe untersucht werden. Neben BPA wurden auch Genistein und andere Substanzen auf eine derartige Wirkung geprüft. Die Substanzen

wurden auf ihren IC₅₀ Wert² und auch ihre Bindungsaffinität (BA) hinsichtlich des GPR30 Rezeptors getestet; als Vergleichswert diente die BA und der IC₅₀ von Estradiol. Den niedrigsten IC₅₀ Wert und die höchste BA zeigte Genistein, gefolgt von BPA. So hatte BPA ca. 3% der BA von Estradiol und den 35fachen IC₅₀ Wert. Interessant ist die Tatsache, dass die BA von BPA zu GPR30 um ein Vielfaches höher ist als die zu den klassischen Östrogenrezeptoren [Thomas et al., 2006].

Den verschiedensten Wirkungsweisen von BPA wurde auch in etlichen Studien Rechnung getragen; auf diesen Aspekt wird bei der genaueren Beschreibung der möglichen Effekte von BPA in den unten stehenden Abschnitten ebenfalls eingegangen.

5.5.2. Androgene Wirkung

Es gibt auch Anzeichen, dass BPA als Antagonist von Androgenen wirkt. Die mögliche Wirkung als Androgenantagonist ist noch nicht geklärt, die Unterscheidung zwischen östrogenen und antiandrogenen Effekten ist im Tierversuch teilweise schwierig [Vandenberg et al., 2009].

Eine Wirkung, die BPA auf das Androgensystem haben könnte, ist das Herabsetzen der Wirkung der Androgen-Deprivations-Therapie (ADT) in der Behandlung von Prostatakrebs (siehe dazu auch 5.9.3.2)

5.5.3. Wechselwirkungen mit den Schilddrüsenhormonen

Weniger intensiv erforscht als seine östrogene Wirkung, ist der Einfluss, den BPA auf das Schilddrüsenhormonsystem nimmt. Generell ist die Wirkung von Chemikalien auf dieses System weniger untersucht worden. Epidemiologische Studien zei-

²IC₅₀: halbmaximale Hemmkonzentration, jene Konzentration eines Stoffes, bei der er 50% seiner hemmenden Wirkung auf ein bestimmtes Ereignis/ einen bestimmten Stoff, ausübt

gen zwar, dass eine Einwirkung von Umweltchemikalien auf die Schilddrüsenhormone möglich ist, die Mechanismen sind aber weitgehend unbekannt. Moriyama et al. (2002) zeigten in ihrer in vitro Studie an nuklearen Thyroidhormon-Rezeptoren (TRs) aus der Leber von Ratten, dass BPA als Antagonist in die TR vermittelte Gentranskription eingreift. BPA führt hier zu einer verminderten Transkription, die durch T3 stimuliert wird, und führt bei Transkriptionen, die durch T3 unterdrückt werden, zu erhöhter Transkription [Moriyama et al., 2002]. Ein in vivo Test an Ratten (Verabreichung mit einem Wafer in den Konzentrationen 0, 1, 10, 50 mg/kg KG) kam zu dem Ergebnis, dass eine BPA Exposition der Muttertiere bei den Jungtieren zu erhöhten T4 Spiegel im Serum führen kann. Eine signifikante Änderung im Vergleich zur Kontrollgruppe wurde allerdings nur am postnatalen Tag 15 gefunden. Die Autoren detektierten weiter eine erhöhte Expression des RC3/Neurogranin Gens und führen das auf eine verringerte negative Rückkopplung aufgrund des höheren T4 Spiegels im Plasma zurück. An den anderen Mess- tagen konnte keine Veränderung festgestellt werden [Zoeller et al., 2005]. Beide Studien liefern Hinweise auf ein Eingreifen von BPA in das System der Schilddrüsenhormone, klare Aussagen können aber noch keine gemacht werden, dazu bedarf es weiterer Studien.

5.6. Einflüsse auf den Stoffwechsel

5.6.1. Einfluss auf die Glukosehomöostase

Die Annahme, BPA könnte einen Einfluss auf den Blutzuckerspiegel haben, rührt von der Wirkung von Estradiol auf diesen her. Unter (normalen) physiologischen Bedingungen trägt Estradiol zu einer normalen Insulinsensitivität bei und hat einen positiven Einfluss auf die β -Zellen der Langerhansschen Inseln. Übermäßig erhöhte Konzentrationen können allerdings zu Insulinresistenz führen. Daher stellt sich die Frage inwiefern exogene Substanzen, die eine Estradiol ähnliche Wirkung ha-

ben, ebenfalls einen Einfluss auf die Glucosehomoöstase, die Funktion der β -Zellen und damit auf die Entstehung von Diabetes, haben. Alonso-Magdalena et al. (2006) führten dazu eine in vivo Studie durch. Verabreicht wurden Dosen von 1 μ g, 10 μ g und 100 μ g/kg KG. Daher wurde auch der möglichen Niedrig-Dosis-Wirkung Rechnung getragen (unter der Referenzdosis von 50 μ g/kg KG). Sowohl für Estradiol als auch für BPA konnte eine blutzuckersenkende Wirkung festgestellt werden, parallel dazu stieg der Plasma-Insulinspiegel. Gegenstand der Untersuchungen war auch, auf welchem Weg diese Wirkungen erzeugt werden, ob BPA bzw. Estradiol durch die klassischen Östrogenrezeptoren (ER) ihre Wirkung ausüben, oder ob (auch) alternative Wege genutzt werden. Neben den klassischen Östrogenrezeptoren ER- α und ER- β besitzen die β -Zellen den Membranrezeptor GPR30, der wie erwähnt, auf schnellerem Weg eine Wirkung auslösen kann als die oben genannten. Um zu untersuchen, auf welchem Weg E2/ BPA ihre Wirkung auslösen, wurden den Versuchstieren im zweiten Versuch zusätzlich das Antiöstrogen ICI injiziert. ICI blockiert die klassischen ER. Die blutzuckersenkende Wirkungsweise von Estradiol und BPA blieb auch bei Gabe von ICI bestehen. Hingegen stieg, bei gleichzeitiger Gabe von ICI, der Plasma-Insulinspiegel deutlich weniger stark an, allerdings war immer noch ein signifikanter Anstieg im Vergleich zur Kontrollgruppe gegeben. Es ist daher sehr wahrscheinlich, dass E2/BPA ihre kurzfristig blutzuckersenkende Wirkung (auch) auf einem alternativen Weg erreichen. Bei langfristiger Verabreichung von BPA bzw. E2 wurde bei den Tieren ein Ansteigen des Insulingehaltes in der Pankreas gefunden, der bei Zugabe von ICI komplett blockiert wurde. Das wiederum lässt darauf schließen, dass diese Wirkung durch klassische Östrogenrezeptoren vermittelt wird. Diese Erkenntnis ist ganz wesentlich wenn es darum geht, die Ergebnisse auf andere ECDs zu übertragen [Alonso- Magdalena et al., 2006].

Eine weitere Studie von Alonso-Magdalena et al. (2010) testete umweltrelevante Dosen von BPA auf den Glukosemetabolismus während der Schwangerschaft und die langfristigen Auswirkungen der BPA-Gaben nach Beendigung der Studie. Au-

ßerdem wurden die Folgen der *in utero* Exposition von BPA auf metabolische Parameter gemessen (die Jungtiere selbst erhielten kein BPA). Hintergrund für letzteres war, dass BPA in mehreren Studien in fetalen Geweben gefunden worden war (siehe dazu auch S.21). Glucose ist der Hauptenergienährstoff, den der Fötus (durch das Fruchtwasser) und das Neugeborene (durch die Muttermilch), durch die Mutter erhält. Die Glucoseaufnahme in den Muskel und das Fettgewebe wird daher in der Schwangerschaft und in der Stillzeit vermindert, um eine ausreichende Glucoseversorgung des Fötus/ des Säuglings sicher zu stellen. Dadurch besteht allerdings das Risiko eines Schwangerschaftsdiabetes. Eine adäquate Insulinsekretion hat zur Aufgabe diesen zu verhindern. BPA steht im Verdacht in dieses empfindliche Gleichgewicht einzugreifen.

Trächtigen Mäusen wurde zwischen dem 9.-16. Gestationstag subkutan 10µg, 100µg oder 0 (stattdessen ein Vehikel) BPA/kg KG/d verabreicht. Die Studie brachte folgende Ergebnisse:

Müttergeneration: sowohl die Dosis von 10µg/kg als auch 100µg/kg KG führten zu einem signifikant erhöhten Plasmainsulinspiegel am 16. Gestationstag. Nach der Entbindung war dieser nur in der Gruppe jener Tiere signifikant erhöht, die 100µg/kg KG erhalten hatten. Zu diesem Zeitpunkt waren bei dieser Gruppe auch die Plasmawerte von Triglyceriden, Glycerin und Leptin im Vergleich zur Kontrollgruppe signifikant erhöht. Um die Insulinsensitivität zu testen, wurde der BPA Einfluss auf die insulinvermittelte Stimulation der Proteinkinase B Phosphorylierung getestet. Bei der Kontrollgruppe führte eine intraperitoneale Injektion von Insulin zu einer erhöhten Phosphorylierung der Proteinkinase B in der Leber. In jener Gruppe, die 10µg/kg KG BPA erhalten hatten, war die Phosphorylierung jedoch vermindert, was darauf schließen lässt, dass BPA die Insulinwirksamkeit in der Leber behindert. Vier Monate nach der Entbindung wurden an den Muttertieren Insulintoleranztests durchgeführt. Bei der 100µg Gruppe zeigte sich eine verringerte Glukose-senkende Wirkung durch Insulin, im Vergleich zur Kontrollgruppe. Bei der 10µg Gruppe wurde dieser Effekt nicht festgestellt. Auch waren nicht, wie bei der höher

dosierten Gruppe Glycerin und Leptin im Plasma signifikant erhöht (wenn auch eine Erhöhung vorhanden war), sondern es war nur eine signifikante Erhöhung der Triglyceride nachweisbar. Daraus kann geschlossen werden, dass langfristige Effekte wenn überhaupt, dann durch die höhere Dosierung an BPA erzielt werden. Niedrige Dosen BPA können einen erheblichen Effekt auf die Glucosehomöostase haben und die Insulinresistenz in Skelettmuskel und der Leber von trächtigen Mäusen erhöhen. BPA führten in Dosen von 10 und 100mg/kg KG pro Tag zu Hyperinsulinämie (Messung am 18. Gestationstag).

Nachkommenschaft: bei den drei Monate alten Jungtieren wurden Insulintoleranztests durchgeführt; beide BPA Dosierungen führten zu keinen signifikanten Änderungen im Vergleich zur Kontrollgruppe, wenn auch bei der männlichen Nachkommenschaft der 10µg Gruppe eine leichte Verminderung der Insulinsensitivität festzustellen war. Die Tests wurden 3 Monate später noch einmal durchgeführt. Die männlichen Jungtiere der 10µg Gruppe wiesen nun eine deutlich verminderte Insulinsensitivität auf, bei der 100µg Gruppe blieb diese normal. Die Glucosetoleranz war in beiden Gruppen verändert. Bei den weiblichen Tieren konnten keine dieser Unterschiede festgestellt werden. Die Autoren erklären sich die geschlechtsspezifischen Unterschiede durch die protektive Wirkung von Östrogen, das bei den Weibchen in physiologischer Konzentration eine protektive Wirkung gegen Diabetes einnimmt.

Langzeiteffekte: zur Analyse der Langzeiteffekte wurden bestimmte metabolische Parameter bei den Mäusen über mehrere Monate hinweg nach der Behandlung beobachtet. So wurde ein höheres Körpergewicht, erhöhte Werte von Plasmainsulin, Leptin, Glycerin und Triglyceriden und eine erhöhte Insulinresistenz bei den Müttern, vier Monate nach der Intervention festgestellt. Die Nachkommen wiesen nach sechs Monaten eine verminderte Glucoseresistenz und veränderte Blutparameter auf (siehe Tabelle 5.6.1.1).

Problematisch zu bewerten ist, wie bei vielen Studien, dass die Verabreichung von BPA nicht oral, sondern in diesem Fall subkutan erfolgte.

Versuchstiere	Plasmawerte (Vergleich zur Kontrollgruppe)			
	Insulin signifikant erhöht ($p < 0.05$)	Triglyceride signifikant erhöht ($p < 0.05$)	Glycerin signifikant erhöht ($p < 0.05$)	Leptin signifikant erhöht ($p < 0.05$)
16. Gestationstag, 10µg/kg KG	Ja	Nein	Nein	Nein
16. Gestationstag, 100µg/kg KG	Ja	Ja	Ja	Ja
bei der Entbindung, 10µg/kg KG	Nein	Ja	Nein	Nein
bei der Entbindung, 100µg/kg KG	Ja	Ja	Ja	Ja
6 Monate alte männliche Nachkommen, Mutter 10µg/kg KG	Ja	Nein	Ja	Nein
6 Monate alte männliche Nachkommen, Mutter 100µg/kg KG	nein	Nein	Ja	Nein
6 Monate alte weibliche Nachkommen, Mutter 10µg/kg KG	nein	n.e.	n.e.	n.e.
6 Monate alte weibliche Nachkommen, Mutter 100µg/kg KG	nein	n.e.	n.e.	n.e.
n.e.: nicht erfasst				

Tabelle 5.6.1.1: Blutparameter, [Alonso- Magdalena et al., 2010]

5.6.2. Einfluss auf den Stoffwechsel im Fettgewebe

Die rasch ansteigende Inzidenz von Adipositas lässt Forscher nach möglichen Zusammenhängen von Industriechemikalien/Umweltkontaminaten und der Entstehung von Adipositas suchen. Adipositas resultiert, physiologisch gesehen, aus einer erhöhten Anzahl und/oder eines vergrößerten Volumens von Adipozyten. Dar-

aus wiederum ergibt sich ein vergrößertes Volumen des Fettgewebes. Seiner Funktion nach ist dieses nicht nur ein Speicherorgan, sondern erfüllt auch die Aufgabe diverse Stoffe wie Adiponektin auszuschütten. Adiponektin erhöht die Insulinsensitivität und schützt die Gefäßwände vor Atherosklerose. Eine niedrige Konzentration von Adiponektin kann daher im Zusammenhang mit Insulinresistenz, Diabetes und Atherosklerose gebracht werden. Insulin selbst erhöht die Adiponektinsekretion, erniedrigt aber die intrazelluläre Adiponektin-Konzentration [Kidani et al., 2010].

Der Serumspiegel von Adiponektin ist bei übergewichtigen Personen, sowie bei Entwicklung von Diabetes Typ 2, erniedrigt. Hingegen zeigt sich nach Gewichtsverlust ein erhöhter Adiponektinspiegel. Ein Stoff, der die Adiponektin-Sekretion verringert, steht daher in Verbindung mit einem erhöhtem Risiko für das metabolische Syndrom [Hugo et al., 2008].

BPA steht auch im Verdacht eine Verringerung der Adiponektinausschüttung zu bewirken. Eine *in vitro* Untersuchung dazu, führten Hugo et al. (2008) durch. Verwendet wurden menschliche Fettgewebeexplantate aus dem Brustgewebe, dem viszeralem Fett und dem subkutanem Fett. Sie wurden auf die Auswirkung von E2 und BPA Zugaben untersucht, genauer gesagt, welche Auswirkungen E2 und BPA auf isolierte, reife Adipocyten haben. Außerdem analysierte man die Expressionen von ER α , ER β , GPR30, ERR α , ERR β und ERR γ in diesen Fettgeweben. Getestet wurden verschiedene Konzentrationen (0,1nM, 1nM, 10nM und 100nM) von E2 bzw. BPA, als Analysenmethode wurde ELISA eingesetzt. E2 und BPA führten in den verschiedenen Geweben zu teilweise unterschiedlichen Ergebnissen. Die Dosis-Wirkungsbeziehung bei BPA Gaben war durchwegs nicht linear, in den meisten Fällen zeigte BPA eine U-förmige Dosis-Wirkungsbeziehung hinsichtlich der Verringerung der Adiponektinsekretion. Die größte Wirkung wurde bei einer BPA Konzentration von 1nM verzeichnet, bemerkenswert aber auch, dass signifikante Effekte bereits ab der Konzentration von 0,1nM detektiert werden konnten. Die Do-

sis-Wirkungskurve von E2 war teilweise linear, was auch ein Hinweis darauf ist, dass die beiden Stoffe ihre Wirkungsmechanismen nicht immer auf demselben Weg vollziehen. So könnte BPA an alternative Östrogenrezeptoren binden, deren Expression in diesen Fettgeweben in der Studie positiv detektiert wurde. Die Expression von $ERR\alpha$, $ERR\beta$, $ERR\gamma$ und GPR30 war in allen Gewebe zwar deutlich geringer als jene des klassischen Östrogenrezeptors $ER\alpha$, alle alternativen Östrogenrezeptoren konnten aber in den jeweiligen Geweben gefunden werden. Bemerkenswert ist auch, dass BPA teilweise effektiver war als äquimolare Konzentrationen an E2. Erwähnt werden sollte noch, dass die Adiponektinsekretion in den einzelnen Gewebeproben sehr unterschiedlich war. Es liegen daher große individuelle Unterschiede vor. Die Stichprobenanzahl war allerdings zu gering um daraus Schlüsse zu ziehen wie sich Faktoren wie BMI, Alter, Geschlecht auf das Ergebnis ausgewirkt haben. Fakt ist, dass BPA in einigen Proben signifikante Wirkung gezeigt hat und dass diesem Ergebnis in weiteren Studien nachgegangen werden sollte [Hugo et al., 2008].

Auch Kidani et al. (2010) hatten sich mit ihrer Studie zum Ziel gesetzt, einen möglichen Zusammenhang zwischen der BPA Exposition (und der einiger BPA Derivate) und der Produktion und Sekretion von Adiponektin anhand einer Zellkulturstudie an 3T3-L1 Adipozyten (Präadipozyten, die zu Adipozyten differenziert werden können, sie werden aus der 3T3 Mäusezelllinie gewonnen), zu ermitteln. Die Adiponektinkonzentration in den Zellen und im Medium wurde ebenfalls mittels ELISA gemessen, mit folgenden Resultaten: BPA senkt dosisabhängig (eingesetzt wurden 0, 20, 40, 80 μM BPA) die Konzentration von Adiponektin intrazellulär und im Medium, wobei eine enge Korrelation ($r= 0,904$) zwischen dem intrazellulären Gehalt und dem im Medium bestand. Die Hemmung der Adiponektinausschüttung erfolgt wahrscheinlich über die Hemmung der Expression von Proteinkinase B. Die Autoren belegen diese These durch Detektion der verminderten Expression von Proteinkinase B (Akt, p-Akt) mittels Western Blot. Hier zeigte sich, dass BPA in einer Konzentration von 80 μM (niedrigere Konzentrationen wurden dafür nicht ge-

testet) die Expression von Akt um 46% vermindert. Auch in dieser Studie wurde untersucht auf welchem Weg BPA diese Wirkung ausübt, das heißt welche Rezeptoren beteiligt sind. Zu diesem Zweck wurde der Östrogenrezeptorantagonist ICI182 eingesetzt. Die Anwesenheit dieses Antagonisten führte zu keiner Änderung der Wirkung von BPA auf die Adiponektinsekretion. Daraus ist zu schließen, das BPA auch hier auf alternativem Wege wirkt [Kidani et al., 2010].

Die Ergebnisse beider Studie deuten auf eine verringerte Adiponektinsekretion bei BPA Exposition hin. Daraus können sich wie oben genannt Konsequenzen ergeben, BPA könnte daher über diesen Weg zu metabolischen Dysfunktionen führen.

Eine Studie, die sich ebenfalls mit dem Einfluss von BPA auf den Fettstoffwechsel befasste, aber andere Parameter zur Bewertung des Risikos heranzog, ist jene von Miyawaki et al. aus dem Jahr 2007. Es handelt sich hier um eine *in vivo* Studie zu peri- und postnataler Exposition von BPA und dessen Einfluss auf die Entstehung von Adipositas und Hyperlipidämie. Trächtigen Mäusen wurde ab dem 10. Gestationstag Trinkwasser mit dem Zusatz von 1µg/ml (niedrige Dosis, ND-Gruppe), 10µg/ml (hohe Dosis, HD-Gruppe) BPA bzw. Trinkwasser ohne Zusatz von BPA (Kontrollgruppe) verabreicht. Nach dem Entwöhnen erhielten die Jungtiere ebenfalls Trinkwasser mit BPA (ND oder HD) bzw. die Kontrollgruppe nur Wasser. Das Trinkwasser stand allen Versuchstieren unbegrenzt zur Verfügung, die tatsächliche Wasseraufnahme bewegte sich zwischen 10ml und 17ml. Die durchschnittliche tägliche BPA Aufnahme in der HD-Gruppe betrug 2.72 mg/kg KG und 0.26mg/ kg KG in der ND-Gruppe. Für jede der drei Gruppe (ND, HD, Kontrollgruppe) wurden jeweils drei Muttertiere eingesetzt, die Zahl der Jungtiere in den jeweiligen Gruppen bewegte sich zwischen 38 und 42. Am 31. Lebenstag wurden die Jungtiere getötet und u.a. Körpergewicht, Fettgewebegewicht, Gesamtcholesterin und Leptinkonzentration im Serum analysiert. Die Ermittlung des Serum-Leptingehaltes erfolgte aufgrund der Tatsache, dass ein erhöhter Leptinspiegel mit einem erhöhten Körperfettanteil korreliert. Die wichtigsten Ergebnisse der Studie sind in Tabelle 5.6.2.1 zusammengefasst. Dabei wurden sehr unterschiedliche

Werte zwischen den Geschlechtern festgestellt. So zeigte bei den Weibchen vor allem die niedrige BPA Dosierung Wirkung. Das Körpergewicht wurde bei den Weibchen durch die ND Dosierung um 13% und durch HD um 11%, im Vergleich zur Kontrollgruppe, erhöht. Die Fettmasse wurde nur durch ND signifikant verändert, es erfolgte eine Erhöhung um 132%. ND führte außerdem zu einem 123% höheren Serum-Leptinspiegel im Vergleich zur Kontrollgruppe. Bei den Männchen hingegen zeigte in der HD-Gruppe BPA größere Wirkung, das KG wurde in dieser Gruppe um 22% und das Gewicht des Fettgewebes um 59% erhöht.

[Miyawaki et al., 2007]

Parameter	Erhöhung im Vergleich zur Kontrollgruppe [%]			
	Weibliche Jungtiere		Männliche Jungtiere	
	ND	HD	ND	HD
Körpergewicht	13	11	k.s.Ä.	22
Gewicht des Körperfet- tes	132	k.s.Ä.	k.s.Ä.	59
Leptin (Serum)	123	k.s.Ä.	k.s.Ä.	k.s.Ä.
Gesamtcholesterin (Serum)	33	17	k.s.Ä.	k.s.Ä.
ND: niedrige Dosis (1µg/ml), HD: hohe Dosis (10µg/ml), k.s.Ä. keine signifikante Änderung				

Tabelle 5.6.2.1: metabolische Parameter, [Miyawaki et al., 2007]

Auch die Ergebnisse dieser Studie sprechen für ein durch BPA Exposition ausgehendes Risiko auf den Fettstoffwechsel. Die Verabreichung erfolgte oral über das Trinkwasser, daher wurde dem natürlichen Weg der Exposition Rechnung getragen. Allerdings ist die unterschiedliche Metabolisierung von BPA im Organismus von Nagern und Menschen zu beachten, wenn diese Ergebnisse auf den Menschen übertragen werden (siehe dazu auch S.7). Dennoch, auch in menschlichen

Proben wurden Konzentrationen von aktivem BPA gefunden; diese Ergebnisse müssen daher in die Risikobewertung von BPA miteinbezogen werden.

5.7. BPA und oxidativer Stress

BPA kann zu geringen Teilen im Körper auch zu Brenzkatechin umgewandelt werden. Dieses steht wiederum im Gleichgewicht mit o-Chinon, wodurch das Potential für die Bildung von Sauerstoffradikalen und oxidativem Stress gegeben ist. Der positive Zusammenhang zwischen BPA und oxidativem Stress, bedingt durch die Reduktion der Aktivität der antioxidativen Enzymen und dem Ansteigen diverser oxidativer Vorgänge, wurde im Tierversuch an Ratten gezeigt [Bindhumol et al., 2003]. Ob dieser Sachverhalt sich auch auf den menschlichen Organismus auslegen lässt, ist noch unklar. Eine koreanische Studie von Yang et al. (2009) analysierte den Zusammenhang zwischen der BPA Exposition, oxidativem Stress und Entzündungsreaktionen. Das Studiendesign sah außerdem eine Unterscheidung zwischen erwachsenen Männern und Frauen, sowohl prä- und postmenopausalen Frauen vor, da Unterschiede in der Expression der Östrogenrezeptoren zwischen den Geschlechtern und den menopausalen Stadien vermutet wurden. Neben der Konzentration von BPA in Harn, wurden Konzentrationen von Biomarkern für oxidativen Stress (Malondialdehyd MDA und 8-Hydroxydeoxyguanosin 8-OHdG, beide im Harn) und Entzündungsparameter (weiße Blutkörperchen, white blood cells, WBC, und Serum CRP, C-reaktives Protein) gemessen. Die Konzentrationen von BPA im Harn postmenopausaler Frauen waren positiv assoziiert mit den Konzentrationen von MDA, 8-OHdG und CRP. Bei den männlichen Probanden und den Probandinnen vor der Menopause konnte ein derartiger Zusammenhang nicht festgestellt werden [Yang et al., 2009].

Dem Zusammenhang zwischen BPA und oxidativem Stress wurde bisher relativ wenig Aufmerksamkeit geschenkt. Geht man von dem Ergebnis der Studie von

Yang et al. (2009) aus, dann ist von BPA ein Risiko für erwachsene Personen nur für postmenopausale Frauen zu erwarten.

5.8. Wirkungen auf das Herz-Kreislauf System

Die Daten aus den groß angelegten NHANES (National Health and Nutrition Examination Survey) Studien 2003/4 und 2005/6 bilden die Grundlage für viele epidemiologische Untersuchungen. So wurde auch der Zusammenhang zwischen der BPA Konzentration mit der Inzidenz für Erkrankungen des Herz-Kreislauf-Systems analysiert. Die Eckdaten aus den Studien wurden in 4.1 vorgestellt.

Die BPA Konzentrationen waren in der Studie aus 2003/4 generell höher als in der Studie aus 2005/06. Den Einfluss auf das Herz-Kreislaufsystem betreffend, war die Korrelation zwischen der BPA Konzentration im Blut und der Inzidenz für Myokardinfarkte, Angina pectoris, koronare Herzerkrankungen und Diabetes 2003/4 höher als 2005/6. Für diese Erkrankungen ergab sich aus den Daten der NHANES 2003/04 ein statistisch signifikanter Zusammenhang mit einer erhöhten BPA Konzentration, bei den Daten aus 2005/06 konnte diese positive Korrelation nur für koronare Herzerkrankungen festgestellt werden. Allerdings zeigte sich bei der Auswertung der gesammelten Daten für beide Studien für alle angeführten Erkrankungen ein statistisch signifikanter Zusammenhang (siehe Tabelle 5.6.2.1). [Melzer et al., 2010].

Erkrankungsbild	1.NHANES 2003/04	2.NHANES 2005/06	Gesammelte Daten aus 1+2
	OR	OR	OR
Myokardinfarkt	1.34	1.31	1.28
Angina pectoris	1.26	1.29*	1.27
Koronare Herzerkrankung	1.45	1.29*	1.37
Kardiovaskuläre Erkrankungen gesamt	1.31	1.21*	1.26
Diabetes	1.41	1.07*	1.27
* p- Wert>0.05, daher kein statistisch signifikanter Zusammenhang			

Tabelle 5.6.2.1: BPA und kardiovaskuläre Erkrankungen/Diabetes, [Melzer et al., 2010]

Diese Erkenntnisse werfen natürlich die Frage nach den Wirkungsmechanismen von BPA in diesen Zusammenhang auf. Es könnte sein, dass BPA hier seine Wirkung über bisher unbekannte Wege ausübt.

Zu betonen ist hier, dass die Wirkung von BPA auf das Kreislaufsystem nicht direkt untersucht wurde, sondern nur von einer Variablen (erhöhte BPA Konzentration im Urin) auf eine andere (erhöhte Inzidenz einer bestimmten Krankheit) geschlossen wurde, mit der Annahme, dass eine Abhängigkeit der Variablen „Krankheit“ von der Variable BPA Konzentration im Urin besteht. Es kann durchaus sein, dass eine erhöhte BPA Aufnahme zu einem erhöhten Risiko für Herz-Kreislaufkrankungen führt. Nicht auszuschließen ist aber auch die Möglichkeit, dass die Inzidenz durch andere Faktoren erhöht wird, die ihrerseits mit der BPA Aufnahme zusammenhän-

gen. Auch könnte es sein, dass BPA zwar Wirkung auf das Herz-Kreislaufsystem ausübt, aber nur in Kombination mit diesen anderen Faktoren.

5.9. Wirkungen die im Zusammenhang mit Krebserkrankungen stehen

In diesem Kapitel wird erläutert, inwiefern BPA einen Einfluss auf die Entstehung von Tumoren hat und die These erläutert, ob BPA als Antagonist für chemotherapeutische Stoffe agiert. Der Zusammenhang zwischen BPA und Krebs ist ein ungeklärtes Thema; über seine mögliche (co-)kanzerogene Wirkung gibt es viele Studien, die zu keinem einheitlichen Ergebnis kommen. Diese Widersprüchlichkeit liegt womöglich unter anderem in der Tatsache begründet, dass nicht in allen Studien auf die nicht immer lineare Dosis-Wirkungsbeziehung von BPA eingegangen wird. Wie auch bei den anderen möglichen Wirkungen von BPA kann nicht immer eine lineare Dosis-Wirkungsextrapolation erfolgen. Ist ein bestimmter Effekt daher bei einer bestimmten Dosis **nicht** nachzuweisen, heißt das nicht, dass BPA diesen in niedrigeren Dosen auch nicht erzielt und umgekehrt. Mehr Studien zu BPA Wirkungsweisen im nanomolaren Bereich sind wie für alle anderen möglichen Wirkungen von BPA dringend notwendig, gerade da BPA im nanomolaren Bereich in menschlichen Proben gefunden wurde.

BPA wird mit Krebs wie erwähnt vor allem durch zwei verschiedene Mechanismen in Verbindung gebracht. Erstens steht es im Verdacht die Proliferation von Tumorzellen voranzutreiben, zweitens bestehen möglicherweise Wechselwirkungen zwischen BPA und Chemotherapeutika. Beide Thesen begründen sich hauptsächlich auf der östrogenähnlichen Wirkung von BPA [Keri et al., 2007].

Es wird davon ausgegangen, dass erhöhte Dosen an Östrogenen im Körper zur Karzinogenese von verschiedenen Organen beitragen. So wird angenommen, dass eine frühe Menarche und späte Menopause das Risiko für Brustkrebs erhö-

hen [Liehr, 2000], erhöhte Östrogenwerte werden aber auch mit erhöhtem Risiko für Prostatakrebs in Verbindung gebracht. Gegen die östrogenimitierende Eigenschaft des BPA spricht seine geringe Bindungsaffinität an ER. Dieses Argument wird allerdings durch die Annahme von alternativen Wegen, durch die ein östrogenähnliche Wirkung erzielt werden kann, (teilweise) entkräftet (siehe dazu auch 5.5) [Keri et al., 2007].

5.9.1. BPA und seine Rolle bei der Entstehung von Brustkrebs

Yang et al. (2009) stellten einen direkten Vergleich der Exposition von BPA zwischen Brustkrebspatientinnen und einer Kontrollgruppe an. Zwischen 1994 und 1997 wurde in Korea 152 Probandinnen Blut abgenommen und BPA mittels HPLC/FD zweifach gemessen. Die erste Messung detektierte nur das freie BPA, die zweite die gesamte Menge an BPA. Der LOD lag bei 0,012µg/L bzw. 0,04µg/L, die Empfindlichkeit der Messung war daher durchaus ausreichend (vgl. Kapitel 11). Konjugiertes BPA wurde zwischen < LOD und 13.9µg/L gemessen, mit einem Median bei 0.043. Vergleicht man diese Ergebnisse mit jenen in Tabelle 4.2.3.3, so bewegen sich diese im ungefähr selben Bereich. Die Konzentration von freiem BPA lag meist unter dem LOD. Es konnte kein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen der BPA Konzentration und der Inzidenz für Brustkrebs gefunden werden. Toxikologisch entscheidend ist aber die Menge an freiem BPA, da diese aber in den meisten Fällen nicht detektiert werden konnte, war es auch nicht möglich eine Korrelation zwischen freiem BPA und Brustkrebsinzidenz herzustellen. Der geographische Faktor könnte auch eine Rolle spielen, da in Korea eine wesentlich geringere Brustkrebsinzidenz (wenn auch stark steigende) besteht als in den westlichen Industrieländern und auch die BPA Exposition laut den Autoren wesentlich geringer ist. Die Autoren selbst wünschen sich Langzeitstudien mit einer höheren Stichprobenanzahl um falsch-negative Resultate zu vermeiden [Yang et al., 2009].

Wie bereits erwähnt, haben epidemiologische Studien den Nachteil, dass sie nur einen möglichen Zusammenhang ermitteln, nicht aber direkt den Wirkungsmechanismus (siehe dazu auch S.59ff.). Daher sind untenstehend *in vivo* und *in vitro* Studien angeführt, die nach der Wirkungsweise eines möglichen Zusammenhangs von BPA und dem Auftreten von Brustkrebs forschten.

Erk1/2 (*Extracellular-signal regulated kinases*) sind an einer Reihe intrazellulärer Prozesse wie Proliferation und Zelldifferenzierung beteiligt und dürften daher auch eine Rolle in der Karzinogenese spielen. Um den Einfluss von BPA auf die Erk 1/2 Kaskade zu testen, führten Dong et al. (2010) eine Zellstudie an Brustkrebszellen durch. Es wurden hier sowohl ER α/β positive Zellen wie auch ER α/β negative Zellen eingesetzt um einen möglichen ER unabhängigen Wirkungspfad zu überprüfen. BPA aktivierte sowohl in ER α/β positiven Zellen wie auch ER α/β negativen Zellen auf raschem Weg die Erk 1/2 Kaskade. Daher muss BPA diese Wirkung (auch) auf Wegen alternativ zu den klassischen ER erzielen. Die Autoren gehen davon aus, dass hier GPR-30 beteiligt ist. Die Studie zeigt einen der Wege über den BPA eine Rolle in der Karzinogenese spielen kann, und zwar den raschen, ER-unabhängigen Weg [Dong et al., 2010].

Ein möglicher Marker für den Einfluss von BPA auf das Brustkrebsrisiko könnte EZH2 darstellen, eine Histon-Lysin N-Methyltransferase, die mit Brustkrebs und der epigenetischen Regulation der Tumorgenese in Verbindung gebracht wird. Bei Vorhandensein eines Tumors in verschiedenen humanen Geweben wurde eine erhöhte Expression von EZH2 gefunden. Doherty et al. (2010) führten zu dieser Problemstellung eine *in vitro* und eine *in vivo* Studie durch. Für den Zellversuch wurden MCF-7F Zellen verwendet, für den Tierversuch CD-1 Mäuse. Die EZH2 mRNA Expression wurde mittels qRT-PCR (*quantitative real time polymerase chain reaction*), die EZH2 Protein Expression mittels Western Blot analysiert. Neben BPA wurde in derselben Studie auch die Wirkung von Diethylstilbestrol getestet und eine Kontrollgruppe geführt. Die Zellen wurden mit 5 verschiedenen Kon-

zentrationen BPA behandelt: 250 μ M, 25 μ M, 2,5 μ M, 0,25 μ M und 0,025 μ M. Die zwei niedrigsten Dosen führten zu keiner signifikanten Änderung der EZH2 Expression. Bei 2,5 μ M und 25 μ M wurde die Expression von EZH2 mehr als verdoppelt, 250 μ M war toxisch für die Zellen. Die EZH2 Protein-Expression wurde nur mit einer Dosis von 2,5 μ M BPA mit Western Blot untersucht, und resultierte in einer signifikant erhöhten EZH2 Proteinexpression im Vergleich zur Kontrollgruppe. Im Tierversuch wurden trächtigen CD-1 Mäusen zwischen dem 9. und 26. Gestationstag intraperitoneal 5mg /kg KG BPA pro Tag verabreicht, die weiblichen Nachkommen wurden im Alter von 6 Wochen getötet und untersucht. Diese Dosis führte zu keiner Änderung der EZH2 mRNA Expression im Vergleich zur Kontrollgruppe, rief aber eine signifikant erhöhte EZH2 Proteinexpression hervor; dieser Effekt hielt auch längerfristig an. Das deutet darauf hin, dass BPA diese Wirkung nicht durch erhöhte EZH2 mRNA Expression erzielt, sondern durch vermehrte Translation und/oder durch verminderte Proteindegeneration [Doherty et al., 2010].

Die Ergebnisse der Studien von Doherty et al. (2010) zeigen einen weiteren Mechanismus mit welchem BPA das Brustkrebsrisiko erhöhen könnte, wenn auch zu kritisieren ist, dass die Applikation im Tierversuch intraperitoneal erfolgte und damit nicht den real-physiologischen Gegebenheiten entspricht. Die Wiederholung dieser Tests mit oraler Verabreichung und einem weiterem Dosisspektrum in allen Versuchen wäre sinnvoll.

Zusammenhänge einer *in utero* Exposition an BPA und dem Brustkrebsrisiko

Die sich entwickelnde Brustdrüse dürfte, den Ergebnissen einiger *in vivo* Versuche zufolge, besonders anfällig für Einwirkungen von BPA bei pränataler Exposition sein. So entwickelten pränatal mit BPA exponierte CD-1 Mäuse eine duktale Hyperplasie [Murray et al., 2007]. Moral et al. (2008) zeigten bei pränatal exponierten

Mäusen eine veränderte Struktur der Milchdrüse. Jenkins et al. (2009) wiesen Effekte einer präpubertären Exposition mit BPA bei Sprague Dawley Ratten nach. BPA erhöhte die Anzahl von 7,12-Dimethylbenzanthracen (DMBA) induzierten Mamma-Karzinomen. DMBA wird üblicherweise verwendet um Tumore in der Brustdrüse zu induzieren, da es durch die relativ geringe Zahl an induzierten Tumoren, chemischen Substanzen erlaubt die Anzahl der Karzinome zu erhöhen. Die Ergebnisse von Jenkins et al. (2009) veranlassten Betancourt et al. (2010) ein ähnliche Wirkung durch *in utero* Exposition zu untersuchen. Dazu wurden Sprague-Dawley Ratten zunächst zwischen dem 10. und 21. Gestationstag 25µg oder 250µg BPA /kg KG pro Tag verabreicht. Die weiblichen Nachkommen erhielten am 50. postnatalen Tag einmalig 30mg DMBA /kg KG. Es wurden Körpergewicht, Vaginalöffnung und Sexualzyklus der drei Gruppen (25µg, 250µg, Kontrollgruppe) untersucht; es konnten keine Unterschiede zwischen den Gruppen aufgezeigt werden. Auch konnten keine Unterschiede zwischen den einzelnen Gruppen hinsichtlich Latenzzeit und Tumormultiplizität gefunden werden. Die Verabreichung von DMBA war am 50. Lebenstag erfolgt, da man diesen als optimalen Standardtag für die Induzierung von Brustkrebs in Sprague-Dawley Ratten annimmt. Die Arbeitsgruppe um Betancourt hatte allerdings in früheren Studien einen Unterschied in der Proteinexpression zwischen dem 100. und dem 50. postnatalen Tag beobachtet, wenn die Tiere pränatal hohen Dosen an BPA ausgesetzt waren. Auch in dieser Studie führten sie Untersuchungen dazu durch. Die Expression von ER α , PR-A (Progesteron Rezeptor A) und Bcl-2 (B-cell Lymphoma 2, ein anti-apoptotisches Protein) war am 50. Lebenstag im Vergleich zur Kontrollgruppe signifikant erniedrigt. Letztere beiden wurden analysiert, da sie als „*Down-stream Targets*“ von ER gelten. Die Expression dieser Proteine kann daher entscheidend für die Tumorgenese sein, da DMBA-induzierte Mamma-Karzinome in Ratten Östrogen-abhängig sind. Am 50. Lebenstag war die Expression von ER α und Bcl-2 signifikant erniedrigt, am 100. Lebenstag aber zeigte die Western Blot Analyse eine signifikant erhöhte Expression von ER α und Bcl-2 (im Vergleich zur Kontrollgruppe). Die Expression von PR-A war ebenfalls erhöht, aber nicht signifikant. Diesen Erkenntnis-

sen zufolge, wurde eine zweite Phase der Studie durchgeführt. In dieser wurde getestet, welche Auswirkungen auf die Tumorgenese und die Protein-Expression pränatale Gaben von BPA in Kombination mit einer DMBA-Gabe am 100. postnatalen Tag hat. Das heißt, es wurde den Muttertieren wieder zwischen dem 10. und 21. Gestationstag BPA verabreicht, allerdings in dieser zweiten Phase nur in einer Dosierung, nämlich der höheren Dosierung von 250µg/kg KG pro Tag; die weiblichen Jungtiere erhielten einmalig 30mg/kg KG DMBA am 100. Lebenstag. Die Tumorzinzidenz der Tiere, die *in utero* BPA erhalten hatten, war signifikant höher (83,3% im Vergleich zur Kontrollgruppe mit 53,6%), außerdem war die Latenzzeit signifikant verringert. Kein signifikanter Unterschied wurde bei der Tumormultiplizität gefunden [Betancourt et al., 2010].

Der zweite Teil der Studie wurde nur mit der höheren Dosierung durchgeführt, da hier schon in früheren Studien Unterschiede bei der Expression entscheidender Proteine gefunden wurden. Dennoch, auch die höhere Dosis von 250µg BPA /kg KG Tag liegt noch unter dem LOAEL von 50mg/kg KG, die Ergebnisse sind daher für eine neue Risikobewertung von BPA durchaus relevant.

5.9.2. Prostatakrebs

Prostatakrebs ist die am zweithäufigsten tödlich verlaufende Krebserkrankung in den USA [Hess-Wilson, 2009]. Keri et al. (2007) publizierten ein Experten-Panel zum karzinogenen Risiko von BPA, in dem auch das Risiko für Prostatakrebs evaluiert wurde. Die Autoren betonen in ihrem Panel zum Großteil Studien herangezogen zu haben, die Dosen verwendeten, die zu jenen zirkulierenden Konzentrationen an freiem BPA im Serum führen, die auch in Studien dazu gefunden wurden, das heißt, die sich im Bereich von 0.2 bis 20ng/ml [Welshons et al., 2006] bewegen. Die *in vivo* Studienergebnisse betreffend einen möglichen Zusammenhang der BPA Exposition und Prostatakrebs sind keineswegs einheitlich. Etliche zeigen

keine Veränderungen durch BPA Exposition [Tyl et al. 2002, Yoshino et al., 2002, Ashby et al., 1999], andere zeigen zwar eine Vergrößerung der Prostata durch BPA, es ist aber nicht klar, ob dieser Umstand auch die Tumoranfälligkeit erhöht. So zeigten Milman et al. (2002) an Nagern, dass eine Vergrößerung der Prostata durch BPA nicht in Zusammenhang mit einer anschließenden Tumorgenese steht. Andererseits bringen andere Studien BPA durchaus mit einer erhöhten Inzidenz für Prostatakrebs in Verbindung. So wiesen Timms et al. (2005) eine erhöhte Proliferationsrate im dorsolateralen Ductus und den basalen Epithelzellen der Prostata nach pränataler BPA Exposition von 10µg/kg KG pro Tag nach [Keri et al., 2007].

Kaufman und Vermeulen (2005) wiesen eine erhöhte Inzidenz und Schweregrad von intraepithelialen Neoplasien in der Prostata bei BPA Gaben von 10mg/kg KG pro Tag im Tierversuch an Ratten nach. Ziel der Studie von Ho et al. (2006) war es, zu ermitteln, ob niedrige, neonatale Dosen Estradiol oder BPA die Anfälligkeit der Prostata für präkanzeröse Läsionen und hormonale Kanzerogenese erhöhen. Dazu wurde Ratten neonatal einmalig 10µg/kg KG BPA verabreicht. Es wurden anhaltende Veränderungen der Methylierungsmuster der DNA von Genen, die für zelluläre Signale verantwortlich sind, gefunden. Eine epigenetische Wirkung von BPA kann daher nicht ausgeschlossen werden [Ho et al., 2006].

Ein klares „Ja“ oder „Nein“ ist also auch hier für das Risiko zufolge BPA nicht möglich, die Ergebnisse weiterer Studie sind abzuwarten.

5.9.3. Wechselwirkungen mit chemotherapeutischen Stoffen

5.9.3.1. *Chemotherapeutika in der Behandlung von Brustkrebs*

Die Hauptbehandlungsmethode für Brustkrebs ist Chemotherapie, alleine oder in Kombination mit Hormon- und Strahlentherapie. Dafür steht ein breites Spektrum an Chemotherapeutika zur Verfügung, u.a. Doxorubicin, Cisplatin und Vinblastin.

Als sehr problematisch erweisen sich Resistenzen von diversen Tumoren gegenüber Chemotherapeutika. Einige Tumore sind von sich aus resistent, andere entwickeln diese Resistenz erst durch eine Chemotherapie. Die Suche nach Substanzen, die dazu beitragen, ist daher eine wichtige Problemstellung in der Forschung. Wenn eine Chemotherapie ineffektiv bleibt, so kann das eine Reihe von Gründen haben, unter anderem spielen pro/anti-apoptotische Moleküle eine Rolle. Hierzu zählen die antiapoptotischen Proteine Bcl-2 und Bcl-xL und das pro-apoptotische Protein Bax. Die Verbindung zu BPA wird über seine Östrogen ähnliche Wirkung hergestellt. Estradiol könnte eine Rolle bei Initiation und Progression von Brustkrebs haben, aufgrund seiner Fähigkeit an die klassischen Östrogenrezeptoren ER α und ER β zu binden, sowie seiner Rolle als Mitogen. Seine antagonistische Wirkung auf die Zytotoxizität der Zytostatika Taxol und Doxorubicin wurde bereits in Studien gezeigt. LaPensee et al. (2009, 2010) haben mehrere Studien in dem Zusammenhang zwischen BPA und Chemotherapeutika durchgeführt. Annahme war unter anderem die mögliche Bindung von BPA (und auch Estradiol) an nicht klassische Östrogenrezeptoren wie GPR30 oder Mitglieder der ERR. Sie untersuchten in mehreren Studien die Wirkung von BPA in nanomolaren Dosen auf die Wirksamkeit der Chemotherapeutika Doxorubicin, Cisplatin und Vinblastin. Zwei dieser Studien werden untenstehend angeführt, eine Studie, deren Ergebnisse 2009 veröffentlicht wurde (hier Studie A benannt) und eine weitere, deren Veröffentlichung 2010 erfolgte (hier Studie B benannt).

Für die Studie A wurden T47D Zellen (ER α -positiv) und MDA-MB-468 (ER α -negativ) herangezogen. Den Zellen wurden die drei verschiedenen Zytostatika in verschiedenen Dosen zugesetzt. 24h davor war die Vorbehandlung mit 1nM BPA erfolgt. Einem Teil der Zellen wurde vor BPA-Zugabe zusätzlich ICI als Antagonist für ER α und ER β oder PHTPP als spezifischer ER β Antagonist zugesetzt. Die Identifikation potentieller Rezeptoren für BPA erfolgte durch RT-PCR. Die Expression von antiapoptotischen Proteinen wurde mittels Western Blot analysiert. Gegenstand der Untersuchung waren vier zentrale Themen:

- Analyse von niedrigen Dosen BPA (1nM) auf die zytotoxischen Eigenschaften von Doxorubicin, Cisplatin und Vinblastin in T47D Zellen (ER α -positiv) und MDA-MB-468 (ER α -negativ). Alle drei Cytostatika verursachten eine dosisabhängige Verminderung der Lebensfähigkeit beider Zelltypen. Die Zugabe von BPA verminderte die Wirkung von Cisplatin und Doxorubicin bzw. hob diese auf. Vinblastin betreffend konnte BPA dessen Wirkung nur in jenen Zellen vermindern in denen nur niedrige Konzentrationen von Vinblastin zugesetzt worden waren.
- Die Expression der alternativen Östrogenrezeptoren in den zwei Zelllinien (GPR30, ERR α , ERR β und ERR γ): die höchste Anzahl wurde an ERR α Rezeptoren gefunden, gefolgt von ERR β und GPR30. Das Verhältnis unter den genannten war in beiden Zelltypen ähnlich, T47D Zellen wiesen aber generell eine höhere Expression an alternativen ER auf. ERR γ wurden in keinem Fall gefunden.
- Einsatz von ER α - bzw. ER β -Antagonisten zur Evaluierung der Wirkungswege von BPA: weder der Zusatz von ICI noch der von PHTPP verminderte die Wirkung von BPA in den beiden Zelltypen. Daraus ist zu schließen, dass BPA auf alternativen Wegen zu den klassischen ER wirken muss.
- Die Expression der antiapoptotischen Proteine wurde durch Zugaben von BPA teilweise erhöht, in beiden Zelllinien erhöhte BPA die Expression von Bcl-2, eine Erhöhung der Expression von Bcl-xL durch BPA konnte nur in T47D Zellen nachgewiesen werden.

Diese Studie brachte erste Hinweise auf einen Beitrag, den BPA in nanomolaren Dosen zur Resistenz gegen Chemotherapeutika liefert und auf welche Weise BPA diese Wirkung ausübt [LaPensee et al., 2009].

Weitere Hinweise auf diesen Umstand lieferte die zweite Studie der WissenschaftlerInnengruppe um LaPensee. Studie B wurde zur Wechselwirkung von BPA und Cisplatin durchgeführt, mit Schwerpunkt auf Untersuchung der Wirkungsmecha-

nismen. Cisplatin ist ein besonders weit verbreitetes Zytostatikum. Es ist hoch aktiv gegen viele Krebsarten, allerdings weniger erfolgreich bei der Behandlung von Brustkrebs. Das Studiendesign war ähnlich dem der Studie A. Der Einfluss von niedrigen Dosen Estradiol bzw. BPA auf die von Cisplatin induzierten Veränderungen in der Überlebensfähigkeit, Proliferation und Zelltod von T47D Brustkrebszellen wurde untersucht. Außerdem wurde der Frage nachgegangen welchen Einfluss ein ER α bzw. ER β spezifischer Antagonist auf die protektive Wirkung von BPA bzw. Estradiol hat. Außerdem wurde wieder die Bedeutung pro-/antiapoptotischer Proteine in diesem Zusammenhang analysiert.

Cisplatin führte zu einer dosisabhängigen (60% in den höchsten Dosen) Reduktion der Lebensfähigkeit der Zellen. Die Vorbehandlung mit BPA oder E2 in 1 μ M Konzentration führte zu einer vollständigen Aufhebung der Wirkung von Cisplatin. Auch nanomolare Konzentrationen (0.01nM - 10nM) verringerten die Wirkung von Cisplatin. BPA und E2 verminderten somit die antiproliferierende Wirkung von Cisplatin. Darüber hinaus zeigte E2 alleine eine proliferierende Wirkung, BPA alleine aber nicht. Die apoptotische Wirkung von Cisplatin wurde ebenfalls von E2 und BPA aufgehoben, des Weiteren führte BPA alleine zu einer Steigerung der Anzahl der lebenden Zellen (von 69,2% auf 88,1%) während E2 diese Wirkung nicht zeigte. Zur Überprüfung an welche Rezeptoren E2 / BPA binden, wurden ICI als Antagonist für sowohl ER α als auch ER β , sowie PHTPP als spezifischer ER β -Antagonist eingesetzt. Die Zugabe der Antagonisten hatte keinen Einfluss auf die Wirksamkeit von E2 und BPA. Um die These, dass E2 und BPA unabhängig von ER α wirken, noch weiter zu bestärken, wurde der Versuch an ER α -negativen MDA-MB-468 Zellen wiederholt. Diese Zellen sprechen außerdem besonders stark auf Cisplatin an. Die Wirkung von Cisplatin wurde von BPA und E2 wiederum gänzlich / teilweise aufgehoben. Um die Unabhängigkeit von ER β nochmals zu testen, wurde siRNA (*small interfering RNA*) eingesetzt, die die Expression von ER β herunterreguliert. Wiederum bewirkten E2 und BPA eine Aufhebung der Wirkung von Cisplatin. Ergänzend gingen LaPensee et al. der Frage nach wie BPA

und E2 nun die Cisplatin-Wirkung konkret hemmen. Mittels MS wurde überprüft, ob BPA/E2 Cisplatin daran hindern an DNA zu binden, was nicht der Fall war. Im nächsten Schritt untersuchten sie den Einfluss von BPA, E2 und Cisplatin auf die Expression pro-/antiapoptotischer Proteine. Bcl-2 Expression wurde durch E2 und BPA unabhängig von der Zugabe von Cisplatin gesteigert, unverändert blieb die Expression von Bcl-xL und Bax [LaPensee et al., 2010].

Die Ergebnisse dieser zwei *in vitro* Studien sprechen dafür, dass BPA einen Einfluss auf Zytostatika ausüben kann und dies bereits in sehr geringen Dosen. Sie geben auch Hinweise darauf auf welchen Wirkungspfaden BPA diese Wirkung erzielen kann. Zur Absicherung dieser Ergebnisse wäre das Durchführen von weiteren (auch *in vivo*) Studien, die auch ein weiteres Dosispektrum beinhalten, notwendig.

5.9.3.2. Chemotherapeutika in der Behandlung von Prostatakrebs

Das Problem der Resistenzbildung betrifft natürlich nicht nur Brustkrebspatienten, sondern tritt ebenfalls bei diversen anderen Karzinomen, wie Prostatakrebs, auf. Beschränkt sich der Krebs nur auf das Organ selbst, sind die Heilungschancen zwar gut, invasive Tumore erweisen sich aber als höchst resistent gegenüber jeglichen zytotoxischen Maßnahmen. In diesem Fall wird oft die Androgen-Deprivations-Therapie (ADT) eingesetzt. ADT wurde entwickelt um die Funktion des Androgen-Rezeptors außer Kraft zu setzen. Der Androgenrezeptor (AR) ist ein Kernrezeptor und agiert als Liganden-abhängiger Transkriptionsfaktor. Die Therapieform ADT ist anfänglich sehr wirksam, allerdings entwickelt die Mehrheit der Patienten nach zwei bis drei Jahren ADT-resistente Tumoren, für die es keine adäquate Behandlung gibt. Die Suche nach Faktoren, die zu dieser Resistenzbildung beitragen, ist daher entscheidend für die Effektivitätssteigerung der Behandlung. Auf molekularer Ebene werden mehrere Mechanismen mit der Resistenzbil-

dung in Verbindung gebracht. So kann es nach einer ADT zu übermäßiger AR-Expression, Liganden-unabhängiger AR-Aktivierung oder vermehrter Expression von AR Co-Aktivatoren kommen. Die Suche nach Faktoren, die diesen Umstand auslösen, hat zur Untersuchung des Einflusses von EDCs auf diesen geführt, da nachgewiesen werden konnte, dass EDCs (und u.a., auch BPA) nach *in utero* Exposition zu einer Veränderung des Prostatagewichtes führen können. Gerade für BPA wurde eine in diesem Falle zellproliferierende und die Zellstruktur verändernde Wirkung nachgewiesen [11 Hess- Wilson, 2009]. Außerdem zeigten mehrere Studien, dass BPA in nanomolaren Dosen den nach einem Tumor mutierten AR aktivieren kann und AR-abhängige Proliferation der Krebszellen auslösen kann [Wetherill et al., 2002; Wetherill et al., 2005; Shah et al., 2008]. Die Resistenzbildung bei Prostatakrebs steht daher in direkter Verbindung mit der Reaktivierung des Androgenrezeptors.

Wetherill et al. (2006) zeigten, dass BPA die zelluläre Proliferationsrate und das Tumorstadium nach einer ADT steigern. Männlichen Mäusen wurden LNCaP Zellen injiziert. LNCaP Zellen eignen sich besonders zur Untersuchung der Resistenzbildung gegen die ADT. Es handelt sich um eine humane Prostatakrebszelllinie, die auch den mutierten AR-T8774 enthält, der auf BPA anspricht. Außerdem ist es der am häufigsten gefundene mutierte Rezeptor im fortgeschrittenen Stadium eines Prostata Tumors. Nachdem die dadurch entstandenen Tumore eine gewisse Größe erreicht hatten, wurden die Tiere kastriert und ein BPA Pellet implantiert, das über einen Zeitraum von 21 Tagen insgesamt 12,5mg BPA (bzw. ein Placebo) freisetzt. Diese Exposition führte zu Serumkonzentrationen von bis zu 27ng BPA/ml. Durch die Kastration sank der Androgenspiegel auf ein Minimum, dadurch sollte eine ADT simuliert werden. Ab dem 21. Tag nach der Kastration wurde ein signifikanter Unterschied im Tumorstadium zwischen jenen Tieren, die BPA erhalten hatten (größeres Tumorstadium), und der Kontrollgruppe gemessen. Zur Ursachenerforschung wurden Androgenrezeptorexpression, Proliferationsrate und Apoptoseraten analysiert. Die Androgenrezeptorexpression wurde in beiden Grup-

pen positiv detektiert, zwischen den zwei Gruppen konnte kein Unterschied hinsichtlich der Expression festgestellt werden. Wahrscheinlicher ist, dass BPA seine Wirkung aufgrund einer erhöhten Proliferationsrate erzielt, so war diese in der Interventionsgruppe mit 20% deutlich höher als in der Kontrollgruppe mit 12%. Kein Unterschied konnte hingegen hinsichtlich der Apoptoserate gefunden werden [Wetherill et al., 2005].

Auch an dieser Studie ist die Art der BPA Verabreichung zu kritisieren, da sie nicht oral erfolgte. Allerdings weisen die AutorInnen darauf hin, dass es durch die Applikation zu einer Serumkonzentration an BPA gekommen ist, die jener Konzentration entspricht, die auch in Humanstudien gefunden worden ist, wodurch die Ergebnisse für die Risikobewertung von BPA mehr als relevant werden.

5.10. Weitere Ergebnisse zur Reproduktionstoxizität

5.10.1. Verfrühte Geschlechtsreife bei Mädchen:

Ein sehr populärer Verdacht gegen BPA ist, dass es zur früheren Menarche führt. Eine der ersten Studien dazu führten Howdeshell et al. (1999) an Mäusen durch. Trächtige Tiere erhielten 2µg BPA pro kg KG. Der erzielte Effekt war von der Lage der Mäuse im Uterus abhängig, genauer gesagt von der Lagebeziehung zu den anderen Föten. Steroidhormone werden von einem Fetus zum anderen übertragen, daher hat die intrauterine Position Einfluss auf den fetalen Hormonspiegel. Bei weiblichen Mäusen, die intrauterin neben zwei anderen Weibchen gelegen waren, verkürzte die in utero Exposition mit BPA die Zeit zwischen Vaginalöffnung und dem ersten Östrus; dieser Umstand steht im positiven Zusammenhang mit der ersten postpubertalen Ovulation. Bei Weibchen, die intrauterin zwischen einem anderen Weibchen und einem Männchen bzw. zwei Männchen gelegen waren, wurde dieser Sachverhalt nicht beobachtet.

Homna et al. (2002) wiesen bei CD1-Mäusen eine verfrühte Geschlechtsreife durch in utero Exposition mit BPA nach. Den Müttern wurde 2µg bzw. 20µg/kg KG während der Gestation verabreicht, die höhere Dosierung führte bei den weiblichen Nachkommen zu einer signifikant früheren Vaginalöffnung und erstem Östrus. Die niedrigere verabreichte Dosis von 2µg/kg KG BPA zeigte keine Auswirkungen. Auf die Anzahl der Nachkommen pro Wurf hatten beide Dosierungen keinen Einfluss.

Ähnliche Ergebnisse brachte eine weitere Studie an CD1 Mäusen von Nikaido et al. (2004). Trächtigen Mäusen wurde 0,5mg bzw. 10mg BPA /kg KG verabreicht. Beide Dosierungen verlängerten die Dauer eines Zyklus signifikant, die höhere Dosierungen führte außerdem zu einer früheren Vaginalöffnung.

Auch wenn diese Ergebnisse recht eindeutig scheinen, muss erwähnt werden, dass neuere Ergebnisse zu einem positiven Zusammenhang zwischen der BPA Exposition und einer früheren Geschlechtsreife fehlen. Dennoch werden sie auch in populärwissenschaftlichen Medien immer wieder erwähnt, ein früheres Eintreten der Geschlechtsreife ist bei Mädchen auch zu beobachten, allerdings sollte mit der These, dass BPA hier die (alleinige) Ursache ist, sehr vorsichtig umgegangen werden. Weitere Studien, *in vivo* wie auch epidemiologische sind unbedingt notwendig.

5.10.2. Einfluss auf die Reproduktionsorgane

Nakamura et al. (2010) untersuchten in ihrer Studie die Mechanismen von BPA induzierter Reproduktionstoxizität, insbesondere die Senkung des Testosteronspiegels. Männlichen Ratten (Wistar/ST) wurden 6 Wochen lang subkutan BPA und Estradiol 17β (E2) verabreicht. Viermal in der Woche wurden den Ratten 20mg, 100mg, oder 200 mg/kg KG BPA verabreicht, das entspricht umgerechnet einer täglichen Dosis von 11.4mg, 57.1mg oder 114.2mg/kg KG BPA pro Tag. E2 wurde viermal pro Woche zu 10µg und 100µg/kg KG verabreicht. Die Kontrollgrup-

pe erhielt Maiskeimöl als Vehikel. 16h nach der letzten Dosis wurden die Tiere getötet, das Blut gesammelt und Organdissektion von Nebenhoden, Hoden, Samenblase und Prostata durchgeführt. Folgende Ergebnisse wurden erfasst:

- Körpergewicht und Organgewicht: alle E2 Dosen, aber nur die höchste Dosis BPA verringerten das Körpergewicht statistisch signifikant. BPA in höchster Dosis erniedrigte das Gewicht des Hodens, mittlere und hohe Dosen BPA reduzierten das Gewicht von Nebenhoden, Samenblase und Prostata. Besonders anfällig für BPA waren Samenblase und Prostata.
- Hormonspiegel: die höchste Dosis BPA erniedrigte den Testosteronspiegel im Plasma und im Hoden signifikant (E2 erreichte diese Wirkung in allen Dosen). BPA hatte keinen Einfluss auf den FSH- (Follikelstimulierendes Hormon)-Spiegel, der LH- (luteinisierendes Hormon) Plasmaspiegel wurde durch BPA in höchsten Dosen signifikant verringert. Beide Hormone sind in die Reifung der Geschlechtszellen involviert (bei beiden Geschlechtern).
 - Testosteronsynthese: die Testosteronsynthese aus Cholesterol erfolgt über mehrere Stufen, hierbei spielen eine Reihe von Faktoren eine Rolle, u.a. das „Steroidogenic-acute-regulatory protein“ (StAR), 3 β -HSD, P450_{scc}, P450_{17 α} . Nakamura et al. (2010) untersuchten die Expression der Enzyme und deren mRNA. Auf die Expression der PBR mRNA hatte BPA keinen Einfluss, hohe Dosen reduzierten aber die Expression der StAR mRNA. E2 wirkte ähnlich wie BPA, die toxische Wirkung war aber wesentlich stärker. In höchster Dosis reduzierte BPA die Expression der mRNA von P450_{17 α} . Noch stärker war die Wirkung auf 17 β -HSD mRNA; alle Dosen zeigten eine reduzierende Wirkung, in höchster Dosis halbierte BPA die Expression. Die höchste Dosis E2 reduzierte sie sogar auf ein Zehntel. Auf die mRNA Expression von Aromatase (dieses Enzym konvertiert Testosteron zu E2) hatten weder E2 noch BPA einen Einfluss. Die Untersuchung der Expression von StAR, P450_{scc}, P450_{17 α} und 17 β -HSD kam zu einem ähnlichem Ergebnis und durch deren signifi-

kanter Verringerung unter BPA und E2 Einfluss wurde die hemmende Wirkung auf die Androgensynthese bestätigt.

- Östrogenrezeptoren: E2 und BPA reduzierten die Expression von ER α in den Testes. Mittels immunohistochemischer Analyse wurde deren genaue Lokalisation untersucht. ER α Expression wurde in den Leydig Zellen, den Sertoli Zellen und den Spermatozyden gefunden. BPA verringerte die Zahl der Leydig Zellen mit ER α , hatte aber keinen Einfluss auf ER α beinhaltende Sertoli Zellen und Spermatozyten [Nakamura et al., 2010].

Die Studie zeigt negative Effekte von BPA auf den männlichen Reproduktionsapparat. Das äußert sich in erniedrigtem Testosteronspiegel und daraus resultierendem reduziertem Gewicht; besonders betroffen sind die stark Androgen-abhängigen Organe Prostata und Samenblase. Die genauen Wirkungsmechanismen wurden durch die Analyse der Expression von an der Testosteronsynthese beteiligten Rezeptoren und Enzymen erklärt. Mit den Ergebnissen dieser Studie wurde zwar eine Erklärung der Wirkungsweise von BPA auf die Testosteronsynthese gefunden, eine toxikologische Bewertung kann durch die Studie aber nicht getroffen werden. Diese Tatsache wird auch durch die subkutane Verabreichung von BPA unterstützt.

Spermatogenese

Die Tatsache, dass Tierversuche einen negativen Einfluss von BPA auf die Spermatogenese zeigen, es aber an Humanstudien dazu mangelt, veranlasste Meeker et al. (2010) zu einer Studie an 190 Männern, die eine Infertilitätsklinik in den USA besuchten. Es wurde der Zusammenhang der BPA Konzentration im Urin und der Samenqualität und DNA-Schäden untersucht. BPA wurde in 89% der Proben gefunden, der Median betrug 1,3ng/ml, der Mittelwert 1,4ng/ml. Die Probanden hatten daher im Vergleich zu in anderen Studien detektierten Konzentrationen, relativ geringe BPA Konzentrationen im Urin (siehe dazu auch Tabelle 4.2.3.1 und Tabelle 4.2.3.2). Es konnten schwache, statistisch aber nicht signifikante, negative Kor-

relationen zwischen der BPA Konzentration im Urin und der Anzahl, der Beweglichkeit und Struktur der Spermien festgestellt werden [Meeker et al., 2010].

Auch wenn kein statistisch signifikanter Zusammenhang gefunden wurde, sollte dieses Kapitel in der Risikobewertung von BPA noch nicht als abgeschlossen betrachtet werden. Weitere Studien sind hier auf jeden Fall nötig, da auch die detektierten BPA Konzentrationen im Urin dieser Studie relativ gering waren und daher eventuell auf die Gesamtbevölkerung übertragen werden können.

6. Schlussbetrachtung

Die Frage ob BPA nun eine Gefahr für den Mensch darstelle, ist zum jetzigen Zeitpunkt nicht mit "JA" oder "NEIN" zu beantworten. Bei bestimmten Teilaspekten der Problematik ist der Stand der Wissenschaft aber durchaus eindeutig. Allen voran die unbestreitbare Tatsache, dass der Mensch durch seine Umwelt BPA ausgesetzt ist und dieses auch aufnimmt. Außerdem kann man davon ausgehen, dass BPA in seiner freien Form ein schädigendes Potential für gewisse Bereiche des menschlichen Organismus hat. Diese zwei Tatsachen könnten einen dazu veranlassen, BPA als eindeutig gesundheitsgefährdend zu beurteilen, eine derartige Schlussfolgerung ist aber nicht korrekt, denn der menschliche Körper kann BPA (zumindest einen Teil der aufgenommenen Menge) in der Leber detoxifizieren. Es bleibt daher die Frage nach der Menge an freiem BPA, die tatsächlich im menschlichen Körper zirkuliert. Zur Beantwortung dieser Frage bedarf es weiterer Humanstudien, in denen der Gehalt an freiem BPA in menschlichen Körperflüssigkeiten und –Gewebe mit hochempfindlichen Detektionsmethoden analysiert wird.

7. Zusammenfassung

Bisphenol A (BPA) ist eine chemische Substanz, die in der Industrie in großem Ausmaß eingesetzt wird. Für den Lebensmittelsektor relevant ist BPA als Grundbestandteil von Polycarbonat und als Epoxidharz in der Verpackung von Lebensmitteln. Bei Degradation des Materials wird BPA freigesetzt und gelangt in das Lebensmittel. BPA steht im Verdacht diverse schädigende Effekte auf den menschlichen Körper auszuüben und zwar in Konzentrationen, die teilweise unter dem Richtwert von $50\mu\text{g}/\text{kg}$ Körpergewicht pro Tag liegen. Dieser Referenzwert wurde durch die europäische Sicherheitsagentur (European Food Safety Agency EFSA) und die US-amerikanische Sicherheitsagentur (US Food and Drug Administration FDA) herausgegeben. Grundsätzlich vertraten die Sicherheitsagenturen lange die Meinung, dass keine Gefahr für den Menschen von einer BPA Exposition ausgehe. Die kanadische Sicherheitsagentur (Health Canada) und neuerdings auch die FDA zeigen sich mittlerweile vorsichtiger, wenn es um die Risikobewertung von BPA geht und planen mehrere Maßnahmen um die BPA Exposition des Menschen zu verringern, da eine Reihe von wissenschaftlichen Studien gesundheitsgefährdende Wirkungen von BPA gezeigt hat. Das Ziel dieser Arbeit war es, der Frage nach dem aktuellen Forschungsstand zur Risikobewertung von BPA nachzugehen. Im menschlichen Organismus wird BPA nach oraler Aufnahme zum größten Teil in der Leber konjugiert und damit unschädlich gemacht. Allerdings wurden in menschlichen Körperflüssigkeiten und –Geweben auch Mengen an freiem und daher aktivem BPA gefunden, wobei die Ursachen hierfür nicht gänzlich geklärt sind. In seiner aktiven Form übt BPA im menschlichen Körper die Funktion eines endokrinen Disruptors aus, indem es in den Hormonhaushalt eingreift. Über die klassischen und alternativen Östrogenrezeptoren imitiert BPA eine östrogenähnliche Wirkung, dazu reichen teilweise bereits sehr geringe Dosierungen im nanomolaren Bereich. Mit diesem Mechanismus kann BPA z.B. den Glucosemetabolismus und den Fettstoffwechsel aus dem natürlichen Gleichgewicht bringen und die Wirksamkeit von Chemotherapeutika vermindern. Weniger eindeutig ist u.a. der Zusam-

menhang der BPA Exposition und der Inzidenz für Herz-Kreislaufkrankungen. Es ist daher zum heutigen Zeitpunkt nicht auszuschließen, dass von BPA ein Risiko für die Gesundheit des Menschen ausgeht, die Untersuchungen zu dieser Thematik sind aber keineswegs abgeschlossen.

8. Summary

The chemical Bisphenol A (BPA) is extensively used to make polycarbonate plastic and epoxy resins for food packaging and beverage containers. Due to the decay of plastics, BPA is released into food items. Recent results suggest that BPA may have detrimental effects on human health, even if ingested at doses smaller than 50µg/kg body weight, the reference dose set by the European Food Safety Agency (EFSA) and the US Food and Drug Administration (FDA). Based on these findings, this maximum permissible value has been subject to debate. Safety agencies consider the limited intake of BPA as safe, although the Canadian safety agency (Health Canada) and more recently, even the FDA itself tend to be more cautious concerning this topic, since a number of scientific studies have proved BPA to be harmful to human health. In humans, BPA is usually metabolized rapidly after oral intake by forming the BPA glucuronid, which is inactive in the human body. However, unconjugated and therefore active BPA has been detected in human body fluids and tissues as well although the amount of free BPA circulating in the human body is currently not known, as only a few surveys have analyzed free (unconjugated) BPA separately. Therefore more research into free BPA in human body fluids and tissue with very sensitive methods of detection is needed. Free BPA acts like an endocrine disruptor and mimics hormones, especially estrogen, by binding classical and non classical estrogen receptors. In some cases BPA follows a non-monotonic dose-response relationship and therefore elicits its effects already at very low doses in nanomolar range. Following the mechanism of an endocrine disrupter, BPA interferes with glucose and lipid metabolism and decreases the efficacy of several chemotherapeutics. Further ailments like coronary heart diseases and several types of cancer have also been associated with BPA exposure although the scientific evidence substantiating these effects is not convincing. Based on these findings BPA may be considered as a risk to human health, however, due to inconsistencies regarding several effects, additional research is needed.

9. Literaturverzeichnis

ASHBY J, TINWELL H, HASEMAN J. Lack of effects for low dose levels of bisphenol A and diethylstilbestrol on the prostate gland of CF1 mice exposed in utero. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 1999; 30: 156-166.

ALONSO-MAGDALENA P, ROPERO AB, CARRERA MP, CEDERROTH CR, BAQUI M, GAUTHIER BR, NEF S, STEFANI E, NADAL A. Pancreatic Insulin Content Regulation by the Estrogen Receptor ER α . *PLoS ONE*. 2008; 3: e2069.

ALONSO-MAGDALENA P, MORIMOTO S, RIPOLI C, FUENTES E, NADAL A. The Estrogenic Effect of Bisphenol A Disrupts Pancreatic beta-Cell Function in Vivo and Induces Insulin Resistance. *Environmental Health Perspectives* 2006; 114:106-112.

ALONSO-MAGDALENA P, VIEIRA E, SORIANO S, MENES L, BURKS D, QUESADA I, NADAL A. Bisphenol- A Exposure during Pregnancy Disrupts Glucose Homeostasis in Mothers and Adult Male Offspring. *Environmental Health Perspectives* 2010; 118:1243-50.

BALLASTEROZ-GOMEZ A, RUBIO S, PEREZ-BENDITO D. Analytical methods for the determination of bisphenol A in food. *Journal of Chromatography* 2009; 1212:449-469.

BECKER K, GÜEN T, SEIWERT M, CONRAD A, PICK-FUSS H, MULLER J. GERES IV: Phthalate metabolites and bisphenol A in urine of German children. *International Journal of Hygiene and Environmental Health* 2009; 212(6):685-692.

BEN-JONATHAN N, HUGO ER, BRANDENBOURG TD. Effects of bisphenol A on adipokine release from human adipose tissue: Implications for the metabolic syndrome. *Molecular and Cellular Endocrinology* 2009; 304: 49-54.

BERONIUS A, RUDEN C, HANBERG A, HAKANSON H. Health risk assessment procedures for endocrine disrupting compounds within different regulatory frame-

works in the European Union. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 2009; 55: 111-122.

BETANCOURT AM, ELTOUM IA, DESMOND RA, RUSSO J, LARMARTINIERE CA. In Utero Exposure to Bisphenol A Shifts the Window of Susceptibility for Mammary Carcinogenesis in the Rat. *Environmental Health Perspectives* 2010; 118: 1614-1619.

CAGEN SZ, WAECHTER JM, DIMON SS. Normal reproductive organ development in Wistar rats exposed to bisphenol A in the drinking water. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 1999; 30:130–139.

CALAFAT AM, KUKLENYIK Z, REIDY JA, CAUDILL, EKONG J, NEEDHAM LL. Urinary Concentrations of Bisphenol A and 4 Nonylphenol in a Human Reference Population. *Environmental Health Perspectives* 2005; 113: 391-395.

CALAFAT AM, WEUVE J, YE X, JIA LT, HU H, RINGER S. Exposure to bisphenol A and other phenols in neonatal intensive care unit premature infants. *Environmental Health Perspectives* 2009; 117: 639-644.

CALAFAT AM, YE X, WONG LY, REIDY JA, NEEDHAM JL. Exposure of the U.S. population to bisphenol A and 4-tertiary-octylphenol: 2003-2004. *Environmental Health Perspectives* 2008; 116: 39- 44.

CARWILE JL, LUU HT, BASSETT LS, DRISCOLL DA, YUAN C, CHANG JY, YE X, CALAFAT AM, MICHELS KB. Polycarbonate Bottle Use and Urinary Bisphenol A Concentrations. *Environmental Health Perspectives* 2009; 117: 1368-1372.

CUNHA CS, FERNANDES JO. Quantification of free and total bisphenol A and bisphenol B in human urine by dispersive liquid–liquid microextraction (DLLME) and heart-cutting multidimensional gas chromatography–mass spectrometry (MD–GC/MS). *Talanta* 2010; 83: 117-125.

DIEPENS M, GIJSMAN P. Photodegradation of bisphenol A polycarbonate with different types of stabilizers. *Polymer Degradation and Stability* 2010; 95: 811-817.

DIRTU AC, ROOSENS L, GEENS T, GHEORGHE A, NEELS H, COVACI A. Simultaneous determination of bisphenol A, triclosan, and tetrabromobisphenol A in human serum using solid-phase extraction and gas chromatography-electron capture negative-ionization mass spectrometry. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 2008; 391: 1175-1181.

DOHERTY LF, BROMER JG, ZHOU Y, ALDAD TS, TAYLOR HS. In Utero Exposure to Diethylstilbestrol (DES) or Bisphenol-A (BPA) Increases EZH2 Expression in the Mammary Gland: An Epigenetic Mechanism Linking Endocrine Disruptors to Breast Cancer. *Hormones and Cancer* 2010; 1:146–155.

DOMORADZKI JY, POTTENGER LH, THORNTON CM, HANSEN SC, CARD TL, MARKHAM DA. Metabolism and pharmacokinetics of bisphenol A (BPA) and the embryo-fetal distribution of BPA and BPA-mono-glucuronide in CD Sprague-Dawley rats at three gestational stages. *Toxicological Sciences* 2003; 76:21-34.

DONG S, TERASAKA S, KIYAMA R. Bisphenol A induces a rapid activation of Erk1/2 through GPR30 in human breast cancer cells. *Environmental Pollution* 2011; 159: 212-218.

GARCIA-PRETO A, LUNAR ML, RUBIO S, PEREZ-BENDITO D. Determination of urinary bisphenol A by coextractive microextraction and liquid chromatography-fluorescence detection. *Analytica Chimica Acta* 2008; 630: 19-27.

GEENS T, ROOSENS L, NEELS H, COVACI A. Assessment of human exposure to Bisphenol-A, Triclosan and Tetrabromobisphenol-A through indoor dust intake in Belgium. *Chemosphere* 2009;76: 755-760.

GINSBERG G, RICE D C. Does Rapid Metabolism Ensure Negligible Risk from Bisphenol A? *Environmental Health Perspectives* 2009; 117: 1639-1643.

GRAY GM, COHEN JT, CUNHA G. Weight of the evidence evaluation of low-dose reproductive and developmental effects of bisphenol A. *Human and Ecological Risk Assessment* 2004; 10:875–921.

GUPTA C. Reproductive malformation of the male offspring following maternal exposure to estrogenic chemicals. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine* 2000; 224:61–68

HE Y, MIAO M, HERRINTON LJ, WU C, YUAN W, ZHOU Z. Bisphenol A levels in blood and urine in a Chinese population and the personal factors affecting the levels. *Environmental Research* 2009; 109(5): 629-633.

HESS-WILSON JK. Bisphenol A may reduce the efficacy of androgen deprivation therapy in prostate cancer. *Cancer Causes Control* 2009; 20: 1029-1037.

HO SH, TANG WY, BELMONTE DE, FRAUSTO J, PRINS GS. Developmental Exposure to Estradiol and Bisphenol A Increases Susceptibility to Prostate Carcinogenesis and Epigenetically Regulates Phosphodiesterase Type 4 Variant 4. *Cancer Research* 2006; 66: 5624-5632.

HOMNA S, SUZUKO A, BUCHANAN DL, KATSU Y, WATANABE H, IGUCHI T. Low dose effect of in utero exposure to bisphenol A and diethylstilbestrol on female mouse reproduction. *Reproductive Toxicology* 2002; 16: 117–122.

HOWDESHELL KL, HOTCHKISS AK, THAYER KA, VANDENBERGH JG, VOM SAAL FS. Exposure to bisphenol A advances puberty. *Nature* 1999; 399: 569–572.

HUGO ER, BRANDENBOURG TD, WOO JG, LOFTUS J, ALEXANDER JW, BENJONATHAN N. Bisphenol A at Environmentally Relevant Doses Inhibits Adiponectin Release from Human Adipose Tissue Explants and Adipocytes. *Environmental Health Perspectives* 2008; 116: 1642-1647.

IKEZUKI Y, TSUTSUMI O, TAKAI Y, KAMEI Y, TAKETANI Y. Determination of bisphenol A concentrations in human biological fluids reveals significant early prenatal exposure. *Human Reproduction* 2002; 17:2839–41

JENKINS S, RAGHURAMAN N, ELTOUM I, CARPENTER M, RUSSO J, LAMARTINIERE CA. Oral exposure to bisphenol A increases chemically-induced mammary cancer in rats. *Environmental Health Perspectives* 2009; 117:910–915.

KADDAR N, BENDRIDI N, HARTHE C, ROLLAND DE RAVEL M, BIENVENU A-L, CUILLIERON C-Y. Development of a radioimmunoassay for the measurement of Bisphenol A in biological samples. *Analytica Chimica Acta* 2009; 645: 1-4.

KATAYAMA M, MATSUDA Y, SHIMOKAWA KI, ISHIKAWA H, KANEKO S. Preliminary monitoring of bisphenol A and nonylphenol in human semen by sensitive high performance liquid chromatography and capillary electrophoresis after proteinase K digestion. *Analytical Letters* 2003; 36:2659–2667.

KAUFMAN JM, VERMEULEN A. The decline of androgen levels in elderly men and its clinical and therapeutic implications. *Endocrine Reviews* 2005; 26: 833–876.

KAWAGUICHI M, SAKUI N, OKANOUCI N, ITO R, SAITO K, IZUMI SI. Stir bar sorptive extraction with in situ derivatization and thermal desorption-gas chromatography-mass spectrometry for measurement of phenolic xenoestrogens in human urine samples. *Journal of Chromatography B* 2005; 820: 49-57.

KERI RK, HO SM, HUNT PA, KNUDSON KE, SOTO AM, PRINS GS. An evaluation of evidence for the carcinogenic activity of bisphenol A. *Reproductive Toxicology* 2007; 24: 240-252.

KIDANI T, KAMEI S, AIZAWA J, SAKAYAMA K, MASUNO H. Bisphenol A Down-regulates Akt Signaling and Inhibits Adiponectin Production and Secretion in 3T3-L1 Adipocytes. *Journal of Atherosclerosis and Thrombosis* 2010; 17: 834-843.

KIM YH, KIM C-S, PARK S, HAN SY, PYO MY, YANG M. Gender differences in the levels of bisphenol A metabolites in urine. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 2008; 312: 441-448.

KRISHNAN K, GAGNE M, NONG A, ALYWARD LL, HAYS SM. Biomonitoring Equivalents for bisphenol A (BPA). *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 2010; 55: 249-258.

KURODA N, KINOSHITA Y, SUN Y, WADA M, KISHIKAWA N, NAKASHIMA K. Measurement of bisphenol A levels in human blood serum and ascitic fluid by HPLC using a fluorescent labeling reagent. *Journal Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 2003; 30: 1743-1749.

KURUTO-NIWA R, TATEOKA Y, USUKI Y, NOZAWA R. Measurement of bisphenol A concentrations in human colostrum. *Chemosphere* 2007; 66: 1160-1164.

LAPENSEE E W, TUTTLE T R; FOX S R, BEN-JONATHAN N. Bisphenol A at Low Nanomolar Doses Confers Chemoresistance in Estrogen Receptor α -Positive and-Negative Breast Cancer Cells. *Environmental Health Perspectives* 2009; 117: 175-180.

LAPENSEE EW, LAPENSEE CR, FOX S, SCHWEMBERGER S, AFTON S, BEN-JONATHAN N. Bisphenol A and estradiol are equipotent in antagonizing cisplatin-induced cytotoxicity in breast cancer cells. *Cancer Letters* 2010; 290: 167-173.

LAKIND JS, NAIMAN DQ. Daily intake of bisphenol A and potential sources of exposure: 2005–2006 National Health and Nutrition Examination Survey. *Journal of Exposure Science and Environmental Epidemiology* 2010; 1–8.

Lee YJ, RYZ H-Y, KIM H-K, MIN CS, LEE JH, KIM E. Maternal and fetal exposure to bisphenol A in Korea. *Reproductive Toxicology* 2008; 25: 413-419.

LIEHR JG. Is estradiol a genotoxic mutagenic carcinogen? *Endocrine Reviews* 2000; 21:40–54.

LIU M, HASHI Y, PAN F, YAO J, SONG G, LIN JM. Automated on-line liquid chromatography- photodiode array-mass spectrometry method with dilution line for the determination of bisphenol A and 4-octylphenol in serum. *Journal of Chromatography A* 2007; 1133: 142-148.

LIU Z, WOLFF MS, MOLINE J. Analysis of environmental biomarkers in urine using an electrochemical detector. *Journal of Chromatography B* 2005; 819: 155-159.

MAIA J, CRUZ JM, SENDON R, BUSTOS J, CIRUGEDA ME, SANCHEZ JJ, PASEIRO P. Effect of amines in the releases of bisphenol A from polycarbonate baby bottles. *Food Research International* 2010; 43: 1283-1288.

MAIA J, CRUZ JM, SENDON R, BUSTOS J, SANCHEZ JJ, PASEIRO P. Effect of detergents in the release of bisphenol A from polycarbonate bottles. *Food Research International* 2009; 42: 1410-1414.

MEDLOCK KL, LYTTLE CR, KELEPOURIS N, NEWMAN ED, SHEEHAN DM. Estradiol down-regulation of the rat uterine estrogen receptor. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine* 1991: 196:292–300.

MEEKER JD, EHRLICH S, TOTH TL, DIANE LW, CALAFAT AM, TRISINI AT, YE X, HAUSER R. Semen quality and sperm DNA damage in relation to urinary bisphenol A among men from an infertility clinic. *Reproductive Toxicology* 2010; 30: 532-539.

MELNICK R, LUCIER G, WOLFE M, HALL R, STANCEL G, PRINS G, GALLO M, REUHL K, HO SM, BROWN T, MOORE J, JULIAN L, HASEMAN J, KOHN M. Summary of the National Toxicology Program's Report of the Endocrine Disruptors Low-Dose Peer Review. *Environmental Health Perspectives* 2002; 110: 427-431.

MELZER D, RICE NE, LEWIS C, HENLEY WE, GALLOWAY TS. Association of Urinary Bisphenol A Concentration with Heart Disease: Evidence from NHANES 2003/06. *PLoS ONE* 2010; 5: 1-9.

MILMAN HA, BOSLAND MC, WALDEN PD, HEINZE JE. Evaluation of the adequacy of published studies of low-dose effects of bisphenol A on the rodent prostate for use in human risk assessment. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 2002; 35: 338-346.

MIYAWAKI J, SAKAYAMA K, KATO H, YAMAMOTO H, MASUNO H. Perinatal and Postnatal Exposure to Bisphenol A Increases Adipose Tissue Mass and Serum Cholesterol Level in Mice. *Journal of Atherosclerosis and Thrombosis* 2007; 14: 245-252.

MORAL R, WANG R, RUSSO ICH, LARMATINIERE CA, PEREIRA J, RUSSO J. Effect of prenatal exposure to the endocrine disruptor bisphenol A on mammary gland morphology and gene expression signature. *Journal of Endocrinology* 2008; 196:101–112.

MORIYAMA K, TAGAMI T, AKAMIZU T, USUI T, SAIJO M. Thyroid Hormone Action Is Disrupted by Bisphenol A as an Antagonist. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 2002; 87: 5185-5190.

MURRAY TJ, MAFFINI MV, UCCI AA, SONNENSCHHEIN C, SOTO AM. Induction of mammary gland ductal hyperplasias and carcinoma in situ following fetal bisphenol A exposure. *Reproductive Toxicology* 2007; 23:383–390.

NAGEL SC, VOM SAAL FS, THAYER KA, DHAR MG, BOECHLER M, WELSHONS WV. Relative binding affinity- serum modified access (RBA-SMA) assay predicts the relative in vivo bioactivity of the xenoestrogens bisphenol A and octylphenol. *Environmental Health Perspectives* 1997; 105: 70–76.

NAKAMURA D, YANAGIBA Y, DUAN Z, ITO Y, OKAMURA A, NOBUYUKI A, TAGAWA Y, LI CH, TAYA K, THANG SH, HISAO N, RAMDHAN DH, KAMIJIMA M, NAKAJIMA T. Bisphenol A may cause testosterone reduction by adversely affecting both testis and pituitary systems similar to estradiol. *Toxicology Letters* 2010; 194: 16-25.

National Toxicology Program (NTP). Carcinogenesis Bioassay of Bisphenol A (CAS No. 80-05-7) in F344 Rats and B6C3F1 Mice (Feed Study). Technical Report 1982; No TR- 215.

NIKAIDO Y, YOSHIZAWA K, DANBARA N, KYOTUKO MT, YURI T, UEHARA N, TSUBURA A. Effects of maternal xenoestrogen exposure on development of the reproductive tract and mammary gland in female CD-1 mouse offspring. *Reproductive Toxicology* 2004; 18: 803–811.

OTAKA H, YASUHARA A, MORITA M. Determination of bisphenol A and 4-nonylphenol in human milk using alkaline digestion and cleanup by solid-phase extraction. *Analytical Sciences* 2003; 19: 1663-1666.

PADMANABHAN V, SIEFERT K, RANSOM S, JOHNSON T, PINKERTO J, ANDERSON L. Maternal bisphenol-A levels at delivery: a looming problem? *Journal of Perinatology* 2008; 28: 258-263.

QUITMEYER A, ROBERTS R. Babies, bottles, and bisphenol A: The story of a scientist- mother. *PLoS Biol* 2007; 5: 1399-1402.

RICHARD K, HUME R, KAPTEIN E, STANLEY EL, VISSER TJ, COUGHTRIE MW. Sulfation of thyroid hormone and dopamine during human development: ontogeny of phenol sulfotransferases and arylsulfatase in liver, lung, and brain. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 2001; 86: 2734–2742.

RUDEL RA, CAMANN DE, SPENGLER JD, KORN LR, BRODY JG. Phthalates, alkylphenols, pesticides, polybrominated diphenyl ethers, and other endocrine-disrupting compounds in indoor air and dust. *Environmental Science & Technology* 2003; 37: 4543– 4553.

SCHÖNFELDER G, WITTFOHT W, HOPP H, TALSNESS CE, PAUL M, CHAHOUD I. Parent bisphenol A accumulation in the human maternal–fetal–placental unit. *Environmental Health Perspectives* 2002; 110:A703–A707.

SCHÖRINGHUMER K, CICHNA-MARKL M. Sample clean-up with sol-gel enzyme and immunoaffinity columns for the determination of bisphenol A in urine. *Journal of Chromatography B* 2007; 850: 361-369.

SHAH S, HESS- WILSON JK, WEBB S, DALY H, GODOY-TUNDIDOR S, KIM J, BOLDISON J, DAKA Y, KNUDSEN KA. 2,2- Bisphenol (4-Chlorophenyl-) 1,1-Dichlorethylene Stimulates Androgen Independence in Prostate Cancer Cells through Combinatorial Activation of Mutant Androgen Receptor and Mitogen - Activated Protein Kinase Pathways. *Molecular Cancer Research* 2008; 6: 1507-1520.

SHEEHAN DM, VOM SAAL FS. Low dose effects of hormones: a challenge for risk assessment. *Risk Policy Report* 1997; 4:31–39.

SONNENSCHHEIN C, OLEA N, PASANEN ME, SOTO AM. Negative controls of cell proliferation: human prostate cancer cells and androgens. *Cancer Research* 1989; 49:3474 –3481.

SUGIURA-OGASWARA M, OZAKI Y, SONTA, MAKINO T, SUTUMORI K. Exposure to bisphenol A is associated with recurrent miscarriage. *Human Reproduction* 2005; 20: 2325-2329.

SUN Y, IRIE M, KISHIKAWA N, WADA M, KURODA N, NAKASHIMA K. Determination of bisphenol A in human breast milk by HPLC with column-switching and fluorescence detection. *Biomedical Chromatography* 2004;18: 501-507.

TAKAHASHI O, OISHI S. Disposition of orally administered 2,2-bis(4-hydroxyphenyl)propane (bisphenol A) in pregnant rats and the placental transfer to fetuses. *Environmental Health Perspectives* 2000; 108:931–935.

TAKEUCHI T, TSUTSUMI O, NAKAMURA N, IKEZUKI Y, TAKAI Y, YANO T. Gender difference in serum bisphenol A levels may be caused by liver UDP-glucuronosyltransferase activity in rats. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 2004; 325:549–554.

TALSNESS CE, ANDRADE JM, KURIYAM SN, TAYLOR JA, VOM SAAL FS. Components of plastic: experimental studies in animals and relevance for human health. *Philosophical Transactions of the Royal Society* 2009; 364: 2079-2096.

TAN BLL, MOHD AM. Analysis of selected pesticides and alkylphenols in human cord blood by gas chromatograph-mass spectrometer. *Talanta* 2003;61: 385-391.

THOMAS P, DONG J. Binding and activation of the seven-transmembrane estrogen receptor GPR30 by environmental estrogens: A potential novel mechanism of endocrine disruption. *Journal of Steroid Biochemistry & Molecular Biology* 2006; 102: 175-179.

TIBBETTS TA, MENDOZA-MENESES M, O'MALLEY BW, CONNEELY OM. Mutual and intercompartmental regulation of estrogen receptor and progesterone receptor expression in the mouse uterus. *Biology of Reproduction* 1998; 59:1143–1152.

TIMMS BG, HOWDESHELL KL, BARTON L, BRADLEY S, RICHTER CA, VOM SAAL FS. Estrogenic chemicals in plastic and oral contraceptives disrupt develop-

ment of the fetal mouse prostate and urethra. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 2005; 102: 7014–7019.

TYL RW, MYERS CB, MARR MC, THOMAS BF, KEIMOWITZ AR, BRINE DR, VESELICA MM, FAIL PA, CHANG TY, SEELY JC, JOINER RL, BUTALA JH, DIMON SS, CAGEN SZ, SHIOTSUKA RN, STROPP GD, WAECHTER JM. Three-generation reproductive toxicity study of dietary bisphenol A in CD Sprague-Dawley rats. *Toxicological Sciences* 2002; 68: 121–146.

VANDENBERG L N, HAUSER R, MARCUS M, OLEA N, WELSHONS W V. Human exposure to bisphenol A (BPA). *Reproductive Toxicology* 2007; 24:139-177.

VANDENBERG LN, CHAHOUD I, HEINDEL JJ, PADMANABHAN V, PAUMGARTTEN FJR, SCHOENFELDER G. Urinary, Circulating and Tissue Biomonitoring Studies Indicate Widespread Exposure to Bisphenol A. *Environmental Health Perspectives* 2010; 118: 1055- 1070.

VANDENBERG LN, CHAHOUD I, PADMANABHAN V, PAUMGARTTEN FJR, SCHOENFELDER G. Biomonitoring Studies Should be Used by Regulatory Agencies to Assess Human Exposure Levels and Safety of Bisphenol A. *Environmental Health Perspectives* 2010; 118: 151-154.

VANDENBERG LN, MAFFINI MV, SONNENSCHNEIN C, RUBIN BS, SOTO AM. Bisphenol- A and the Great Divide: A Review of Controversies in the Field of Endocrine Disruption. *Endocrine Reviews*: 2009; 30: 75-95.

VANDENBERG LN, WADIA PR, SCHAEBERLE CM, RUBIN BS, SONNENSCHNEIN C, SOTO AM. The mammary gland response to estradiol: monotonic at the cellular level, non-monotonic at the tissue-level of organization? *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology* 2006;101: 263–274.

VOGEL SA. The Politics of Plastics: The Making and Unmaking of Bisphenol A Safety. *Framing Health Matters* 2009; 99:559-566.

VÖLKE W, BITTNER N, DEKANT W. Quantitation of bisphenol A and bisphenol A glucuronide in biological samples by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Drug Metabolism and Disposition* 2005; 33: 1748-1757.

VÖLKE W, COLNOT T, CSANADY GA, FILSNER JG, DEKANT W. Metabolism and kinetics of bisphenol A in humans at low doses following oral administration. *Chemical Research in Toxicology* 2002; 15: 1281-1287.

VOM SAAL FS, BUCHANON DL, PALANZA P, THAYER KA, NAGEL SC, STEFANO P, WELSHONS WV. A Physiologically Based Approach To the Study of Bisphenol a and Other Estrogenic Chemicals On the Size of Reproductive Organs, Daily Sperm Production, and Behavior. *Toxicology and Industrial Health* 1998; 14: 239-260.

VOM SAAL FS, HUGHES C. An Extensive New Literature Concerning Low-Dose Effects of Bisphenol A Shows the Need for a New Risk Assessment. *Environmental Health Perspectives* 2005; 113: 926–933.

VÖLKL W, KIRANOGLU M, FROMME H. Determination of free and total bisphenol A in human urine to assess daily uptake as a basis for a valid risk assessment. *Toxicology Letters* 2008; 179: 155- 162.

WELSHONS WV, NAGEL SC, VOM SAAL FS. Large Effects from Small Exposures. III. Endocrine Mechanisms Mediating Effects of Bisphenol A at Levels of Human Exposure. *Endocrinology* 2006; 174:56-69.

WELSHONS WV, THAYER KA, JUDY BM, TAYLOR JA, CURRA EM, VOM SAAL FS. Large effects from small exposures: I. Mechanisms for endocrine-disrupting chemicals with estrogenic activity. *Environmental Health Perspectives* 2004; 111:994–1006.

WETHERILL Y B, HESS-WILSON JK, COMSTOCK CE. Bisphenol A facilitates bypass of androgen ablation therapy in prostate cancer. *Molecular Cancer Therapeutics* 2006; 5: 3181-3190.

WETHERILL YB, FISHER NL, STAUBACH A, DANIELSEN M, DE VERE WHITE RW, KNUDSEN KE. Xenoestrogen Action in Prostate Cancer: Pleiotrophic Effects Dependent on Androgen Receptor Status. *Cancer Research* 2005; 65: 54-65.

WETHERILL YB, PETRE CE, MONK KR, PUGA A, KNUDSEN KE. The xenoestrogen bisphenol A induces inappropriate androgen receptor activation and mitogenesis in prostatic adenocarcinoma cells. *Molecular Cancer Therapeutics* 2002; 1:515–524.

WOZNIAK AL, BULAYEVA NN, Watson CS. Xenoestrogens at picomolar to nanomolar concentrations trigger membrane estrogen receptor-mediated Ca^{2+} fluxes and prolactin release in GH3/B6 pituitary tumor cells. *Environmental Health Perspectives* 2005; 113:431–439.

YAMADA H, FURUTA I, KATO EH, KATAOKA S, USUKI Y, KOBASHI G. Maternal serum and amniotic fluid bisphenol A concentrations in the early second trimester. *Reproductive Toxicology* 2002; 16: 735-739.

YANG M, KIM SY, CHAN SS, LEE IS, KAWAMOTO T. Urinary concentrations of bisphenol A in relation to biomarkers of sensitivity and effect and endocrine-related health effects. *Environmental and Molecular Mutagenesis* 2006; 47: 571-578.

YANG M, RYU JH, JEON R, KANG D, Y KY. Effects of bisphenol A on breast cancer and its risk factors. *Archives of Toxicology* 2009; 83: 281-285.

YE X, BISHOP AM, NEEDHAM LL, CALAFAT AM. Automated on-line column-switching HPLC- MS/MS method with peak focusing for measuring parabens, triclosan, and other environmental phenols in human milk. *Analytical Chimica Acta* 2008; 622: 150-156.

YE X, KUKLENYIK Z, NEEDHAM J, CALAFAT AM. Measuring environmental phenols and chlorinated organic chemicals in breast milk using automated on-line column-switching- high performance liquid chromatography-isotope dilution tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography B* 2006; 831: 110-115.

YE X, KUKLENYIK Z, NEEDHAM LL, CALAFAT AM. Quantification of urinary conjugates of bisphenol A, 2,5-dichlorophenol, and 2-hydroxy-4-methoxybenzophenone in humans by online solid phase extraction- high performance liquid chromatography- tandem mass spectrometry. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 2005; 383: 638-644.

YOSHINO H, ICHIHARA T, KAWABE M, IMAI H, HAGIWARA A, ASAMOTO M. Lack of significant alteration in the prostate or testis of F344 rat offspring after transplacental and lactational exposure to bisphenol A. *Journal of Toxicological Sciences* 2002; 27:433–439.

ZOELLER RT, BANSAL R, COLLEEN P. Bisphenol A, an Environmental Contaminant that Acts as a Thyroid Hormone Receptor Antagonist in Vitro, Increases Serum Thyroxine, and Alters RC3/Neurogranin Expression in the Developing Rat Brain. *Endocrinology* 2005; 146:607-612.

WEBSITES:

Bisphenol A Europe: <http://www.bisphenol-a-europe.org/index.php?page=home-de>
[Stand 8.1.2010]

EFSA 2006: European Food Safety Authority (EFSA). 2006. Opinion of the Scientific Panel on Food Additives, Flavourings, Processing Aids and Materials in Contact with Food on a request from the Commission related to,2-BIS(4-HYDROXYPHENYL)-PROPANE (Bisphenol A). Zugriff online: <http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/428.htm>. [Stand 12.12. 2010]

EFSA 2010: <http://www.efsa.europa.eu/de/press/news/cef100930.htm> [Stand 4.4.2011]

FDA 2011a: <http://www.fda.gov/NewsEvents/PublicHealthFocus/ucm197739.htm>, [Stand 4.4.2011]

FDA 2011b: <http://www.hhs.gov/safety/bpa/> [Stand 4.4.2011]

Global2000,
2011:<http://www.global2000.at/site/de/wissen/chemiekalien/bisphenola/article-bpa.htm> [Stand 26.11.2010]

HEALTH CANADA, 2008. Health Risk Assessment of Bisphenol A from Food Packaging Applications. Bureau of Chemical Safety, Food Directorate, Health Products and Food Branch. Available at: http://www.hc-sc.gc.ca/fn-an/alt_formats/hpfb-dgpsa/pdf/securit/bpa_hra-ers-eng.pdf (19.8.2010).

Health Canada 2011a:<http://www.hc-sc.gc.ca/fn-an/securit/packag-embal/bpa/index-eng.php>, [Stand 4.4.2011]

Health Canada 2011b: <http://www.hhs.gov/safety/bpa/> [Stand 4.4.2011]

US EPA, 1993. <http://www.epa.gov/iris/subst/0356.htm> [Stand 10.Mai 2009].

Lebenslauf

Persönliche Daten

- Name: Johanna Maria Elisabeth Rittinger
- Geburtsdatum: 22.2. 1984
- Geburtsort: Salzburg

Ausbildung

- seit SS 2006 Lehramtsstudium mit dem Erstfach Haushaltökonomie und Ernährung und dem Zweifach Geographie und Wirtschaftskunde
- seit WS 2002 Studium der Ernährungswissenschaften an der Universität Wien (Wahlschwerpunkt Ökonomie)
- 2002 Ablegung der Reifeprüfung mit gutem Erfolg
- 1994-2002 Akademisches Gymnasium Salzburg
- 1990-1994 Volksschule Mülln

Pflichtpraktika im Rahmen des Diplomstudiums Ernährungswissenschaften

- 2007: Agentur für Gesundheit und Ernährungssicherheit(AGES) Wien, Kompetenzzentrum Elemente (9 Wochen)
- 2006: Agentur für Gesundheit und Ernährungssicherheit (AGES) Salzburg im Bereich Kontrolle Lebensmittel und Wasser (4 Wochen)