

Führen Mischungen mehrerer Süßungsmittel zu gesundheitlichen Risiken für den Menschen?

Stellungnahme Nr. 005/2023 des BfR vom 07. Februar 2023

Süßungsmittel sind Lebensmittelzusatzstoffe. Die Verwendung von Lebensmittelzusatzstoffen ist nach Verordnung (EG) Nr. 1333/2008 zulassungspflichtig. Eine Voraussetzung für die Zulassung ist ihre gesundheitliche Unbedenklichkeit. In der Europäischen Union (EU) haben derzeit 20 Süßungsmittel eine solche Zulassung. Für jeden einzelnen dieser Stoffe wird eine Dosis festgelegt, die der Mensch ein Leben lang täglich aufnehmen kann, ohne dass dadurch gesundheitliche Beeinträchtigungen zu erwarten sind. Diese Dosis wird ADI-Wert (Acceptable Daily Intake; akzeptable tägliche Aufnahmemenge) genannt.

Doch wie sieht es aus, wenn mehrere Süßungsmittel in Kombination verwendet werden? Das Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR) ist der Frage nachgegangen, ob sich aus den vorhandenen Daten Hinweise auf gesundheitliche Risiken durch die Kombination von Süßungsmitteln ergeben können. Solche Mischungen sind beispielsweise oft in nichtalkoholischen Erfrischungsgetränken zu finden. Ein Grund dafür ist, dass manche Süßungsmittel in höheren Konzentrationen einen bitter-metallischen Beigeschmack verursachen können. Um diesen zu vermeiden, werden sie mit anderen Süßungsmitteln kombiniert.

Das BfR hat für den Zeitraum von 2016 bis 2020 recherchiert, welche Süßungsmittel am häufigsten in neu erschienenen Produkten auf dem deutschen Markt verwendet wurden. Diese sind Sucralose, Acesulfam K, Steviolglykoside, Cyclamat, Saccharin und Aspartam. Als Grundlage für die Bewertung möglicher Kombinationswirkungen dieser Süßungsmittel hat das BfR die Daten berücksichtigt, die für die Zulassung des einzelnen Süßungsmittels als Zusatzstoff in der EU herangezogen wurden. Darüber hinaus wurden auch weitere relevante Studien miteingeschlossen.

Anhand der vorhandenen Daten wurde untersucht, ob unerwünschte Wirkungen im Tiermodell bei mehr als einem der betrachteten Süßungsmittel im gleichen Organ auftraten. Die Süßungsmittel Sucralose, Saccharin und Aspartam riefen beispielsweise in Tierstudien mit Ratten, in denen die Tiere jeweils eines dieser Süßungsmittel mit dem Futter oder Trinkwasser erhielten, unerwünschte Wirkungen in der Niere und den ableitenden Harnwegen hervor. Die beobachteten Effekte wurden für die damalige Zulassung der Einzelstoffe als wenig relevant angesehen.

Das BfR kommt zu dem Ergebnis, dass Kombinationswirkungen von Süßungsmitteln (im Tiermodell) in ein und demselben Organ grundsätzlich auftreten können. Eine Modellrechnung des BfR stellt zudem fest: Sofern es sich hierbei um toxikologisch relevante Effekte handelt und die Dosis der Süßungsmittel ihrem jeweiligen ADI-Wert entspricht, könnte ihre kombinierte Aufnahme dazu führen, dass gesundheitlich unerwünschte Wirkungen in den Nieren und ableitenden Harnwegen auftreten können. Ob diese sich im Vergleich zum Einzelstoff in ihrer Wirkung gegenseitig verstärken, abschwächen oder einander nicht beeinflussen, kann derzeit noch nicht geklärt werden. Eine Studie mit dieser Fragestellung wäre für die Beurteilung von potenziellen Kombinationswirkungen hilfreich. Ob die beim Tiermodell beobachteten Effekte auf den Menschen übertragbar sind, lässt sich aufgrund der limitierten Datenlage zu Kombinationswirkungen von Süßungsmitteln derzeit nicht beurteilen.

1 Gegenstand der Bewertung

Ziel der im Dezember des Jahres 2018 vom Bundeskabinett in Deutschland verabschiedeten Nationalen Reduktions- und Innovationsstrategie für Zucker, Fette und Salz in Fertigprodukten (NRI) ist die deutliche Reduktion der Gehalte von Zucker, Fetten und Salz in Fertigprodukten. In diesem Zusammenhang wurden mit den Verbänden der Lebensmittelwirtschaft aus den einzelnen Branchen entsprechende Zielvereinbarungen getroffen, die schrittweise umgesetzt werden sollen. So streben zum Beispiel die teilnehmenden Unternehmen aus der Wirtschaftsvereinigung Alkoholfreie Getränke e.V. (wafg), die nach eigenen Angaben für über 90 % des Marktvolumens von Erfrischungsgetränken stehen, bezogen auf die Kategorie „Erfrischungsgetränke“ bis zum Jahr 2025 eine Zucker- und Kalorienreduktion von 15 % an. Im Rahmen der Strategie wird der Verwendung von Süßungsmitteln eine zentrale Rolle beigemessen (wafg 2018).

Grundlage für die Zulassung von Süßungsmitteln als Zusatzstoff in der Europäischen Union (EU) bilden Bewertungen des Scientific Committee on Food (SCF) der EU-Kommission bzw. der Europäischen Behörde für Lebensmittelsicherheit (EFSA). Im Rahmen von Einzelstoffbewertungen wurde dabei für bestimmte Süßungsmittel eine akzeptable tägliche Aufnahmemenge (acceptable daily intake, ADI) aus tierexperimentellen Daten abgeleitet. Belastbare tierexperimentelle Daten über potenzielle gesundheitlich unerwünschte Effekte bei Kombination von Süßungsmitteln, wie sie beispielsweise in nichtalkoholischen Erfrischungsgetränken vorzufinden ist, liegen allerdings bisher nicht vor. Daher wurde dieser Aspekt bisher bei der toxikologischen Bewertung durch internationale Expertengremien nicht berücksichtigt.

Das Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR) hat untersucht, ob sich aus der vorhandenen Datenlage, speziell aus Tierstudien, Hinweise auf gesundheitliche Risiken durch die kombinierte Verwendung relevanter Süßungsmittel ergeben. Die Betrachtungen wurden am Beispiel der kombinierten Verwendung von in nichtalkoholischen Erfrischungsgetränken verwendeten Süßungsmitteln durchgeführt. Dazu wurden primär drei Fragestellungen bearbeitet:

- (1) Lassen sich aus den Einzelstoffbewertungen des SCF und der EFSA, die im Rahmen der Zulassung von Süßungsmitteln als Zusatzstoffe in der EU durchgeführt wurden, Hinweise auf Kombinationswirkungen finden?
- (2) Sind dabei ermittelte Effektdosen für die Bewertung gesundheitlicher Risiken durch Kombinationswirkungen für den Menschen relevant?
- (3) Führen eventuell identifizierte Kombinationswirkungen zu gesundheitlichen Bedenken?

2 Ergebnis

Zur Beantwortung der Frage, ob sich aus den tierexperimentellen Daten Hinweise auf unerwünschte Wirkungen bei der kombinierten Verwendung dieser Süßungsmittel ergeben, wurden zunächst im Rahmen einer Recherche in der *Mintel-Global New Products Database* die zwischen den Jahren 2016 und 2020 am häufigsten in den Zutatenlisten der neu auf den deutschen Markt gebrachten Getränke und anderen Lebensmitteln genannten Süßungsmittel identifiziert. Zu ihnen zählen Sucralose, Acesulfam K, Steviolglykoside, Cyclamat, Saccharin und Aspartam.

Als toxikologische Datenbasis wurden insbesondere die für die Zulassung als Zusatzstoff in der EU herangezogenen tierexperimentellen Daten aus den Einzelstoffbewertungen des SCF, der EFSA und des JECFA, dem gemeinsamen Sachverständigenausschuss für Lebensmittelzusatzstoffe der Ernährungs- und Landwirtschaftsorganisation der Vereinten Nationen (FAO) und

der Weltgesundheitsorganisation (WHO) (Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives) sowie weitere Tierstudien berücksichtigt. In den Tierstudien wurden Effekte identifiziert, die bei mehr als einem der untersuchten Süßungsmittel Sucralose, Acesulfam K, Steviolglykoside, Cyclamat, Saccharin und Aspartam beobachtet wurden und im gleichen Zielorgan/-system auftraten. Dabei wurden insbesondere Effekte auf Nieren- und Hodengewebe, auf das Reproduktionssystem, auf den Gastrointestinaltrakt und Veränderungen auf biochemische Parameter im Blut, in der Leber und in lymphatischen Organen betrachtet.

Im Rahmen des hier vorgestellten Bewertungsansatzes wurde in Tierstudien an Ratten nach Verabreichung der Süßungsmittel Sucralose, Saccharin und Aspartam die Niere und die ableitenden Harnwege als mögliches gemeinsames Zielorgan identifiziert. Die Datenlage aus den tierexperimentellen Studien wurde für Hyperplasie und Mineralisierung im Nierenbecken als ausreichend belastbar für die hier vorgenommene vergleichende Bewertung angesehen. Hinsichtlich der anderen betrachteten Effekte wurde die Datenlage für eine Beurteilung möglicher Kombinationswirkungen verschiedener Süßungsmittel als nicht ausreichend belastbar angesehen. Deshalb wurden Hyperplasie und Mineralisierung im Nierenbecken exemplarisch weiter betrachtet.

In der Regel basiert der ADI-Wert jedes einzelnen Süßungsmittels auf der höchsten Dosis, bei der noch keine unerwünschten gesundheitlichen Effekte im Tiermodell auftraten (No Observed Adverse Effect Level, NOAEL). Unsicherheiten bei der Übertragung der Studienergebnisse vom Tier auf den Menschen und individuelle Unterschiede werden durch einen Faktor berücksichtigt. Der Quotient aus NOAEL und ADI beträgt in der Regel 100.

Unter der Voraussetzung, dass

- für die betrachteten Effekte eine additive Wirkung besteht,
- die Exposition jeweils der betreffenden akzeptablen täglichen Aufnahmemenge (ADI) entspricht und
- Wichtungsfaktoren für die unterschiedliche toxikologische Potenz der drei Süßungsmittel angewendet werden,

würde die kombinierte Aufnahme der drei Süßungsmittel Sucralose, Saccharin und Aspartam dazu führen, dass zwischen der Dosis, bei der in Rattenstudien Mineralisierungen im Nierenbecken auftraten, und der gewichteten Gesamtexposition nur ein Faktor (bzw. „Abstand“) von 21,5 besteht (Tabelle 8). Im Vergleich dazu wäre der „Abstand“ zwischen der Effektdosis und dem jeweiligen ADI bei separater Betrachtung der betreffenden Süßungsmittel bei Sucralose 60, bei Saccharin 100 und bei Aspartam 50. Die kombinierte Aufnahme würde somit dazu führen, dass der „Abstand“ geringer ist als bei separater Betrachtung. Ein ähnliches Bild zeigt sich bei der Betrachtung des Effekts der Hyperplasie im Nierenbeckenepithel von Ratten bei kombinierter Aufnahme der Süßungsmittel Sucralose und Aspartam (Tabelle 9).

Die Beispiele zeigen, dass Kombinationseffekte prinzipiell auftreten können. Sofern es sich dabei um toxikologisch relevante Effekte handelt, könnte die langfristige tägliche Aufnahme von Sucralose, Saccharin und Aspartam bei der angenommenen Exposition in Höhe des jeweiligen ADI bei kombinierter Verwendung möglicherweise nicht mehr als gesundheitlich unbedenklich angesehen werden.

Die betrachteten Effekte (Mineralisierungen und Hyperplasie im Nierenbecken von Ratten) wurden von den internationalen Bewertungsgremien für die Risikobewertung der drei Süßungsmittel als wenig relevant angesehen. Das BfR weist jedoch darauf hin, dass Verschiebungen des Mineral- und Wasserhaushalts ein Ungleichgewicht im renalen System und im Harntrakt her-

vorrufen können. Insbesondere die Kristallbildung und -retention können entscheidende Faktoren für die Entstehung von Nierensteinen beim Menschen darstellen. Insofern lassen sich Effekte in den Nieren und ableitenden Harnwegen, die bei kombinierter Verwendung der drei Süßungsmittel potenziell auftreten könnten, aus Sicht des BfR auf der Basis der verfügbaren Daten derzeit nicht abschließend bewerten.

Wie bereits beschrieben, wurde die Datenlage zu den anderen betrachteten Effekten (Hodengewebe, Reproduktionssystem, Gastrointestinaltrakt, Veränderungen biochemischer Parameter im Blut, in der Leber und in lymphatischen Organen) für eine vergleichende Bewertung von Kombinationswirkungen als nicht ausreichend belastbar angesehen.

Eine Tierstudie, in der mehrere Süßungsmittel kombiniert und parallel dazu auch separat verabreicht werden, wäre für die Beurteilung von potenziellen Kombinationswirkungen sehr hilfreich.

Aktuelle Expositionsschätzungen zur Aufnahme von Süßungsmitteln über nichtalkoholische Erfrischungsgetränke und weitere Produktgruppen liegen für Deutschland derzeit nicht vor. Inwieweit die Werte für die akzeptable tägliche Aufnahmemenge (ADI) der einzelnen Süßungsmittel in Deutschland ausgeschöpft oder sogar schon überschritten werden, ist demnach derzeit nicht bekannt. Es ist aber zu erwarten, dass eine vermehrte Verwendung von Süßungsmitteln im Rahmen der NRI-Strategie zu einer Zunahme der Exposition gegenüber diesen Süßungsmitteln führt. Insofern erscheint es ratsam, vor einer eventuellen Ausweitung der Verwendung von Süßungsmitteln die aktuelle Exposition für die Verbraucherinnen und Verbraucher in Deutschland zu ermitteln.

3 Begründung

3.1 Datengrundlage

3.1.1 Auswahl der betrachteten Süßungsmittel

In der Funktionsklasse der Süßungsmittel sind gemäß Anhang I der Verordnung (EG) Nr. 1333/2008 Stoffe zusammengefasst, die zum Süßen von Lebensmitteln verwendet werden. Ohne die Untergruppe der Zuckeralkohole sind in der EU derzeit elf Süßungsmittel als Zusatzstoff zugelassen. Sie besitzen keinen oder nur einen sehr geringen Nährwert, werden als nicht-kariogen eingestuft und finden entsprechend in zahlreichen Produktgruppen Verwendung.

Gemäß Verordnung (EG) Nr. 1333/2008 ist die Verwendung von Süßungsmitteln in zahlreichen Lebensmitteln, wie beispielsweise in Milchprodukten, Frühstückscerealien und Erfrischungsgetränken, zugelassen, die brennwertvermindert bzw. nicht kariogen sind oder keinen Zuckerzusatz enthalten. Für die hier betrachteten Süßungsmittel gelten bestimmte Höchstmengen.

Zur Identifizierung der in Deutschland am häufigsten verwendeten Süßungsmittel wurde eine Recherche in der *Mintel-Global New Products Database*¹ durchgeführt. Diese Datenbank beinhaltet unter anderem Informationen über Lebensmittel und ihre Inhaltsstoffe entsprechend den

¹ Mintel GNPD - Global New Products Database. © 2021 Mintel Group Ltd, 11 Pilgrim Street, London, UK EC4V 6RN, <https://www.mintel.com/global-new-products-database>

Verpackungsangaben. Die Produktanzahl und -palette spiegeln nicht den gesamten Markt wider, liefern aber einen guten Überblick über die existierenden Produkte. Der Recherchezeitraum wurde auf fünf Jahre (2016 - 2020) festgelegt. Aus den Daten wurde ermittelt, welche Süßungsmittel in diesem Zeitraum am häufigsten in den Zutatenlisten der neu auf den deutschen Markt gebrachten Getränke und anderen Lebensmitteln genannt wurden (Abbildung 1 und 2).

Die Auswertung der Recherche in der Mintel-Datenbank zeigt, dass Sucralose, Acesulfam K, Steviolglykoside (inkl. Stevia-Extrakt), Cyclamat (inkl. Natrium- und Calcium-Cyclamat), Saccharin (inkl. Natrium, Kalium- und Calcium-Saccharin) und Aspartam unter den nicht-nutritiven Süßungsmitteln am häufigsten in den Zutatenlisten der neu auf den deutschen Markt gebrachten Getränke und anderen Lebensmitteln genannt wurden.

Die zugelassenen Süßungsmittel Thaumatin, Neohesperidin DC, Neotam und Aspartam-Acesulfam K-Salz wurden in dem ausgewählten Zeitraum hingegen in nur sehr wenigen neu auf den Markt gebrachten Getränken bzw. anderen Lebensmitteln in der Zutatenliste erwähnt (<10 Nennungen). Für Advantam ergab sich kein Produkttreffer.

In der Bewertung zur kombinierten Verwendung von Süßungsmitteln werden dementsprechend die sechs Süßungsmittel Sucralose, Acesulfam K, Steviolglykoside, Cyclamat, Saccharin und Aspartam betrachtet.

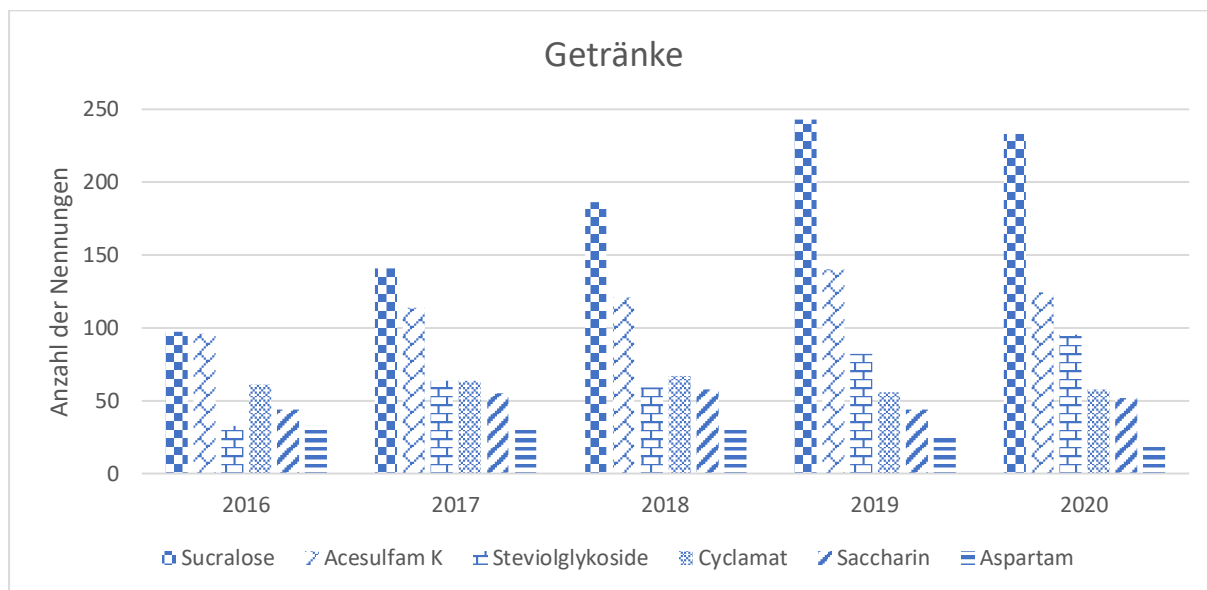


Abbildung 1: Anzahl der Nennungen von Süßungsmitteln als Zutat in neu auf den deutschen Markt gebrachten Getränken im Zeitraum der Jahre 2016 – 2020.

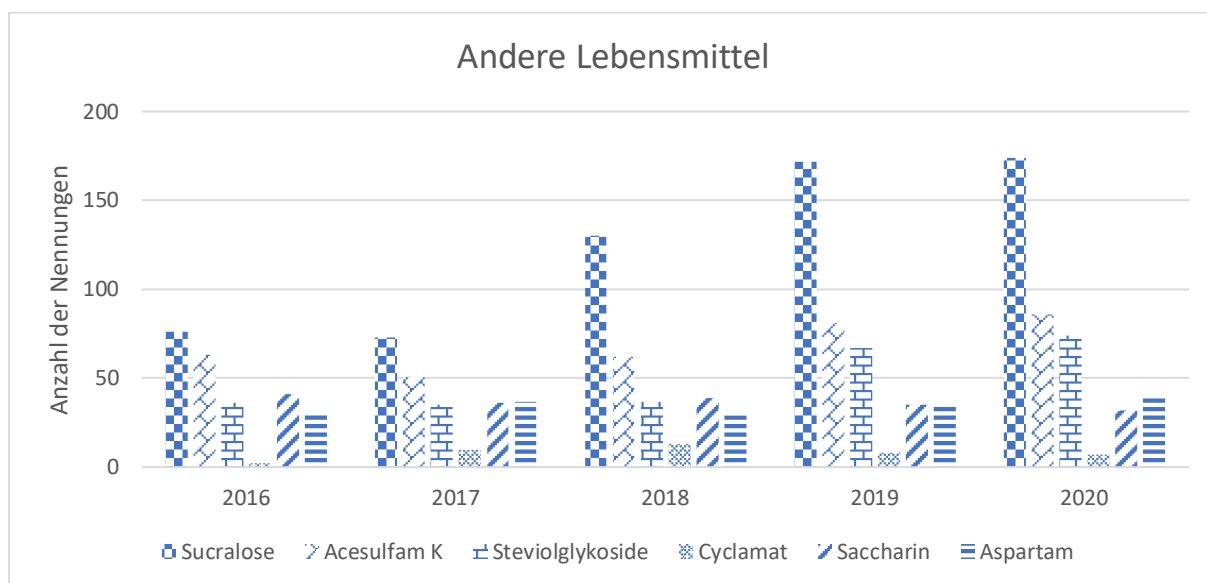


Abbildung 2: Anzahl der Nennungen von Süßungsmitteln als Zutat in neu auf den deutschen Markt gebrachten anderen Lebensmitteln im Zeitraum der Jahre 2016 – 2020.

3.1.2 Bewertungen der Süßungsmittel durch internationale Institutionen

Grundlage für die Zulassung als Zusatzstoff in der Europäischen Union sind Bewertungen des Wissenschaftlichen Ausschusses für Lebensmittel (Scientific Committee on Food (SCF)) der EU-Kommission und der Europäischen Behörde für Lebensmittelsicherheit (EFSA). Außerdem sind auch Bewertungen des Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA) verfügbar. Im Rahmen der Einzelstoffbewertung wurden jeweils akzeptable tägliche Aufnahmemengen („Acceptable daily intake“ (ADI)) aus tierexperimentellen Daten abgeleitet.

In den herangezogenen Tierstudien erhielten die Tiere den betreffenden Zusatzstoff zumeist täglich über einen langen Zeitraum mit dem Futter in unterschiedlich hohen Konzentrationen. Dabei wurden alle unerwünschten gesundheitlichen Wirkungen mit jeweils der niedrigsten Dosis, bei der die unerwünschte Wirkung auftrat (Lowest Observed Adverse Effect Level, LOAEL), sowie der Dosis, bis zu der keine unerwünschten Reaktionen auftraten (No Observed Adverse Effect Level, NOAEL) ermittelt. Für die Ableitung des ADI-Werts wurde der NOAEL für denjenigen unerwünschten gesundheitlichen Effekt herangezogen, der bei der niedrigsten Dosis auftrat (sensitivster Effekt). In der Regel wird dieser NOAEL durch einen Faktor (in der Regel 100) dividiert. Dadurch sollen Unsicherheiten bei der Übertragung der Studienergebnisse vom Tier auf den Menschen und individuelle Unterschiede berücksichtigt werden. Somit beträgt der ADI-Wert häufig ein Hundertstel des NOAEL. Der ADI-Wert wird in Milligramm pro Kilogramm (mg/kg) Körpergewicht (KG) und Tag angegeben. Diese Menge kann ein ganzes Leben lang täglich aufgenommen werden, ohne dass unerwünschte gesundheitliche Wirkungen zu erwarten sind.

Allerdings liegen derzeit keine belastbaren tierexperimentellen Daten über die Effekte bei Kombination von Süßungsmitteln vor, wie sie beispielsweise in nichtalkoholischen Erfrischungsgetränken vorzufinden ist, sodass dieser Aspekt bisher bei der toxikologischen Bewertung durch internationale Expertengremien nicht berücksichtigt werden konnte.

Sucralose (E 955)

Sucralose wird durch Chlorierung von Saccharose hergestellt und ähnelt dessen Geschmacksprofil, ohne einen Neben- bzw. Nachgeschmack hervorzurufen. Das Süßungsmittel wird nach oraler Aufnahme in vergleichsweise geringem Umfang resorbiert und größtenteils über den Fäzes, in geringem Umfang auch über den Harn nahezu unverändert ausgeschieden (Grice & Goldsmith 2000). Sucralose wird in zahlreichen Lebensmittelgruppen, aber auch in pharmazeutischen Produkten als Zusatzstoff verwendet. Als Tafelsüße wird Sucralose im Handel u. a. als eine Kombination aus Sucralose (1 %) und Maltodextrin (99 %) vertrieben.

Unter Berücksichtigung der verfügbaren Daten hat der SCF im Jahr 2000 einen ADI-Wert für Sucralose von 15 mg/kg KG und Tag abgeleitet. Dieser Wert basiert auf der Dosis von 1.500 mg/kg KG und Tag (NOAEL bzw. NOEL laut SCF-Bericht), bei der in Ratten keine Verringerung der Körpergewichtszunahme beobachtet wurde. Die niedrigste eingesetzte Dosis im Futter, bei der eine geringere Gewichtszunahme nach Verabreichung von Sucralose im Futter identifiziert wurde (LOAEL bzw. LOEL laut SCF-Bericht), betrug 3 % (entsprechend 1.973 bis 2.455 mg/kg KG und Tag) (SCF 2000c).

Acesulfam K (E 950)

Acesulfam K bezeichnet das Kaliumsalz von Acesulfam. Das Süßungsmittel wird oft in Kombination mit anderen Süßungsmitteln verwendet, da hohe Konzentrationen einen metallischen Beigeschmack hervorrufen. Acesulfam K ist gut lagerfähig, sehr stabil und übersteht auch typische Pasteurisations- und Sterilisationsverfahren ohne Verlust der Süßkraft. Wegen seiner Hitzebeständigkeit kann es auch zum Kochen und Backen verwendet werden. Acesulfam K ist auch in Getränken und Zahnpasten enthalten. Die zulässige Höchstmenge in nichtalkoholischen Erfrischungsgetränken beträgt 350 Milligramm pro Liter (mg/L). Größtenteils (> 90 %) wird Acesulfam K aus dem Magen-Darm-Trakt resorbiert und mit dem Urin ausgeschieden. Nur ein geringer Teil wird über den Fäzes abgegeben. Der Zusatzstoff wurde im Jahr 2000 vom SCF erneut bewertet. Dabei wurde der ADI auf 9 mg/kg KG und Tag festgesetzt. Die Ableitung basiert auf der höchsten verabreichten Dosis von 3 % im Futter (entsprechend 900 mg/kg KG und Tag in Hunden bzw. 1.500 mg/kg KG und Tag in Ratten), bei der keine signifikanten toxikologischen

Effekte beobachtet wurden (NOAEL). In den Studien, die für die Ableitung des NOAEL herangezogen wurden, konnte kein LOAEL identifiziert werden (SCF 2000b).

Steviolglykoside (E 960)

Steviolglycoside werden aus den Blättern der Pflanze *Stevia rebaudiana* Bertoni gewonnen, die verschiedene Stoffe aus der Gruppe der Glycoside enthalten. Der Zusatzstoff E 960 muss dabei zu mindestens 95 % aus den Steviolglykosiden Steviolbiosid, Rubusosid, Dulcosid A, Steviosid, Rebaudioside A, B, C, D, E, F und M in der Trockenmasse bestehen (Verordnung (EU) Nr. 231/2012), wobei Steviosid und Rebaudiosid A im Wesentlichen für die sensorischen Eigenschaften der aus den Steviablättern hergestellten Extrakte verantwortlich sind und somit den Hauptanteil bilden. Steviolglykoside werden intestinal durch Bakterien zu dem Aglykon Steviol hydrolysiert und anschließend zu Steviolglucuroniden metabolisiert und vornehmlich über den Urin, aber auch über den Fäzes, ausgeschieden.

Wegen ihres bitteren, an Lakritze erinnernden Eigengeschmacks werden Steviolglykoside in Kombination mit anderen Süßungsmitteln oder Zucker verwendet. Steviolglykoside sind in der EU gemäß Verordnung (EG) Nr. 1333/2008 für zahlreiche Lebensmittelkategorien zugelassen, wobei den Hauptanteil an der zu erwartenden Gesamtexposition nichtalkoholische aromatisierte Erfrischungsgetränke ausmachen (EFSA 2010).

Die EFSA hat einen ADI-Wert für Steviolglykoside von 4 mg/kg KG und Tag abgeleitet. Dieser Wert wurde von der niedrigsten eingesetzten Steviosiddosis im Futter von 2,5 % (entsprechend 388 mg/kg KG und Tag Stevioläquivalente bzw. entsprechend 967 bzw. 1.120 mg/kg KG und Tag Steviosid in männlichen bzw. weiblichen Ratten) abgeleitet, bei der nach zweijähriger Verabreichung in der Ratte keine unerwünschten gesundheitlichen Wirkungen auftraten. Die Verabreichung von 5 % Steviosid im Futter (entsprechend 1.997 bzw. 2.387 mg/kg KG und Tag in männlichen bzw. weiblichen Ratten) führte hingegen zu adversen gesundheitlichen Effekten (geringeres Körpergewicht, Veränderungen verschiedener Organgewichte wie z. B. Niere, Eierstock und Gehirn), und wurde entsprechend als LOAEL identifiziert (EFSA 2010).

Cyclamat (E 952)

Unter der Bezeichnung Cyclamat werden das Süßungsmittel Cyclohexansulfamidsäure sowie seine Natrium- und Calciumsalze zusammengefasst. Cyclamat wird schnell intestinal resorbiert und größtenteils mit dem Urin wieder ausgeschieden. Im Darm kann eine bakterielle Metabolisierung zu Cyclohexylamin (CHA) stattfinden. CHA wird ebenfalls resorbiert und über den Urin ausgeschieden (Bopp *et al.* 1986). Cyclamat ist hitzestabil, lange lagerfähig und auch zum Kochen und Backen verwendbar. Hohe Konzentrationen zeigen einen bitter-metallischen Beigeschmack. Oft wird Cyclamat gemeinsam mit Saccharin verwendet, da die beiden Stoffe ihre Süßkraft gegenseitig verstärken.

Der ADI für Cyclamat (genauer gesagt für die Cyclaminsäure und deren Natrium- und Calciumsalze) wurde vom SCF mit 0 – 7 mg/kg KG und Tag festgelegt. Der Wert basiert auf einem NOAEL von 100 mg/kg KG und Tag für Cyclohexylamin (CHA) unter Einbeziehung einer Umwandlungsrate zu Cyclamat von 85 % und einem Unsicherheitsfaktor von 32 (SCF 2000a). Höhere Dosen an CHA führten in Ratten zu adversen gesundheitlichen Effekten im Hodengewebe. Die Verabreichung von 300 mg/kg KG und Tag bzw. 0,6 % im Futter führte in männlichen Ratten zu Veränderungen des Hodengewebes (Hodenatrophie) und wurde entsprechend als LOAEL identifiziert (Gaunt *et al.* 1976; Brune & Mohr 1978).

Saccharin (E 954)

Saccharin ist das erste industriell hergestellte Süßungsmittel und umfasst auch die Natrium-, Kalium- und Calcium-Salze des Saccharins. Das Süßungsmittel wird fast vollständig (> 90 %) vom Magen-Darm-Trakt resorbiert und unverändert mit dem Urin ausgeschieden. Nur ein geringer Teil wird über den Fäzes (etwa 3 %) ausgeschieden. Bisher gibt es keine Hinweise, dass Saccharin in nachweisbaren Mengen metabolisiert wird. Meist wird Saccharin in Kombination mit anderen Süßungsmitteln verwendet, da eine zu hohe Konzentration zu einem bitter-metallischen Beigeschmack führt (Renwick 1986). Der Stoff ist hitze- und gefrierbeständig und auch in wässrigen und säurehaltigen Produkten stabil.

Für Saccharin und seine Natrium-, Kalium- und Calciumsalze wurde im Jahr 1995 vom SCF ein ADI-Wert von 0 – 5 mg/kg KG und Tag festgelegt, als freie Säure mit 0 – 3,8 mg/kg KG und Tag. Die Ableitung basiert auf einem NOAEL von 1 % Natrium-Saccharin im Futter (entsprechend 500 mg/kg KG und Tag) männlicher Ratten, bei dem keine relevanten toxikologischen Effekte festgestellt wurden. Eine dreifach höhere Dosis (3 % im Futter, entsprechend 1.500 mg/kg KG und Tag) führte in Ratten zu einer allgemeinen Störung der Homöostase mit reduzierter Körpergewichtszunahme und weiteren adversen gesundheitlichen Effekten, einschließlich einer erhöhten Inzidenz für das Auftreten von Blasentumoren. Die Relevanz der Blasentumore wurde von JECFA und SCF diskutiert (JECFA 1993; SCF 1995).

Aspartam (E 951)

Aspartam ist ein Dipeptidmethylester und besteht aus den Aminosäuren L-Asparaginsäure und L-Phenylalanin. Aspartam kann durch intestinale Esterasen und Peptidasen zu Asparaginsäure und Phenylalanin sowie Methanol hydrolysiert werden. Die Abbauprodukte gelangen in den systemischen Kreislauf und werden dort weiter metabolisiert (Magnuson *et al.* 2007). Dementsprechend weist das Süßungsmittel einen Kaloriengehalt von 4 Kilokalorien pro Gramm (kcal/g) auf. Aspartam enthält eine Phenylalaninquelle, die auf den Erzeugnissen gekennzeichnet werden muss und von Personen mit der Stoffwechselerkrankung Phenylketonurie berücksichtigt werden sollte. Aspartam eignet sich zum Süßen von einer Vielzahl an Lebensmitteln (z. B. Kaugummis, Frühstückscerealien, andere Trockenprodukte sowie Getränke). Bei anhaltender hoher Temperatur ist Aspartam instabil und daher nicht für Back- und Kochzwecke geeignet.

Die EFSA veröffentlichte zuletzt im Jahr 2013 eine vollständige Risikobewertung zu Aspartam. Der zuvor abgeleitete ADI-Wert von 40 mg/kg KG und Tag wurde bestätigt und basiert auf einem NOAEL von 4.000 mg/kg KG und Tag. Die EFSA betonte jedoch, dass die Möglichkeit einer auftretenden Entwicklungstoxizität bei niedrigeren Dosen als 4.000 mg/kg bei den untersuchten Tieren nicht ausgeschlossen werden konnte: *"[...] The possibility of developmental toxicity occurring at lower doses than 4.000 mg/kg in animals could not be excluded. Based on MoA and weight-of-evidence analysis, the Panel concluded that developmental toxicity in animals was attributable to phenylalanine. Phenylalanine at high plasma levels is known to cause developmental toxicity in humans. [...]"*. Die Verabreichung von Aspartam in einer Menge von 8.000 mg/kg KG und Tag zeigte in Ratten zahlreiche unerwünschte gesundheitliche Wirkungen, darunter auch in den Nieren (EFSA 2013).

Tabelle 1: Übersicht über toxikologische Kenngrößen für die untersuchten Süßungsmittel.

	Sucralose	Acesulfam K	Steviolglykoside	Cyclamat	Saccharin	Aspartam
Beschreibung der Süßungsmittel	Trichlorogalactosucrose (TGS)	Kaliumsalz des Acesulfams	mind. 95 % Steviolglykoside ^a	Natrium- und Calciumsalze der Cyclohexylsulfamidsäure	Saccharin und seine Calcium-, Kalium- und Natriumsalze	
Bewertungsgremium, -jahr	SCF 2000	SCF 2000	EFSA 2010	SCF 2000	SCF 1995	EFSA 2013
NOAEL in mg/kg KG und Tag	1.500	900	388 Stevioläquivalente ^b	100 CHA-HCL ^c	500 Na-Saccharin ^d	4.000
LOAEL in mg/kg KG und Tag	1.973 – 2.455	Kein LOAEL beschrieben	2.500 Steviosid	300 CHA-HCL ^c	1.500 Na-Saccharin ^d	8.000
ADI in mg/kg KG und Tag	15	9	4	7	5	40

ADI (acceptable daily intake); NOAEL (No Observed Adverse Effect Level); LOAEL (Low Observed Adverse Effect Level); KG (Körpergewicht); SCF (Scientific Committee on Food); EFSA (European Food Safety Authority); ^a Steviolbiosid, Rubusosid, Dulcosid A, Steviosid, Rebaudioside A, B, C, D, E, F und M; ^b entsprechend 967 bzw. 1.120 mg/kg KG und Tag Steviosid in männlichen bzw. weiblichen Ratten; ^c Cyclohexylamin-Hydrochlorid; ^d Natriumsalz von Saccharin

3.2 Identifizierung relevanter Zielorgane/Zielgewebe

Als toxikologische Datenbasis wurden insbesondere die für die Zulassung als Zusatzstoff in der EU herangezogenen tierexperimentellen Daten aus den Einzelstoffbewertungen des SCF, der EFSA und des Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA) und weitere Tierstudien berücksichtigt. Allerdings wurden bei der toxikologischen Bewertung durch internationale Expertengremien potenzielle Effekte bei Kombination von Süßungsmitteln nicht berücksichtigt, weil zum Zeitpunkt der Bewertung keine belastbaren tierexperimentellen Daten über potenzielle Effekte bei Kombination von Süßungsmitteln verfügbar waren.

Zur Identifizierung potenziell identischer unerwünschter gesundheitlicher Wirkungen wurden alle Effekte betrachtet, die mit den Süßungsmitteln Sucralose, Acesulfam K, Steviolglykoside, Cyclamat, Saccharin sowie Aspartam in den relevanten Tierstudien beobachtet wurden. Dabei wurden Effekte identifiziert, die bei mehr als einem untersuchten Süßungsmittel im gleichen Zielorgan/-system auftraten. Es wurden dazu die aktuellen Bewertungsberichte des SCF und der EFSA zu Sucralose (SCF 2000c), Acesulfam K (SCF 2000b), Steviolglykoside (EFSA 2010), Cyclamat (SCF 2000a), Saccharin (SCF 1995) und Aspartam (EFSA 2013) herangezogen und zu den relevanten Effekten jeweils NO(A)EL und LO(A)EL identifiziert. Darüber hinaus wurden auch die Monografien des Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA) berücksichtigt. Weitere Studienergebnisse zu den identifizierten und relevanten Effekten, die nach den Risikobewertungen des SCF und der EFSA publiziert worden sind, wurden zusätzlich einbezogen.

Effekte, die nicht für die Ableitung des NOAEL bzw. ADI bei der Bewertung des Süßungsmittels herangezogen wurden, jedoch als gesundheitlich relevant angesehen werden könnten, sowie Effekte, die erst bei höheren Dosen als der des LOAEL auftraten, wurden ebenfalls mit in die Bewertung einbezogen. Die Recherche und Auswahl der Studien erhebt keinen Anspruch auf Vollständigkeit.

3.2.1 Effekte in Niere und Harnblase

Die Auswertung der tierexperimentellen Daten, die für die Zulassung der untersuchten Süßungsmittel als Zusatzstoff in der EU berücksichtigt wurden, hat gezeigt, dass adverse gesundheitliche Effekte in den Nieren und der Harnblase nach Verabreichung der Süßungsmittel Na-Saccharin, Sucralose und Aspartam an Ratten auftraten (**Tabelle 2**).

Hervorzuheben sind dabei die histopathologischen Befunde in der Harnblase und im Nierenbecken von Ratten. In einer Zweigenerationenstudie wurde in männlichen F1-Ratten nach Verabreichung von 3 % **Na-Saccharin** im Futter (entsprechend 1.500 mg/kg KG und Tag) eine im Vergleich zur Kontrollgruppe erhöhte Inzidenz an primären Neoplasien in der Harnblase beobachtet, bei höheren Dosen (≥ 4 % im Futter, entsprechend ≥ 2.000 mg/kg KG und Tag) wurden vermehrt Harnblasentumore beschrieben. Die Dosis von 1 % im Futter (entsprechend 500 mg/kg KG und Tag) Na-Saccharin führte im gleichen Tiermodell zu einer gesteigerten Mineralisierung in der Niere, die innerhalb oder unmittelbar unter dem Beckenepithel auftrat (Schoenig *et al.* 1985). Morphologische Veränderungen des Harnblasenepithels (pleiomorphe Mikrovilli, Hyperplasie des Epithels) wurden nach zehnwöchiger Verabreichung von 1.250 mg/kg KG und Tag Na-Saccharin im Futter männlicher Ratten beobachtet (Murasaki & Cohen 1981).

Auch **Sucralose** führte zu Effekten im Nierenbecken. Bei weiblichen Ratten, die Sucralose mit dem Futter in Konzentrationen von 0; 0,3; 1 und 3 % (entsprechend 0, 200, 900 und 2.200

mg/kg KG und Tag) über einen Zeitraum von zwei Jahren erhielten, wurde bei allen Dosierungen eine verstärkt auftretende Hyperplasie des Nierenbeckeneithels und bei 900 und 2.200 mg/kg KG und Tag darüber hinaus eine Zunahme der Mineralisierung des Nierenbeckens beobachtet. In männlichen Ratten wurden diese Effekte nicht beobachtet (Mann *et al.* 2000).

Eine verstärkte Mineralisierung des Nierenbeckens wurde auch nach zweijähriger Verabreichung von **Aspartam** in Dosierungen von 2.000 und 4.000 mg/kg KG und Tag im Futter in männlichen sowie in weiblichen Ratten festgestellt. Bei 1.000 mg/kg KG und Tag wurde dieser Effekt im Nierenbecken nicht beobachtet (Ishii *et al.* 1981). Ablagerungen von eisenhaltigem Hämosiderin in den Epithelzellen der Nierentubuli und des Nierenbeckens sowie ein verstärktes Auftreten fokaler Hyperplasie des renalen Beckeneithels und Degeneration der Nierentubuli wurde nach zwei Jahren in männlichen Ratten bei einer Dosis von 8.000 mg/kg KG und Tag Aspartam im Futter beobachtet. Niedrigere Dosen führten nicht zu den beschriebenen Effekten (EFSA 2013).

Tabelle 2: Effekte in Niere und Harnblase nach Verabreichung von Süßungsmitteln mit jeweiligen Studiendetails.

Süßungsmittel	Effekt	NOEL* in mg/kg KG und Tag	LOEL* in mg/kg KG und Tag	Spezies	Dauer in Wochen	Applikation	Referenz
Sucralose (ADI 15 mg/kg KG und Tag)	Hyperplasie des Nierenbeckenepithels		200 ^b	Ratte, w	104	Futter	Mann <i>et al.</i> 2000 [#]
	Mineralisierung im Nierenbecken	200	900 ^c	Ratte, w	104	Futter	Mann <i>et al.</i> 2000 [#]
Na-Saccharin (ADI 5 mg/kg KG und Tag)	Mineralisierung im Nierenbeckenepithel		500 ^d	Ratte, m (F1)	MultiGene- ration	Futter	Schoenig <i>et al.</i> 1985 [#]
	Primäre Neoplasie der Harnblase, An- stieg relatives Gewicht der Harnblase	500	1.500 ^d	Ratte, m (F1)	MultiGene- ration	Futter	Schoenig <i>et al.</i> 1985 [#]
	Morphologische Veränderungen des Harnblasenepithels (pleiomorphe Mikro- villi, Hyperplasie)	500 ^a	1.250 ^e	Ratte, m (n=10)	10	Futter	Murasaki <i>et al.</i> 1981
Aspartam (ADI 40 mg/kg KG und Tag)	Mineralisierung im Nierenbecken	1.000	2.000 ^f	Ratte, m, w	104	Futter	EFSA 2013 (Ishii <i>et al.</i> 1981) [#]
	Niere: Pigmentablagerungen, fokale tu- buläre Degeneration und fokale tubuläre Hyperplasie in der Niere	1.000, 2.000, 4.000	8.000	Ratte, m (n=40)	104	Futter	EFSA 2013 (E33-34) [#]

* als NOEL und LOEL (und nicht als NOAEL bzw. LOAEL) angegeben, weil die beschriebenen Effekte von den Bewertungsgremien als nicht relevant für die Ableitung der jeweiligen ADI angesehen wurden; m männlich; w weiblich; ^a entspricht 1 % im Futter, weitere Effektdosen 0,1 %, 0,5 % im Futter; ^b dosisabhängige Steigerung der Inzidenz: 0 mg/kg KG und Tag (2/50); 200 mg/kg KG und Tag (6/50); 900 mg/kg KG und Tag (9/50); 2.200 mg/kg KG und Tag (10/50); ^c dosisabhängige Steigerung der Inzidenz: 0 mg/kg KG und Tag (7/50); 200 mg/kg KG und Tag (12/50); 900 mg/kg KG und Tag (16/50); 2.200 mg/kg KG und Tag (15/50); ^d entspricht 1 % im Futter, weitere Effektdosen: 3 %, 4 %, 5 %, 6,25 %, 7,5 % im Futter; ^e weitere Effektdosis: 5 % im Futter; ^f dosisabhängige Steigerung der Inzidenz: 0 mg/kg KG und Tag (m:1/57; w: 16/59); 1.000 mg/kg KG und Tag (m: 5/55,w: 23/59); 2.000 mg/kg KG und Tag (m: 10/60, w: 30/59); 4.000 mg/kg KG und Tag (m: 15/59; w: 46/60); [#] Durchführung größtenteils nach OECD-Testvorschriften.

Im Rahmen der Literaturrecherche wurden zudem weitere Effekte nach Süßungsmittelverabreichung im Nierengewebe und Veränderungen renaler bzw. urologischer Parameter identifiziert. Die nachfolgend beschriebenen und in Tabelle 3 dargestellten Befunde stellen eine Auswahl der Ergebnisse aus der recherchierten Literatur dar.

Nach zweijähriger Verabreichung von 50, 100 bzw. 150 mg/kg KG und Tag **Cyclohexylamin (CHA)** über das Futter von männlichen Ratten wurde eine zunehmende Verkalkung in der Nierenrinde, im Becken und in den Nierenpapillen festgestellt. Laut der Autoren müssen die Studienergebnisse wegen fehlender Dosis-Wirkungs-Beziehung jedoch unter Vorbehalt betrachtet werden (Oser *et al.* 1976). Bopp *et al.* kommen in ihrem umfassenden Review zu dem Schluss, dass Natrium- und Calcium**cyclamat** erst bei sehr hohen Dosen von 5 % (entsprechend 2.500 mg/kg KG und Tag) bzw. 10 % im Futter von Ratten renale Störungen und Nephrocalcinose verursachen. Diese Beobachtungen wurden jedoch nicht in anderen Spezies (Maus, Hund, Affe), die Cyclamat bzw. CHA erhielten, bestätigt (Friedman *et al.* 1972; Bopp *et al.* 1986).

Nach vierwöchiger Gabe von 10 bzw. 500 mg/kg KG und Tag **Na-Saccharin** via Schlundsonde erhöhten sich die Kreatinin-, Albumin- und Harnstoffwerte im Serum männlicher Ratten (Amin *et al.* 2016). Die Dosis von 70 mg/kg KG und Tag **Aspartam** per Schlundsonde führte nach neunwöchiger Verabreichung zu erhöhten Harnstoff- und Kreatininwerten im Serum männlicher Ratten. Bei 15 bzw. 35 mg/kg KG und Tag Aspartam wurden diese Veränderungen der Parameter nicht beobachtet (Adaramoye & Akanni 2016). Ein Anstieg der Harnstoff- und Kreatininkonzentration in männlichen Ratten wurde auch nach sechswöchiger Gabe von 500 mg/kg KG und Tag Aspartam über das Trinkwasser festgestellt (Saleh 2014). Im Gegensatz dazu führte die achtwöchige Gabe von etwa 7 mg/kg KG und Tag (60 mg/L) Aspartam über das Trinkwasser in männlichen Ratten unter Standard- und Hochfettdiät zu einer Abnahme der Harnstoffkonzentration im Serum (Palmnäs *et al.* 2014). Gaunt *et al.* beobachteten geringere Harnstoffgehalte im Blut nach zweijähriger Verabreichung von 0,06 % **CHA** im Futter und bei höheren Dosen von 0,2 % und 0,6 % im Futter der männlichen Ratten (entsprechende Dosen in mg/kg KG und Tag siehe Tab. 3). Die Gabe von 0,06 % CHA im Futter führte nicht zur Veränderung der Albuminkonzentration im Blut, jedoch wurde eine Zunahme der Albumin-gehalte bei 0,2 und 0,6 % festgestellt (Gaunt *et al.* 1976).

Weitere Parameter der Harnwege, die durch die Verabreichung von Süßungsmitteln beeinflusst wurden, waren die Zunahme des Harnblasengewichts sowie Änderungen des pH-Wertes und der Mineralstoffgehalte im Urin. 1.500 mg/kg KG und Tag und höhere Dosen **Na-Saccharin** im Futter führten in Ratten zu einer Zunahme des Harnblasengewichts, wohingegen die Dosis von 500 mg/kg KG und Tag keinen Effekt auf das Harnblasengewicht hatte (Schoenig *et al.* 1985). Nach zehnwöchiger Verabreichung von 2.500 mg/kg KG und Tag Na-Saccharin stellten Anderson *et al.* ebenfalls eine Zunahme des Harnblasengewichts fest und beobachteten eine Reduktion des pH-Wertes und eine Zunahme des Phosphatgehaltes im Urin (Anderson *et al.* 1988). Eine pH-Reduktion sowie eine gesteigerte Calciumkonzentration im Urin wurde auch nach zweijähriger Verabreichung von 2.000 bzw. 4.000 mg/kg KG und Tag **Aspartam** festgestellt. Solche Effekte traten nicht nach Gabe von 1.000 mg/kg KG und Tag Aspartam auf (Ishii *et al.* 1981).

Tabelle 3: Weitere renale bzw. urologische Effekte nach Verabreichung von Süßungsmitteln mit jeweiligen Studiendetails.

Süßungsmittel	Effekt	NOEL* in mg/kg KG und Tag	LOEL* in mg/kg KG und Tag	Spezies	Dauer in Wochen	Applikation	Referenz
Cyclamat (ADI 7 mg/kg KG und Tag)	Verkalkung in der Niere ^a		50/100/150 CHA	Ratte, m	104	Futter	Oser <i>et al.</i> 1976 [#]
	Abnahme Harnstoff im Blut		~19 CHA ^{**b}	Ratte, m (n=10)	104	Futter	Gaunt <i>et al.</i> 1976 [#]
	Anstieg Serum-Albumin	~19 CHA	~77 CHA ^{**c}	Ratte, m (n=10)	104	Futter	Gaunt <i>et al.</i> 1976 [#]
Na-Saccharin (ADI 5 mg/kg KG und Tag)	Anstieg Serum-Kreatinin, -Harnstoff, -Albumin		10 ^d	Ratte, m (n=8)	4	Schlundsonde	Amin <i>et al.</i> 2016
	Abnahme pH im Urin; Anstieg Phosphat im Urin, Anstieg rel. Gewicht Harnblase		2.500	Ratte, m (n=5)	10	Futter	Anderson <i>et al.</i> 1988
Aspartam (ADI 40 mg/kg KG und Tag)	Anstieg Serum-Kreatinin, -Harnstoff		500	Ratte, m (n=6)	6	Trinkwasser	Saleh <i>et al.</i> 2014
	Anstieg Serum-Kreatinin, -Harnstoff	15, 35	70	Ratte, m (n=5)	9	Schlundsonde	Adaramoye <i>et al.</i> 2016
	Abnahme Serum-Harnstoff		7	Ratte, m (n=9-12)	8	Trinkwasser	Palmnäs <i>et al.</i> 2014
	Abnahme pH im Urin, Anstieg Calcium im Urin	1.000	2.000 ^e	Ratte, m, w	104	Futter	EFSA 2013 (Ishii <i>et al.</i> 1981) [#]

* als NOEL und LOEL (und nicht als NOAEL bzw. LOAEL) angegeben, weil die beschriebenen Effekte von den Bewertungsgremien als nicht relevant für die Ableitung der jeweiligen ADI angesehen wurden; m männlich; w weiblich; ^a keine Dosisabhängigkeit bzgl. Inzidenz-> 0 mg/kg KG und Tag; 2/33; 15 mg/kg KG und Tag; 5/24; 50 mg/kg KG und Tag; 11/35; 100 mg/kg KG und Tag; 10/27; 150 mg/kg KG und Tag; 8/41; ^b weitere Effektdosen: 77 und 257 mg/kg KG und Tag; ^c weitere Effektdosis: 257 mg/kg KG und Tag; ^d weitere Effektdosis: 500 mg/kg KG und Tag; ^e weitere Effektdosis: 4.000 mg/kg KG und Tag, ** Dosen abhängig von Woche 1→104: 0,06 % im Futter (entsprechend 71→19 mg/kg KG und Tag); 0,2 % im Futter (entsprechend 201→77 mg/kg KG und Tag); 0,6 % im Futter (entsprechend 545→257 mg/kg KG und Tag); [#] Durchführung größtenteils nach OECD-Testvorschriften

3.2.2 Effekte im Hodengewebe

Für die Bewertung von Cyclamat als Lebensmittelzusatzstoff wurde die pathologische Veränderung im Hodengewebe als der sensitivste Effekt für die Identifikation des NOAEL ermittelt (SCF 2000a). Die Verabreichung von 200 mg/kg KG und Tag **Cyclohexylamin (CHA)** im Futter männlicher Ratten führte nach 90 Tagen zu Unterschieden im „testicular score“ und gibt einen Hinweis auf eine verringerte Spermio-genese in den Tubuli (Johnsen 1970) im Vergleich zur Kontrollgruppe. Nach Verabreichung von 300 mg/kg KG und Tag CHA wurden degenerative Veränderungen in den Hodentubuli und Anzeichen einer Hodenatrophie beobachtet. Die eingesetzten CHA-Dosen von 50 bzw. 100 mg/kg KG und Tag hatten keinen Einfluss auf das Hodengewebe (Brune & Mohr 1978; JECFA 1982). Eine Hodenatrophie wurde auch in männlichen Ratten beobachtet, die über einen Zeitraum von zwei Jahren 150 mg/kg KG und Tag CHA erhielten (Oser *et al.* 1976). Eine CHA-Dosis von 0,6 % im Futter erhöhte die Inzidenz der Hodenatrophie und führte darüber hinaus zu verstärkter Calciumeinlagerung in den Samenkanälchen nach zweijähriger Verabreichung (Gaunt *et al.* 1976). James *et al.* beobachteten sowohl in männlichen Ratten als auch in Hunden (Beagles) nach neunwöchiger Verabreichung von 200 bzw. 250 mg/kg KG und Tag CHA über Schlundsonde eine Reduktion der Spermienanzahl mit vermehrt auftretenden abnormalen Spermien im Hodengewebe (James *et al.* 1981). In Mäusen bewirkte die Dosis von 300 mg/kg KG und Tag CHA hingegen keine histopathologischen Veränderungen im Hodengewebe (Hardy *et al.* 1976).

Durch die Literaturrecherche, die auch Studien nach dem Erscheinungsdatum der Gutachten des SCF und der EFSA einschloss, wurde eine Studie identifiziert, in der die achtwöchige Verabreichung von 460 mg/kg KG und Tag **Na-Saccharin** in Mäusen zu adversen gesundheitlichen Effekten im Hodengewebe führte. Gong *et al.* stellten in männlichen Mäusen nach fünfwöchiger Verabreichung von Na-Saccharin über das Trinkwasser Effekte auf die Hodenmorphologie sowie auf die Spermienfunktion und -qualität fest. Im Hodengewebe der Mäuse, die 460 mg/kg KG und Tag Na-Saccharin erhielten, wurden Schädigungen der Samenkanälchen von der Peripherie zum Lumen festgestellt. Die histologischen Untersuchungen zeigten eine gesteigerte Ablösung spermatogener Zellen vom Epithel (Spermatide, pachytäme Spermatozyten) und eine Bündelung diskohäsiver Zellen. Histopathologische Änderungen im Hodengewebe von Tieren mit geringerer Na-Saccharinzufuhr (40 und 210 mg/kg KG und Tag) wurden nicht beobachtet. Darüber hinaus reduzierte sich die Spermienanzahl, -motilität und -viabilität, und es wurden Strukturabnormalitäten des Spermienkopfes und -schwanzes bei Verabreichung der hohen Na-Saccharindosis (460 mg/kg KG und Tag) festgestellt. Diese Effekte traten mit 40 bzw. 210 mg/kg KG und Tag Na-Saccharin nicht auf. Vergleichbare histopathologische Änderungen im Hodengewebe sowie adverse Effekte auf die Spermienqualität (Ablösung Zellen im Lumen, geringere Spermienviabilität, abnormale Struktur Spermien-schwanz) wurden in Mäusen beobachtet, die Saccharose in Dosen (22,28 und 53,7 g/kg KG und Tag) erhielten, die der Süßkraft der eingesetzten mittleren und hohen Na-Saccharindosen (210 bzw. 460 mg/kg KG und Tag) entsprach. Die Analyse reproduktionsrelevanter Hormone im Serum zeigte eine Reduktion der Estradiol- und Testosteron-gehalte bei 460 mg/kg KG und Tag Na-Saccharin, wohingegen die Effekte bei geringeren Na-Saccharindosen (40 bzw. 210 mg/kg KG und Tag) bzw. Saccharosedosen nicht beobachtet wurden. Nach Verabreichung von Na-Saccharin wurden auch Veränderungen des luteinisierenden Hormons (LH) (nicht dosisabhängig) und von Expressionsgehalten diverser Proteine, die relevant für die Steroidhormonsynthese sind, im Hodengewebe festgestellt (Gong *et al.* 2016).

In einer Studie zur chronischen Toxizität an männlichen Ratten, die über zwei Jahre lang **Aspartam** über das Futter erhielten, erhöhte sich in den Tieren mit den höchsten Aspartamdosen (4.000 bzw. 8.000 mg/kg KG und Tag) die Inzidenz einer Bläschendrüsentröpfung, wobei keine eindeutige Dosisabhängigkeit festgestellt wurde. Weitere Effekte auf das Hodengewebe oder

der Spermienfunktion wurden in dem Gutachten der EFSA nicht beschrieben (EFSA 2013) (Tabelle 4).

Tabelle 4: Effekte im Hodengewebe nach Verabreichung von Süßungsmitteln mit jeweiligen Studiendetails

Süßungsmittel	Effekt	NOEL* in mg/kg KG und Tag	LOEL* in mg/kg KG und Tag	Spezies	Dauer in Wochen	Applikation	Referenz
Cyclamat (ADI 7 mg/kg KG und Tag)	degenerative Veränderungen in den Tubuli, Hodenatrophie	50,100,200 CHA	300 CHA	Ratte, m	13	Futter	Brune <i>et al.</i> 1978 [#]
	Veränderung Spermio-genese	50,100 CHA	200 CHA				
	Hodenatrophie ^a	15,50,100 CHA	150 CHA	Ratte, m	104	Futter	Oser <i>et al.</i> 1976 [#]
	Hodenatrophie ^b , Calciumeinlagerung Tubuli ^c	~30, 100 CHA**	~300 CHA**	Ratte, m	104	Futter	Gaunt <i>et al.</i> 1976 [#]
	Abnahme Anzahl „spätere“ Spermatozoiden		200 CHA	Ratte, m	9	Schlundsonde	James <i>et al.</i> 1981
	Abnahme Spermienanzahl, Zunahme abnormale Spermien		250 CHA	Hund, m	9	Schlundsonde	James <i>et al.</i> 1981
Na-Saccharin (ADI 5 mg/kg KG und Tag)	Abnahme Spermienanzahl, -motilität, -viabilität; Histopathologische Veränderungen im Hodengewebe	40, 210	460	Maus, m (n=8)	5	Trinkwasser	Gong <i>et al.</i> 2016
Aspartam (ADI 40 mg/kg KG und Tag)	Inzidenz Atrophie Bläschen-drüse ^d	1.000, 2.000	4.000, 8.000	Ratte, m	104	Futter	EFSA 2013 (E33-34) [#]

* **Bis auf die Effekte von CHA** als NOEL und LOEL (und nicht als NOAEL bzw. LOAEL) angegeben, weil die beschriebenen Effekte von den Bewertungsgremien als nicht relevant für die Ableitung der jeweiligen ADI angesehen wurden; m männlich; w weiblich; **entspricht 0,06 % und 0,2 % bzw. 0.6 % im Futter, Dosen abhängig von Woche 1→104: 0,06 % im Futter (entsprechend 71→19 mg/kg KG und Tag); 0,2 % im Futter (entsprechend 201→77 mg/kg KG und Tag); 0,6 % im Futter (entsprechend 545→257 mg/kg KG und Tag);^a Inzidenz-> 0 mg/kg KG und Tag: 5/19, 150 mg/kg KG und Tag CHA: 12/20); ^b Inzidenz-> 0 mg/kg KG und Tag: 0/34, 300 mg/kg KG und Tag CHA: 18/46; ^c Inzidenz-> 0 mg/kg KG und Tag: 1/34, 300 mg/kg KG und Tag CHA: 10/46, ^d Inzidenz-> 0 mg/kg KG und Tag: 2/23, 4.000 mg/kg KG und Tag: 4/23, 8.000 mg/kg KG und Tag: 6/21); # Durchführung größtenteils nach OECD-Testvorschriften

3.2.3 Effekte auf die Reproduktion und (postnatale) Entwicklung

In einer Multigenerationsstudie von Kroes *et al.* wurden embryotoxische Effekte nach Verabreichung von 0,5 % **Cyclohexylamin (CHA)** (mit Umrechnungsfaktor von 0,15 entsprechend 750 mg/kg KG und Tag) in Mäusen beobachtet. Die Feten der Mäuse hatten ein geringeres Körpergewicht, und die Gabe von CHA führte zu einer geringeren Anzahl lebender Föten und Zunahme der postnatalen Mortalität. In Tieren, denen 5 % **Natriumcyclamat** (entsprechend 7.500 mg/kg KG und Tag) verabreicht wurde, wurde ebenfalls ein geringeres Körpergewicht in den Nachkommen festgestellt. Weitere Süßungsmitteldosisgruppen (2 % Na-Cyclamat; 5 % Na-Cyclamat + 0,5% Saccharin; 2 % Na-Cyclamat + 0,2 % Saccharin; 0,5 % Saccharin; 0,2 % Saccharin) zeigten keine embryotoxischen oder teratogenen Effekte im Vergleich zur Kontrollgruppe (Kroes *et al.* 1977).

In einer Zweigenerationenstudie beobachteten Schoenig *et al.* in weiblichen Ratten eine Abnahme der durchschnittlichen Wurfstärke nach Verabreichung von 3 % (entsprechend 1.500 mg/kg KG und Tag) **Na-Saccharin** im Futter der Muttertiere. Höhere Na-Saccharindosen von 5 bzw. 7,5 % im Futter (entsprechend 2.500 bzw. 3.750 mg/kg KG und Tag) reduzierten zudem das Körpergewicht der Nachkommen, und es wurde eine höhere Flüssigkeitszufuhr nach 30 Studienmonaten in den F1-Tieren festgestellt. Die Überlebensrate der Nachkommen, deren Muttertiere 5 bzw. 7,5 % Na-Saccharin über das Futter erhielten, erhöhte sich, jedoch nicht in der 6,25 %-Dosisgruppe (Schoenig & Anderson 1985).

In Mäusen wurde nach Gabe von 5 % (entsprechend 2.500 mg/kg KG und Tag) Na-Saccharin im Futter der Elterntiere eine Abnahme der Anzahl lebender Welpen pro Wurf und ein geringeres Körpergewicht der Nachkommen beobachtet, einhergehend mit einem geringeren Körpergewicht der Muttertiere. Die Mortalität der Elterntiere erhöhte sich in der 5 %-Na-Saccharingruppe. Die Wasseraufnahme der Elterntiere erhöhte sich bei 1,25 und 2,5 % Na-Saccharin, reduzierte sich jedoch nach Verabreichung von 5 % Saccharin (NTP 1997).

Aspartam führte in zahlreichen Rattenstudien, die in der Risikobewertung der EFSA zu Aspartam im Detail aufgeführt sind, zu Störungen in der postnatalen Entwicklung. Die Nachkommen, deren Muttertiere 4.000 mg/kg KG und Tag Aspartam über das Futter erhielten, wiesen ein reduziertes Körpergewicht und eine geringere Körpergröße im Vergleich zu den Kontrolltieren auf. Darüber hinaus war die Anzahl lebender Welpen pro Wurf bei Geburt und bis zum Absetzen reduziert und die Abortrate erhöht. Nach Verabreichung von 4.000 mg/kg KG und Tag Aspartam wurde eine Abnahme der Futtermittelaufnahme und des Körpergewichts der Muttertiere während der Schwangerschaft und während der Laktationszeit beobachtet. Die beschriebenen Effekte in den Muttertieren und der F1-Generation traten nicht bei 2.000 mg/kg KG und Tag Aspartam auf. In weiblichen Kaninchen führte die Verabreichung von 2.000 mg/kg KG und Tag Aspartam über die Schlundsonde ebenfalls zu einem geringeren Körpergewicht und einer reduzierten Futtermittelaufnahme in den Muttertieren. Darüber hinaus erhöhte sich die Abortrate. Die Nachkommen wiesen ein geringeres Körpergewicht auf, und es wurden Abnormalitäten des Skelettsystems beobachtet. Die Gabe von 500 und 1.000 mg/kg KG und Tag Aspartam führte zu keinen der zuvor beschriebenen Effekte. In weiblichen Kaninchen, die 4.000 mg/kg KG und Tag Aspartam über das Futter erhielten, reduzierte sich das Gewicht der Föten im Vergleich zur Kontrollgruppe, und es wurden kongenitale Anomalien festgestellt (EFSA 2013).

Tabelle 5: Reproduktionsrelevante Effekte nach Verabreichung von Süßungsmitteln mit jeweiligen Studiendetails

Süßungsmittel	Effekt	NOEL* in mg/kg KG und Tag	LOEL* in mg/kg KG und Tag	Spezies	Zeitpunkt der Beobachtung	Applikation	Referenz
Cyclamat (ADI 7 mg/kg KG und Tag)	Embryotoxisch (Abnahme KG Feten und Anzahl lebender Feten, Zunahme postnatale Mortalität)		750 CHA ^b	Mäuse	F1-F6	(Futter)	Kroes <i>et al.</i> 1977 [#]
Na-Saccharin (ADI 5 mg/kg KG und Tag)	Abnahme durchschnittl. Wurfstärke Muttertier	500	1.500 ^c	Ratte (F0 w n=418)	Tragzeit	Futter	Schoenig <i>et al.</i> 1985 [#]
	Abnahme KG F1 Zunahme Wasseraufnahme F1		3.750		bis Ende Laktation (30 Monate)		
	Zunahme Überlebensrate F1	500 ^a	2.500 ^d				
	Abnahme Anzahl lebender Welpen pro Wurf, Abnahme Wasseraufnahme und KG	1,25 %, 2,5 % im Futter	5 % im Futter	Mäuse, m,w	F0	Trinkwasser	NTP 1997 [#]
Aspartam (ADI 40 mg/kg KG und Tag)	Abnahme KG und Körpergröße Welpen, Abnahme Anzahl lebender Welpen pro Wurf bei Geburt, Abnahme Futteraufnahme und KG Muttertier, Anstieg Abortrate	2.000	4.000	Ratte, w	Trag- und Laktationszeit	Futter	EFSA 2013 (E5, E11, E39, E47, E48) [#]
	Abnahme fetales Gewicht, Kongenitale Anomalien, Abnahme Futteraufnahme Muttertier	1.000, 2.000	4.000	Kaninchen, w	Trag- und Laktationszeit	Futter	EFSA 2013 Appendix I E54, E53, E55 [#]
	Abnahme KG Jungtier, Störung Skelettsystem Jungtier, Abnahme Futteraufnahme und Körpergewicht Muttertier, Anstieg Abortrate	0, 500, 1.000	2.000	Kaninchen, w	Trag- und Laktationszeit	Schlundsonde	EFSA 2013 Appendix I E90 [#]

* als NOEL und LOEL (und nicht als NOAEL bzw. LOAEL) angegeben, weil die beschriebenen Effekte von den Bewertungsgremien als nicht relevant für die Ableitung der jeweiligen ADI angesehen wurden; m männlich; w weiblich; ^a entspricht 1 % im Futter, weitere Dosen: 3 %, 4 %, 6,25 %; ^b entspricht 0,5 % im Futter, Umrechnungsfaktor: 0,15; ^c entspricht 3 % im Futter, weitere Effektdosen: 4 %, 5 %, 6,25 %, 7,5 %; ^d entspricht 5 % im Futter, weitere Effektdosis: 7,5 %; [#] Durchführung größtenteils nach OECD-Testvorschriften

3.2.4 Effekte im Gastrointestinaltrakt

Im Rahmen der Literaturrecherche wurden Studien identifiziert, die einen Zusammenhang zwischen der Aufnahme von Süßungsmitteln und Effekten im Gastrointestinaltrakt beschreiben.

Auf Basis der gegenwärtigen (limitierten) Daten kann keine Aussage getroffen werden, ob das intestinale Mikrobiom beim Menschen bzw. bei Modelltieren durch die Einnahme von Süßungsmitteln klinisch relevant beeinflusst wird.

3.2.5 Effekte auf biochemische Parameter

Im Zuge der Literaturrecherche und der Durchsicht der Stellungnahmen der Bewertungsgremien wurden Studien identifiziert, die Veränderungen biochemischer Parameter im Blut und in Organen wie Leber oder Milz nach Süßungsmittelverabreichung zeigten.

Tabelle 6 stellt eine Auswahl der identifizierten Literatur (kein Anspruch auf Vollständigkeit) hinsichtlich der beobachteten Effekte auf hämatologische Parameter dar.

In der JECFA-Monographie (WHO FAS 28) wurde über eine leichte Erhöhung des Hämoglobingehaltes nach 13-wöchiger Gabe von 10 % **Acesulfam K** im Futter von männlichen Ratten berichtet (JECFA 1991a).

Einen reduzierten Hämoglobingehalt und einen geringeren Anteil an Erythrozyten am Gesamtblutvolumen (PCV) beobachteten Gaunt *et al.* in weiblichen Ratten nach einjähriger Gabe von 0,6 % **Cyclohexylamin (CHA)** im Futter. Männliche Ratten zeigten hingegen erhöhte Hämoglobin- und PCV-Werte nach zwei Jahren, wenn sie 0,6 % CHA über das Futter erhielten (Gaunt *et al.* 1976). Veränderungen in Bezug auf die Hämoglobinwerte und den Anteil an Erythrozyten am Gesamtblutvolumen wurden auch nach 13-wöchiger Verabreichung von CHA bei einer Dosis von 0,6 % CHA in Ratten festgestellt (Gaunt *et al.* 1974).

In männlichen und weiblichen Mäusen verringerten sich nach einjähriger Gabe von **Saccharin** in einer Menge von 1.000 mg/kg KG und Tag über das Trinkwasser die Erythrozytenzahl und das -volumen sowie der Hämoglobingehalt im Blut (Prasad & Rai 1987). Eine Reduktion des Hämoglobin- und Hämatokritwertes zeigte sich auch in männlichen und weiblichen Nachkommen vier Wochen post partum, wenn die Muttertiere 3 % (entsprechend 1.500 mg/kg KG und Tag) Na-Saccharin über das Futter erhielten. Höhere Dosen (7,5 %) veränderten auch die Eisenblutwerte und die Eisenbindungskapazität im Blut (Garland *et al.* 1991). Schoenig *et al.* beobachteten ebenfalls anämische Effekte in Ratten mit Na-Saccharindosen von 5 und 7,5 % (Schoenig *et al.* 1985).

Die Verabreichung von **Aspartam** in einer Menge von 70 mg/kg KG und Tag per Schlundsonde erhöhte in männlichen Ratten den Anteil von konjugiertem Bilirubin nach neun Wochen, ein wasserlösliches Abbauprodukt des roten Blutfarbstoffs (Adaramoye & Akanni 2016). Im Blut männlicher Ratten wurden zudem nach sechswöchiger Gabe von 500 mg/kg KG und Tag Aspartam über das Trinkwasser geringere Hämoglobin- als auch Eisen- und Ferritingehalte gemessen, einhergehend mit erhöhten TIBC- und UIBC-Werten, die ein Maß für die Eisenbindungskapazität darstellen (Saleh 2014).

Tabelle 6: Effekte auf hämatologische Parameter nach Verabreichung von Süßungsmitteln mit jeweiligen Studiendetails

Süßungsmittel	Effekt	NOEL* in mg/kg KG und Tag	LOEL* in mg/kg KG und Tag	Spezies	Dauer in Wochen	Applikation	Referenz
Acesulfam K (ADI 9 mg/kg KG und Tag)	Zunahme Hämoglobin	1 %, 3 % im Futter	10 % im Futter	Ratte, m (n=10)	13	Futter	JECFA 1991
Cyclamat (ADI 7 mg/kg KG und Tag)	Zunahme Hämoglobin, PCV	0,2 % CHA im Futter**	0,6 % CHA im Futter**	Ratte, m (n=10)	104	Futter	Gaunt <i>et al.</i> 1976 [#]
	Abnahme Hämoglobin, PCV (kein Effekt bei 104 Wochen)	0,2 % CHA im Futter**	0,6 % CHA im Futter**	Ratte, w (n=10)	52	Futter	
Saccharin (ADI 5 mg/kg KG und Tag)	Abnahme Erythrozytenanzahl (Erythropenie), Abnahme Hämoglobin, Abnahme PCV, Zunahme Neutrophile, Splenoomegalie	500	1.000 ^a	Maus, m, w (n=10)	52	Trinkwasser	Prasad <i>et al.</i> 1987
	Abnahme Hämoglobin, Hämatokrit, Abnahme Eisen bei 7,5%, m); Änderung Eisenbindungskapazität bei 7,5% (Abnahme w, Zunahme m)	500	1.500 ^b	Ratte, m, w (F1)	4 post partum	Futter	Garland <i>et al.</i> 1991 [#]
Aspartam (ADI 40 mg/kg KG und Tag)	Abnahme Hämoglobin, Eisen, Ferritin, Zunahme Eisenbindungskapazität		500	Ratte, m (n=6)	6	Trinkwasser	Saleh <i>et al.</i> 2014
	Zunahme konjugiertes Bilirubin	15	35 ^c	Ratte, m (n=5)	9	Schlundsonde	Adaramoye <i>et al.</i> 2016

* als NOEL und LOEL (und nicht als NOAEL bzw. LOAEL) angegeben, weil die beschriebenen Effekte von den Bewertungsgremien als nicht relevant für die Ableitung der jeweiligen ADI angesehen wurden; m männlich; w weiblich; PCV Erythrozytenvolumen; ** Dosen abhängig von Woche 1→104: 0,06 % im Futter (entsprechend 71→19 mg/kg KG und Tag); 0,2 % im Futter (entsprechend 201→77 mg/kg KG und Tag); 0,6 % im Futter (entsprechend 545→257 mg/kg KG und Tag); ^a weitere Effektdosis: 1.500 mg/kg KG und Tag; ^b weitere Effektdosis: 3.750 mg/kg KG und Tag, ^c weitere Effektdosis: 70 mg/kg KG und Tag; [#] Durchführung größtenteils nach OECD-Testvorschriften

Es wurden zudem Studien identifiziert, in denen die Verabreichung von Süßungsmitteln zu veränderten Konzentrationen verschiedener biochemischer (u. a. inflammatorischer) Parameter im Blut und in diversen Organen (Leber, lymphatische Organe) führte. Eine Auswahl der identifizierten Effekte ist in Tabelle 7 dargestellt (kein Anspruch auf Vollständigkeit).

Veränderungen von Blutparametern

5 % **Sucralose** im Futter verringerte die Alanin-Aminotransferase (ALT)-Aktivität im Serum nach vierwöchiger Fütterung männlicher Ratten und reduzierte die Leukozyten- und Lymphozytenzahl (Goldsmith 2000). Eine Verringerung der Leukozyten im Serum wurde auch nach Verabreichung von 0,06 % **CHA** im Futter nach zwei Jahren bei männlichen Ratten festgestellt, wobei sich die Anzahl der Lymphozyten erhöhte und die der neutrophilen Granulozyten reduzierte (Gaunt *et al.* 1976).

Die Gabe von 10 bzw. 25 mg/kg KG und Tag **Na-Saccharin** über Schlundsonde bzw. Trinkwasser erhöhte in männlichen Ratten die Enzymaktivität der ALT, Aspartat-Aminotransferase (AST) und alkalische Phosphatase (ASP) im Blut nach vier bzw. acht Wochen (Amin *et al.* 2016). Ferner wurde eine Abnahme der Catalase (CAT)-aktivität sowie der antioxidativen Kapazität, gemessen an der Gesamtmenge der Antioxidantien, im Blut nach achtwöchiger Gabe von 25 mg/kg KG und Tag Na-Saccharin über das Trinkwasser in Ratten festgestellt (Alkafafy Mel *et al.* 2015).

Die Enzymaktivität der ALT und ALP in männlichen Ratten wurde auch nach achtwöchiger Verabreichung von 250 mg/kg KG und Tag **Aspartam** gesteigert (Alkafafy Mel *et al.* 2015). Prokic *et al.* beobachteten in isolierten Erythrozyten aus dem Blut männlicher Ratten, die acht Wochen 40 mg/kg KG und Tag Aspartam über das Trinkwasser erhielten, erhöhte Konzentrationen von Markern für oxidativen Stress (Superoxidanion ($O_2^{\bullet-}$), Wasserstoffperoxid (H_2O_2), Peroxynitrit ($ONOO^-$), Lipidperoxide (LPO)) sowie eine gesteigerte CAT-Aktivität. Die Gehalte des reduzierten Glutathion (GSH) verringerten sich in der Aspartamgruppe (Prokic *et al.* 2014).

Veränderungen von Leberparametern

Die vierwöchige Gabe von 500 mg/kg KG und Tag **Na-Saccharin** per Schlundsonde reduzierte in männlichen Ratten die Enzymaktivitäten der Superoxiddismutase (SOD) und der CAT sowie die GSH-Menge. Der hepatische Gehalt an Malondialdehyd (MDA), der ein Marker für die Lipidperoxidation darstellt, erhöhte sich indes (Amin *et al.* 2016). Bian *et al.* beobachteten in der Leber von männlichen Mäusen nach 24-wöchiger Verabreichung von 15 mg/kg KG und Tag Na-Saccharin über das Trinkwasser erhöhte mRNA-Gehalte der induzierbaren Stickstoffmonoxid-Synthase (*iNOS*) und des Tumornekrosefaktors- α (*TNF- α*) (Bian *et al.* 2017b). Histologische Untersuchungen zeigten Veränderungen des Leberparenchyms mit Anzeichen einer gesteigerten Infiltration immunkompetenter Zellen, erhöhter periportal Bindegewebsexpansion (Fibrose) und Kongestion der Zentralvene und Lebersinusoiden nach achtwöchiger Gabe von 25 mg/kg KG und Tag Na-Saccharin (Alkafafy Mel *et al.* 2015).

Effekte in Bezug auf die Leberenzyme wurden auch nach neunwöchiger Gabe von 35 mg/kg KG und Tag **Aspartam** per Schlundsonde in männlichen Ratten festgestellt. Adaramoye *et al.* beobachteten in der Aspartamgruppe geringere GSH-Konzentrationen und Enzymaktivitäten der Glutathiontransferase (GST), Glutathionperoxidase (GPx), SOD und CAT sowie gesteigerte Gehalte von Lipidperoxidprodukten (TBARS). In der Niere wurde ebenfalls eine Abnahme der katalytischen Fähigkeit der GST und SOD sowie der GSH- und LPO-Gehalte nach Aspartamgabe festgestellt. Histologische Untersuchungen der Leber wiesen auf nekrotisches Gewebe, periportale Infiltration und Beeinträchtigung des venösen Abflusses hin. Mikroskopische Untersuchungen von Nierenabschnitten zeigten zudem Anzeichen von Stauung in den Gefäßen von Mark und Rinde und Hyperplasie kubischer Zellen (Adaramoye & Akanni 2016).

Finamor *et al.* untersuchten in männlichen Ratten die Wirkung von Aspartam auf hepatische Parameter des Methionin-Transmethylierungszyklus und der reversen Transsulfurierung. Die 13-wöchige Gabe von 80 mg/kg KG und Tag Aspartam per Schlundsonde reduzierte die Konzentration der schwefelhaltigen Metabolite Methionin-Adenosyl-Transferase (MAT1A/2A), S-Adenosylmethionin (SAM), Homocystein, Cystein, Glutamat-Cystein-Ligase (GCLc), Gamma-Glutamylcystein (γ -GC) sowie des oxidierten und reduzierten Glutathions (GSSG, GSH) in der Leber männlicher Ratten. Darüber hinaus führte die Gabe von 80 mg/kg KG und Tag Aspartam zu einer erhöhten hepatischen Leukozyteninfiltration (Finamor *et al.* 2017). Eine Infiltration immunkompetenter Zellen und pathohistologische Befunde in der Leber (periportale Fibrose, Kongestion der Zentralvene und Lebersinusoide) beobachtete Alkafafy *et al.* auch nach achtwöchiger Gabe von 250 mg/kg KG und Tag Aspartam über das Trinkwasser (Alkafafy Mel *et al.* 2015).

Anzeichen einer Leberschädigung stellten Dhurandhar *et al.* in Lebern männlicher Ratten, die vier Wochen lang 3.000 mg/kg KG und Tag **Sucralose** per Schlundsonde erhielten, fest. Die histopathologischen Bilder der Leber zeigten eine ungleichmäßige Hepatozytendegeneration, einhergehend mit Hyperplasie der Kupferzellen, Lymphozyteninfiltration, sinusoidaler Dilatation und vermehrt auftretenden fibrotischen Strukturen um den Portaltrakt (Dhurandhar *et al.* 2018). Effekte von Sucralose auf die Genexpression proinflammatorischer Faktoren beobachteten Bian *et al.* in der Leber männlicher Mäuse. Die 24-wöchige Verabreichung von 15 mg/kg KG und Tag Sucralose über das Trinkwasser erhöhte die hepatischen mRNA-Gehalte der induzierbaren Stickstoffmonoxid-Synthase (*iNOS*) und der Matrixmetalloproteinase 2 (MMP-2) (Bian *et al.* 2017a).

Veränderungen von Parametern in Milz und Thymus

Gaunt *et al.* beobachteten eine Reduktion des relativen Milzgewichts einschließlich reduzierter Leukozytenanzahl nach zweijähriger Verabreichung von 0,6 % **CHA** im Futter männlicher Ratten (Gaunt *et al.* 1976). Eine Abnahme des Milz- und Thymusgewichts wurde auch nach vierwöchiger **Sucralose**gabe (5%, >2.500 mg/kg KG und Tag) im Futter männlicher Ratten festgestellt. Histologische Untersuchungen des Thymusgewebes wiesen auf einen reduzierten Anteil an Lymphozyten in der Thymusrinde mit vermehrt auftretender Lymphozytolyse und Hypoplasie der Thymusrinde hin (Goldsmith 2000; SCF 2000c). Saad *et al.* beobachteten nach dreimonatiger Verabreichung von 15 mg/kg KG und Tag Sucralose über das Trinkwasser degenerative Veränderungen der weißen Pulpa und eine Reduktion der Lymphozyten in den Lymphfollikeln der Milz von männlichen Ratten. Vergleichbare Effekte in Bezug auf die reduzierte Lymphozytenzahl in der roten und weißen Pulpa und einen allgemeinen Strukturverlust des Milzgewebes wurden auch nach dreimonatiger Verabreichung von 40 mg/kg KG und Tag **Aspartam** festgestellt (Saad 2017).

Tabelle 7: Effekte auf biochemische Parameter nach Verabreichung von Süßungsmitteln mit jeweiligen Studiendetails

Süßungsmittel	Effekt	NOEL* in mg/kg KG und Tag	LOEL* in mg/kg KG und Tag	Spezies	Dauer in Wochen	Applikation	Referenz
Sucralose (ADI 15 mg/kg KG und Tag)	Abnahme rel. Milz und Thymusgewicht; Abnahme Leukozyten- und Lymphozy- tenanzahl; Lymphozytolyse, Kortikale Hypoplasie im Thymus	3.000	5 % im Futter ^a	Ratte, m	4-8	Futter	SCF 2000 (Cummins <i>et al.</i> 1983) [#]
	Abnahme Serum ALT, Leukozyten- und Lymphozytenanzahl; Abnahme rel. Milz- gewicht und Lymphozytenanzahl Thy- musrinde	1%, 2,5% im Futter	5 % im Futter ^a	Ratte, m (n=15)	4	Futter	Goldsmith <i>et al.</i> 2000 [#]
	Degeneration des weißen Marks in Milz; Depletion Lymphozyten in Lymphfollikel		15 ^b	Ratte, m (n=10)	12	Schlund- sonde	Saad <i>et al.</i> 2017
	Lymphozyteninfiltration Leber, Degene- ration Leberzellen, Fibrose, Hyperplasie Kupffer-Zellen		3.000	Ratte, m (n=6)	4	Schlund- sonde	Dhurandhar <i>et al.</i> 2018
	Anstieg inflammatorischer Faktoren in Leber		14 ^c	Maus, m (n=10)	24	Trinkwasser	Bian <i>et al.</i> 2017 ^c
Cyclamat (ADI 7 mg/kg KG und Tag)	Abnahme totaler Leukozytenanzahl Se- rum (bei 0,6 % Abnahme Neutrophile, Anstieg Lymphozyten (auch bei w))		0,06 % CHA ^{d**}	Ratte, m (n=10)	104	Futter	Gaunt <i>et al.</i> 1976 [#]
	Anstieg des relativen Milzgewichts	0,2 % CHA im Futter ^{**}	0,6 % CHA ^{**}				
Saccharin (ADI 5 mg/kg KG und Tag)	Zunahme Serum ALT, AST, ALP		10 ^e	Ratte, m (n=8)	4	Schlund- sonde	Amin <i>et al.</i> 2016
	Zunahme MDA, Abnahme SOD, CAT, GSH in Leber	10	500	Ratte, m (n=10)	4	Schlund- sonde	Amin <i>et al.</i> 2016

	Abnahme Plasma CAT, Zunahme ALT, ALP; Fibrose, mononukleäre Zellinfiltration in Leber	25 ^f		Ratte, m (n=5)	8	orale Aufnahme	Alkafafy et al. 2015
	Anstieg inflammatorischer Faktoren Leber	42 ^g		Maus, m (n=10)	24	Trinkwasser	Bian et al. 2017c
Aspartam (ADI 40 mg/kg KG und Tag)	Veränderungen GSH, GST, SOD, LPO etc. in Niere und Leber; Nekrose, periportale Infiltration in Leber; Hyperplasie kubischer Zellen in Niere	15	35 ^h	Ratte, m (n=5)	9	Schlundsonde	Adaramoye et al. 2016
	Leukozyteninfiltration in Leber, Abnahme GSH etc.	80		Ratte, m (n=6)	13	Schlundsonde	Finamor et al. 2017
	Zunahme Superoxid-Anion, H ₂ O ₂ , LPO, Peroxynitrit, CAT, GSH in Erythrozyten	40		Ratte, m (n=5)	6	Trinkwasser	Prokic et al. 2014
	Zunahme Plasma ALT, ALP, Fibrose, mononukl. Zellinfiltration in Leber	250		Ratte, m (n=5)	8	Orale Aufnahme	Alkafafy et al. 2015
	Depletion Lymphozyten im weißen, roten Milzmark	40 ⁱ		Ratte, m (n=10)	12	Schlundsonde	Saad et al. 2017

* als NOEL und LOEL (und nicht als NOAEL bzw. LOAEL) angegeben, weil die beschriebenen Effekte von den Bewertungsgremien als nicht relevant für die Ableitung der jeweiligen ADI angesehen wurden; **Dosen abhängig von Woche 1-> 104: 0,06 % im Futter (entsprechend 71->19 mg/kg KG und Tag); 0,2 % im Futter (entsprechend 201->77 mg/kg KG und Tag); 0,6 % im Futter (entsprechend 545->257 mg/kg KG und Tag); m männlich; w weiblich; ALT Alanin-Aminotransferase, AST Aspartat-Aminotransferase, ASP alkalische Phosphatase, CAT Catalase, LPO Lipidperoxide, GST Glutathiontransferase, GSH Glutathion, MDA Malondialdehyd; ^a entspricht 2.794-6.596 mg/kg KG und Tag; ^b entspricht 3 mg/ml; ^c entspricht 0,1 mg/ml; ^d weitere Effektdosen: 0,2%, 0,6%; ^e weitere Effektdosis: 500 mg/kg KG und Tag; ^f weitere Effektdosis: 100 mg/kg KG und Tag; ^g entspricht 0,3 mg/ml; ^h weitere Effektdosis: 70 mg/kg KG und Tag; ⁱ entspricht 8 mg/ml

3.3 Für die Bewertung möglicher Kombinationswirkungen relevante Effekte

Die Auswertung der Studien unter Einbeziehung der Bewertungsberichte des SCF, des JECFA und der EFSA sowie weiterer relevanter Studien zu den identifizierten Effekten der ausgewählten Süßungsmittel zeigte, dass mehrere der untersuchten Süßungsmittel vergleichbare Wirkungen im Zielsystem *Nieren und ableitende Harnwege* ausüben. Um die Relevanz einer möglichen Kombinationswirkung verschiedener Süßungsmittel auf das gleiche Zielorgan bewerten zu können, wurde ein Bewertungsansatz mit zwei verschiedenen Expositionsszenarien gewählt (siehe 3.3.1).

Darüber hinaus lieferte die Literaturrecherche Hinweise, dass verschiedene Süßungsmittel auch im Hodengewebe und im Gastrointestinaltrakt sowie auf die Reproduktion, und auf biochemische Parameter im Blut, in der Leber und in lymphatischen Organen jeweils ähnliche Wirkungen ausüben. Die derzeitige Datenlage im Hinblick auf die betrachteten Effekte wird jedoch als nicht ausreichend belastbar angesehen, um eine mögliche Kombinationswirkung verschiedener Süßungsmittel zu bewerten (siehe 3.3.2).

Zur Bewertung der gesundheitlichen Relevanz von gleichen bzw. ähnlichen Wirkungen, die verschiedene Substanzen auf ein Zielorgan/-system bei kombinierter Verwendung (Exposition) potenziell entfalten könnten, wurde zunächst angenommen, dass die Exposition gegenüber den einzelnen Süßungsmitteln jeweils dem betreffenden ADI-Wert entspricht. Die mögliche Gesamtexposition (combined exposure) gegenüber den jeweils betrachteten Süßungsmitteln würde in diesem Szenario der Summe dieser Expositionswerte entsprechen.

Zu bestimmten betrachteten Effekten wurden mit verschiedenen Süßungsmitteln unterschiedlich hohe LOELs in derselben Tierart identifiziert. Das deutet darauf hin, dass die Süßungsmittel hinsichtlich der betrachteten Effekte unterschiedliche toxische Potenz aufweisen. Deshalb wurden für jeden betrachteten Effekt Gewichtungsfaktoren (auch bekannt als „potency factors“ oder „toxic equivalency factors“) für die Süßungsmittel berechnet, mit denen die jeweiligen Expositionswerte (die in dem angenommenen Szenario dem jeweiligen ADI-Wert entsprechen) dann zur Berechnung einer gewichteten Exposition (weighted exposure) multipliziert wurden. Zur Ermittlung der gewichteten Gesamtexposition (weighted combined exposure) wurden die gewichteten Expositionswerte der betrachteten Süßungsmittel addiert, wobei unterstellt wurde, dass die betreffenden Wirkungen rein additiv sind.

Zur Risikobewertung wurde die gewichtete Gesamtexposition mit der geringsten Dosis eines Süßungsmittels verglichen, bei der der betrachtete Effekt auftrat. Dazu wurde für jeden betrachteten Effekt der Margin of Safety (MoS) als Quotient aus dem geringsten LOEL und der gewichteten Gesamtexposition berechnet.

3.3.1 Effekte in Niere und Harnblase

Die Verabreichung der Süßungsmittel Sucralose, Na-Saccharin und Aspartam führte in Ratten zu einer erhöhten Inzidenz einer Hyperplasie des Nierenbeckenepithels bzw. zu einer verstärkten Mineralisierung des Nierenbeckens. Zusätzlich wurde nach Gabe von Na-Saccharin eine erhöhte Inzidenz für das Auftreten einer Hyperplasie des Harnblasenepithels beobachtet. Vergleichbare Effekte in der Harnblase wurden bei den anderen untersuchten Süßungsmitteln nicht festgestellt. Darüber hinaus wurden veränderte Kreatinin-, Harnstoff- und Albumingehalte im Blut der Ratten berichtet, die Na-Saccharin, CHA oder Aspartam erhielten. Zudem konnten vereinzelt Änderungen des pH-Wertes und der Mineralstoffkonzentration im Urin nach Süßungsmittelverabreichung festgestellt werden.

Für Acesulfam K und Steviolglykoside wurden keine derartigen Effekte in der Niere beschrieben. Im Hinblick auf die Befunde in der Niere nach CHA-Verabreichung wurde keine Dosis-Wirkungs-Beziehung festgestellt.

Die Datenlage wurde nur im Hinblick auf *Hyperplasie und Mineralisierung im Nierenbecken* für den hier angewandten Bewertungsansatz als ausreichend belastbar angesehen (Tabelle 2). Die weiteren renalen und urologischen Effekte, die nach Süßungsmittelverabreichung beobachtet wurden (Tabelle 3), werden nicht in die Bewertung einbezogen.

Die niedrigste Effektdosis für das Auftreten von Mineralisierungen im Nierenbeckenepithel wurde für Na-Saccharin mit 500 mg/kg KG und Tag festgestellt. Aspartam und Sucralose zeigten den gleichen Effekt bei Gabe von 2.000 bzw. 900 mg/kg KG und Tag im gleichen Tiermodell. Bei einer Kombination von Sucralose, Na-Saccharin und Aspartam bei Annahme einer vollständigen Ausschöpfung des ADI wurde eine ungewichtete Gesamtexposition von 60 mg/kg KG und Tag ermittelt. Aufgrund der unterschiedlich hohen Potenz der Süßungsmittel Sucralose, Na-Saccharin und Aspartam in Bezug auf den betrachteten auftretenden Effekt *Mineralisierung im Nierenbeckenepithel* beträgt demnach die gewichtete Gesamtexposition 23,25 mg/kg KG und Tag. Unter der Annahme der niedrigsten Effektdosis von 500 mg/kg KG und Tag für Na-Saccharin fällt der Abstand zur möglichen gewichteten Gesamtexposition in diesem Expositionsszenario geringer aus (Faktor 21,5), als wenn die Effektdosis und der jeweilige abgeleitete ADI jedes einzelnen Süßungsmittels betrachtet werden würde (Tabelle 8).

Hinsichtlich einer verstärkt auftretenden *Hyperplasie im Nierenbecken* wurden 200 mg/kg KG und Tag Sucralose als die niedrigste Effektdosis identifiziert. Bei Verabreichung von 8.000 mg/kg KG und Tag Aspartam zeigte sich im gleichen Tiermodell ebenfalls eine verstärkt auftretende Hyperplasie im Nierenbecken. Bei einer vollständigen Ausschöpfung des ADI kann durch die kombinierte Aufnahme von Sucralose und Aspartam von einer ungewichteten Gesamtexposition von 55 mg/kg KG und Tag ausgegangen werden. Bei Annahme der niedrigsten Effektdosis von 200 mg/kg KG und Tag für Sucralose ist der Abstand zur theoretisch möglichen gewichteten Gesamtexposition von 16 mg/kg KG und Tag weitaus geringer (Faktor 12,5), als wenn die Effektdosis und der jeweilige abgeleitete ADI jedes einzelnen Süßungsmittels betrachtet werden würde (Tabelle 9).

Tabelle 8: Bewertungsansatz zu Effekt „Mineralisierung im Nierenbeckenepithel“ nach Verabreichung von Süßungsmitteln.

Süßungsmittel (ADI in mg/kg KG und Tag)	LOEL* in mg/kg KG und Tag	Gewichtungsfaktor ^a	Gewichtete Exposition ^b in mg/kg KG und Tag	Abstand zwischen ADI und LOEL	Tiermodell	Referenz
Sucralose (15)	900	500/900=0,55	8,25	60	Ratte	Mann <i>et al.</i> 2000
Na-Saccharin (5)	<u>500</u>	500/500= 1	5	100	Ratte	Schoenig <i>et al.</i> 1985 ^c
Aspartam (40)	2.000	500/2.000=0,25	10	50	Ratte	EFSA 2013 (Ishii <i>et al.</i> 1981)

Expositionsszenario: Annahme einer Kombinationswirkung der Süßungsmittel

Ungewichtete Gesamtexposition	Niedrigster LOEL*	Gewichtete Gesamtexposition	Abstand zwischen gewichteter Gesamtexposition und niedrigstem LOEL
60 mg/kg KG und Tag	<u>500 mg/kg KG und Tag</u>	23,25 mg/kg KG und Tag	21,5

* als LOEL (und nicht als LOAEL) angegeben, weil der beschriebene Effekt von den Bewertungsgremien als nicht relevant für die Ableitung der jeweiligen ADI angesehen wurde; ^a Abschätzung der Exposition unter Annahme, dass die Exposition gegenüber den einzelnen Süßungsmitteln jeweils dem betreffenden ADI-Wert entspricht, Gewichtungsfaktor berücksichtigt unterschiedlich hohe Potenz des einzelnen Süßungsmittels bzgl. des identifizierten Effekts; ^b Berechnung aus Gewichtungsfaktor x ADI-Wert des entsprechenden Süßungsmittels; ^c u.a. Schlüsselstudie zur Ableitung ADI: LOAEL ≥ 1.500 mg/kg KG und Tag für Na-Saccharin (Ratte): Störung der allg. Homöostase

Tabelle 9: Bewertungsansatz zu Effekt „Hyperplasie im Nierenbeckenepithel“ nach Verabreichung von Süßungsmitteln.

Süßungsmittel (ADI in mg/kg KG und Tag)	LOEL* in mg/kg KG und Tag	Gewichtungsfaktor ^a	Gewichtete Exposition ^b in mg/kg KG und Tag	Abstand zwischen ADI und LOEL	Tiermodell	Referenz
Sucralose (15)	<u>200</u>	200/200=1	15	13	Ratte	Mann <i>et al.</i> 2000
Aspartam (40)	8000	200/8.000=0,025	1	200	Ratte	EFSA 2013 (E33-34) ^c

Expositionsszenario: Annahme einer Kombinationswirkung der Süßungsmittel

Ungewichtete Gesamtexposition	Niedrigster LOEL*	Gewichtete Gesamtexposition	Abstand zwischen gewichteter Gesamtexposition und niedrigstem LOEL
55 mg/kg KG und Tag	<u>200 mg/kg KG und Tag</u>	16 mg/kg KG und Tag	12,5

* als LOEL (und nicht als LOAEL) angegeben, weil der beschriebene Effekt von den Bewertungsgremien als nicht relevant für die Ableitung der jeweiligen ADI angesehen wurde; ^a Abschätzung der Exposition unter Annahme, dass die Exposition gegenüber den einzelnen Süßungsmitteln jeweils dem betreffenden ADI-Wert entspricht, Gewichtungsfaktor berücksichtigt unterschiedlich hohe Potenz des einzelnen Süßungsmittels bzgl. des identifizierten Effekts; ^b Berechnet sich aus Gewichtungsfaktor x ADI-Wert des entsprechenden Süßungsmittels; ^c u.a. Schlüsselstudie zur Ableitung ADI: LOAEL 8.000 mg/kg KG und Tag Aspartam (Ratte)

3.3.2 Weitere Effekte

3.1.3.1 Effekte im Hodengewebe

Es wurden Studien identifiziert, die in denen unerwünschte gesundheitliche Effekte nach Verabreichung von Cyclohexylamin (CHA), ein Metabolit von Cyclamat, sowie von Aspartam und Na-Saccharin im Hodengewebe beobachtet wurden (**Tabelle 4**).

Die Verabreichung von CHA führte in Ratten zur Reduktion des Hodengewichts und zu Störungen in der Spermienentwicklung und -funktion bei Dosen ≥ 150 mg/kg KG und Tag. Bei Mäusen und Hunden wurden die Effekte erst bei höheren CHA-Dosen festgestellt. Im Vergleich zu Mäusen haben Ratten eine stärkere Fähigkeit, CHA zu dessen Ring-hydroxylierten Derivaten (3- oder 4-Aminocyclohexanol) zu metabolisieren. Die CHA-Metabolite wurden jedoch nicht für die testikulären Effekte in Ratten verantwortlich gemacht, und es wird von einer direkten Beeinflussung durch CHA, wahrscheinlich auf die Sertolizellen, in Ratten ausgegangen (Roberts *et al.* 1989; Creasy *et al.* 1990). Ratten weisen eine höhere Empfindlichkeit in Bezug auf die CHA-induzierten testikulären Effekte im Vergleich zu Mäusen auf, bei denen die Änderungen im Hodengewebe erst bei Dosen um 300 mg/kg KG und Tag auftraten, was sich möglicherweise durch unterschiedliche Pharmakokinetiken von CHA in den genannten Spezies begründen ließe (Hardy *et al.* 1976; Roberts *et al.* 1989).

In männlichen Ratten erhöhte die Verabreichung von Aspartam über das Futter die Inzidenz einer Bläschendrüsentröpfung, wobei keine eindeutige Dosisabhängigkeit festgestellt werden konnte. Weitere Effekte von Aspartam auf das Hodengewebe oder auf die Spermienfunktion wurden in dem Gutachten der EFSA nicht beschrieben (EFSA 2013).

Gong *et al.* beobachteten adverse gesundheitliche Effekte im Hodengewebe in Mäusen nach Verabreichung von Na-Saccharin, aber auch nach Saccharose (Gong *et al.* 2016). In den Stellungnahmen des SCF und JECFA, die als Grundlage für die Zulassung des Süßungsmittels dienen, wurden indes keine Effekte hinsichtlich einer Beeinträchtigung der Spermienqualität und -funktion sowie Änderung der Hodenmorphologie nach Aufnahme von Na-Saccharin beschrieben (JECFA 1993; SCF 1995). Im Gegensatz zu den Studien, die für die Bewertung und zur Ableitung des ADI vom SCF und JECFA berücksichtigt wurden und keine unerwünschten gesundheitlichen Wirkungen im Hodengewebe zeigten, ist die Studie von Gong *et al.* nicht nach OECD-Testvorschriften durchgeführt worden.

Die Datenlage im Hinblick auf unerwünschte gesundheitliche Effekte im Hodengewebe nach Verabreichung von Süßungsmitteln ist demnach nur für CHA aussagekräftig (die Studien wurden größtenteils nach OECD-Testvorschriften durchgeführt, eine Dosis-Wirkungsbeziehung ist vorhanden).

Es wurde daher keine Bewertung im Hinblick auf eine mögliche Kombinationswirkung von verschiedenen Süßungsmitteln auf das Hodengewebe vorgenommen.

3.1.3.2 Effekte auf das Reproduktionssystem

Im Rahmen der Literaturrecherche und Durchsicht der SCF-, JECFA- und EFSA-Stellungnahmen zu den einzelnen Süßungsmitteln wurden insbesondere nach Verabreichung hoher Dosen von Cyclohexylamin (CHA) bzw. Natriumcyclamat, Na-Saccharin und Aspartam negative gesundheitliche Effekte in Bezug auf die Reproduktionsfähigkeit und postnatale Entwicklung beobachtet (Tabelle 5).

Bopp *et al.* schlussfolgerten, dass die negativen gesundheitlichen Effekte auf das Körpergewicht der Nachkommen nach der maternalen Aufnahme von CHA ein Resultat des reduzierten Körpergewichtsanstiegs und der geringeren Futteraufnahme der Muttertiere ist (Bopp *et al.* 1986).

Die EFSA führte ebenfalls die Änderung des Ernährungszustands der Muttertiere nach Aufnahme hoher Aspartamdosen als mögliche Ursache für das geringere Geburtsgewicht und die erhöhte Sterberate der Nachkommen an. Zudem werden maternale gastrointestinale Beschwerden und ein potentieller Effekt von Phenylalanin als Faktoren genannt (EFSA 2013).

Bis zu 10 % des aufgenommenen Aspartams wird im Körper zu Methanol umgewandelt. Durch schrittweise Oxidation wird Methanol über Formaldehyd zu Formiat umgewandelt. Über Folat- und Katalase-abhängige Enzyme, bei Menschen nur über Folat-abhängige Signalwege, wird Formiat dann zu Kohlenstoffdioxid umgewandelt (Dikalova *et al.* 2001; Hanzlik *et al.* 2005). Die EFSA geht davon aus, dass die Exposition gegenüber Methanol durch die Aufnahme von Aspartam im ADI-Bereich (40 mg/kg KG und Tag) keine negativen gesundheitlichen Wirkungen hat. Begründet wird dies durch die geringe Konzentration von Methanol im Blut bei Ausschöpfung des ADI von Aspartam in einer Menge von 40 mg/kg KG und Tag im Vergleich zur Methanolkonzentration, die natürlicherweise vom Körper produziert wird. Die EFSA geht davon aus, dass die durch Aspartamaufnahme entstehende Methanolexposition der Menge entspricht, die aus Lebensmitteln bzw. natürlichen Quellen aufgenommen wird. Negative gesundheitliche Effekte durch die ernährungsbedingte Exposition gegenüber Methanol, z. B. aus Aspartam, sind laut der EFSA nicht zu erwarten (EFSA 2013).

Auch die reproduktionstoxischen Effekte in Mäusen nach Verabreichung von 5 % (entsprechend 2.500 mg/kg KG und Tag) Na-Saccharin werden als Folge der erhöhten Mortalität und reduzierten Wasseraufnahme der Elterntiere diskutiert. In den Tieren, die geringere Na-Saccharindosen (1,25 % und 2,5 %) erhielten, traten keine reproduktionstoxischen Effekte auf, und die Wasseraufnahme war indes erhöht (NTP 1997).

Die beobachteten Effekte auf die Reproduktionsfähigkeit und (post)natale Entwicklung der Nachkommen nach Verabreichung hoher Dosen der Süßungsmittel Na-Saccharin, Cyclamat (CHA) und Aspartam können als indirekte Effekte angesehen werden, die durch die Änderung des physiologischen Status der Elterntiere (u. a. geringere Futteraufnahme der Muttertiere, erhöhte Mortalität und reduzierte Wasseraufnahme) entstehen. Flamm *et al.* begründeten die Veränderungen des Körpergewichts bzw. der Körpergewichtszunahme als sekundäre Antwort auf eine verminderte Schmackhaftigkeit des Futters durch den Einsatz hoher Mengen an Süßungsmitteln im Futter (Flamm *et al.* 2003).

Die beobachteten Effekte auf die Reproduktion und (post)natale Entwicklung wurden daher nicht im Hinblick auf eine mögliche Kombinationswirkung von Süßungsmitteln bewertet.

3.1.3.2 Effekte im Gastrointestinaltrakt

Für die untersuchten Süßungsmittel wurden Effekte auf das Zäkumgewicht und auf das intestinale Mikrobiom im Tiermodell, insbesondere bei Nagern, beobachtet.

Eine Übertragbarkeit von entsprechenden tierexperimentellen Befunden zu Wirkungen auf das Zäkum aus Nagermodellen auf den Menschen ist schwierig. So ist im Vergleich zu Nagern das Zäkum beim Menschen nur ein kleiner Abschnitt des Dickdarms und besitzt keine bzw. kaum Fermentationseigenschaften (Nguyen *et al.* 2015). Allgemein existieren zahlreiche anatomische und morphologische Unterschiede zwischen dem Gastrointestinaltrakt von Mensch, Maus und Ratte (Kararli 1995). Eine Vergrößerung des Zäkums in Nagerspezies kann eine

physiologische Antwort nach Verabreichung hoher Mengen von diversen Substanzen (z. B. Polyolen, Ballaststoffe, Laktose, modifizierte Stärke), die schlecht absorbiert werden und osmotisch aktiv sind, sein (Wallig 2018). Eine Bewertung der Effekte im Gastrointestinaltrakt (Veränderung des Zäkums; des intestinalen Mikrobioms) im Hinblick auf eine mögliche Kombinationswirkung von Süßungsmitteln ist aufgrund der Komplexität der beteiligten physiologischen Prozesse und der heterogenen Datenlage nicht möglich.

3.1.3.4 *Veränderungen biochemischer Parameter*

Für die Süßungsmittel Acesulfam K, Cyclohexylamin (CHA), Saccharin und Aspartam wurden Effekte auf hämatologische Parameter festgestellt (Tabelle 6). Die Datenlage zu den identifizierten Parametern ist jedoch sehr heterogen, und es zeigte sich kein konsistentes Bild, z. B. im Hinblick auf die Änderungen der Hämoglobingehalte oder des Erythrozytenvolumens.

Darüber hinaus wurden Tierstudien identifiziert, in denen die Verabreichung der Süßungsmittel Sucralose, CHA, Saccharin und Aspartam die Gehalte verschiedener biochemischer Parameter (z. B. Entzündungsparameter) im Blut, in der Leber und in den lymphatischen Organen Milz und Thymus veränderte (Tabelle 7).

Aufgrund der geringen Aussagekraft und Belastbarkeit der Ergebnisse in Bezug auf die klinische Relevanz sowie der heterogenen Studienlage und -qualität (die Studien wurden größtenteils nicht nach OECD-Testvorschriften durchgeführt) wurden diese Befunde nicht im Hinblick auf eine mögliche Kombinationswirkung von Süßungsmitteln bewertet.

3.4 Diskussion zur Übertragbarkeit der tierexperimentellen Befunde im Nierengewebe auf den Menschen

Mit dem hier angewandten Bewertungsansatz hat das BfR untersucht, ob sich aus der vorhandenen Datenlage, speziell aus Tierstudien, Hinweise auf gesundheitliche Risiken durch die kombinierte Verwendung relevanter Süßungsmittel ergeben. Die Betrachtungen wurden am Beispiel der kombinierten Verwendung von in nichtalkoholischen Erfrischungsgetränken verwendeten Süßungsmitteln durchgeführt. Dazu wurden primär drei Fragestellungen bearbeitet:

- (1) Lassen sich aus den Einzelstoffbewertungen des SCF und der EFSA, die im Rahmen der Zulassung von Süßungsmitteln als Zusatzstoffe in der EU durchgeführt wurden, Hinweise auf Kombinationswirkungen finden?
- (2) Sind dabei ermittelte Effektdosen für die Bewertung gesundheitlicher Risiken durch Kombinationswirkungen für den Menschen relevant?
- (3) Führen eventuell identifizierte Kombinationswirkungen zu gesundheitlichen Bedenken?

Als toxikologische Datenbasis wurden insbesondere die für die Zulassung als Zusatzstoff in der EU herangezogenen tierexperimentellen Daten aus den Einzelstoffbewertungen des SCF, der EFSA und des JECFA berücksichtigt. Basierend auf den daraus identifizierten Effekten erfolgte eine weitere Literaturrecherche (auf dem Stand des Jahres 2020), wobei aufgrund der hohen Zahl an Publikationen keine Vollständigkeit angestrebt wurde. In die Betrachtung wurden zum einen Toxizitätsstudien einbezogen, die größtenteils nach OECD-Prüfvorschriften durchgeführt wurden. Zum anderen wurden auch Studien in die Bewertung eingeschlossen, deren Kriterien nicht den OECD-Prüfvorschriften entsprechen, die jedoch für den identifizierten Effekt relevant erschienen.

Im Rahmen des hier vorgestellten Bewertungsansatzes wurde in Tierstudien an Ratten nach Verabreichung der Süßungsmittel Sucralose, Saccharin und Aspartam die Niere und die ableitenden Harnwege als mögliches gemeinsames Zielorgan für die Effekte *Hyperplasie* und *Mineralisierung im Nierenbecken* identifiziert. Die Datenlage aus den tierexperimentellen Studien wurde für diese Effekte als ausreichend belastbar für die hier vorgenommene vergleichende Bewertung angesehen. Hinsichtlich der anderen betrachteten Effekte wurde die Datenlage für eine Beurteilung möglicher Kombinationswirkungen verschiedener Süßungsmittel als nicht ausreichend belastbar angesehen. Deshalb wurden die Effekte *Hyperplasie* und *Mineralisierung im Nierenbecken* hier nur exemplarisch weiter betrachtet.

3.4.1 Diskussion der tierexperimentellen Befunde in der Niere und den ableitenden Harnwegen

Die Effekte in den ableitenden Harnwegen und bezüglich renaler Parameter wurden insbesondere im Tiermodell beobachtet. Allgemein lässt sich eine hohe Inzidenz spontaner Läsionen in den Harnwegen bei Studien zu chronischen Wirkungen bei Ratten feststellen (Magnusson & Ramsay 1971; Robertson 1980). Tomonari *et al.* benennen die altersabhängigen Mineralablagerungen in den Fornices der Nieren beispielsweise als häufigen Befund in der Kontrollgruppe, der nach zwei Studienjahren bei 27 % der männlichen und bei 82 % der weiblichen Ratten auftritt (Tomonari *et al.* 2016).

Die Ratte scheint hier allgemein und auch nach Verabreichung von hohen Süßungsmitteldosen in Bezug auf adverse gesundheitliche Effekte in der Niere und den Harnwegen empfindlicher zu reagieren als andere Spezies. Die männliche Ratte hat beispielsweise aufgrund der anatomischen Gegebenheiten des Blasenhalsses im Vergleich zu anderen Spezies ein erhöhtes Risiko für Steinretention (Chowaniec & Hicks 1979). Im Falle von Na-Saccharin zeigten Fukushima *et al.* (1983) sowohl Unterschiede zwischen den Spezies als auch zwischen einzelnen Rattenstämmen. Saccharindosen ≥ 2.500 mg/kg KG und Tag führten bei Ratten, nicht jedoch bei Mäusen, Hamstern und Meerschweinchen zu verstärktem Auftreten von Läsionen in der Harnblase und Veränderungen des Urothels (Fukushima *et al.* 1983).

Als eine Ursache für das Auftreten der adversen gesundheitlichen Effekte in der Harnblase männlicher Ratten werden die hohen Gehalte an α_2 -Globulinen im Urin diskutiert. Garland *et al.* verweisen auf die potentielle Rolle von α_2 -Globulin in Bezug auf eine stärkere Präzipitation von Na-Saccharinkristallen im Urin und auf Änderungen urinärer Parameter und der Blasenmorphologie nach Verabreichung von Na-Saccharin in männlichen Ratten (JECFA 1993; Garland *et al.* 1994). Der SCF kam jedoch in seiner Stellungnahme zu dem Schluss, dass α_2 -Globuline nicht die einzige Ursache für die auftretenden Effekte sind (SCF 1995).

Im Falle von Na-Saccharin kann auch die hohe Aufnahme von Natrium das Gleichgewicht des Mineralhaushaltes ändern. Schoenig *et al.* beobachteten nach Verabreichung von Natriumhippurat im Vergleich zu Na-Saccharin Neoplasien in der Harnblase (Schoenig *et al.* 1985).

Das Auftreten von Hyperplasien im Nierenbecken kann auch damit begründet werden, dass das Nierenbeckenepithel auf Mineralien in kristalliner Form häufig mit physiologischer Hyperplasie reagiert (Lord & Newberne 1990). Mann *et al.* nehmen an, dass die Mineralisierung als primärer Effekt im histologischen Bild sichtbar erscheint, wenn kristalline Strukturen im Nierenbeckenepithel festsitzen. Laut den Autoren stehen die Mineralienablagerungen im Nierenbecken (z. B. als Nephrocalcinose) nicht im direkten Zusammenhang mit mineralischen Ablagerungen im Nierenparenchym oder einer auftretenden Mineralisierung der renalen

Basalmembran und sind dementsprechend nicht mit einem erhöhten Risiko für die Entwicklung einer Nephropathie verbunden (Mann *et al.* 2000).

Gleichwohl können vermehrt auftretende kristalline Strukturen das Blasenepithel reizen, zum Zelltod führen, mitotische Aktivität des Epithels stimulieren und einen chronischen proliferativen Status auslösen (Lord & Newberne 1990). Der SCF nannte in seiner Stellungnahme zu Saccharin hohe Natriumionenkonzentrationen, erhöhte pH-Werte des Urins, Dehnung der Harnblase, Abnahme der urinären Osmolalität sowie Kristallurie als mögliche Ursachen für eine vermehrte Zellproliferation (SCF 1995).

Es wurde eine Assoziation zwischen auftretenden Hyperplasien und Mineralisierungen des Nierenbeckenepithels und einer Hypertrophie des Zäkums in Ratten nach Süßungsmittelgabe festgestellt (Lord & Newberne 1990; Mann *et al.* 2000). Leegwater *et al.* benannten die nicht oder nur zum Teil absorbierbaren Substanzen als Ursache für die Zäkumvergrößerung (Leegwater *et al.* 1974). Das Auftreten von Hyperplasien und Mineralisierungen des Nierenbeckenepithels nach Gabe hoher Dosen Sucralose und anderen Substanzen (z. B. Laktose, Xylitol) wird im Zusammenhang mit einer Vergrößerung des Zäkums als mögliche Reaktion auf die verringerte Absorption und lange Verweildauer dieser Stoffe im Darm diskutiert. Die Effekte in Niere und Harnwege könnten demnach auch eine sekundäre Antwort auf die Änderung des physiologischen Status der Tiere darstellen (u. a. Verschiebung des pH-Werts und der Elektrolytzusammensetzung im Urin, die mikrobielle Zusammensetzung und das Enzymprofil im Darm, Änderungen im Wassertransport und Calcium-Phosphat-Stoffwechsel, der Anteil osmotisch aktiver Stoffe) (Chowaniec & Hicks 1979; Lord & Newberne 1990).

Im Rahmen der Literaturrecherche wurden Studien identifiziert, die Effekte der Süßungsmittel auf den Gastrointestinaltrakt beschreiben. Die betrachteten Süßungsmittel haben bis auf Aspartam und Steviolglykoside die Gemeinsamkeit, dass der größte Anteil nach Aufnahme wieder über den Fäzes oder über den Urin unverändert ausgeschieden wird. Die osmotische Aktivität der Süßungsmittel im intestinalen Trakt kann zu einer Erhöhung des intraluminalen Drucks und zu einer kompensatorischen Dehnung des Zäkums führen. Darüber hinaus gelangen nicht-absorbierbare Substanzen vom Dünndarm in den Dickdarm und können von Darmbakterien verwertet werden. Die dabei entstehenden niedermolekularen Metabolite verändern zusätzlich die Osmolalität (Leegwater *et al.* 1974). Mehrfach traten bei Tieren, denen Süßungsmittel verabreicht wurden, Symptome wie Polydipsie, Polyurie und Diarrhoe auf (Chowaniec & Hicks 1979; Schoenig & Anderson 1985; Anderson *et al.* 1988; JECFA 1991b; Goldsmith 2000; Palmnäs *et al.* 2014).

Ob ein mechanistischer Zusammenhang zwischen den Effekten auf das Nierenbeckenepithel und der Zäkumvergrößerung besteht, ist bisher nicht abschließend geklärt. Es kann jedoch davon ausgegangen werden, dass eine Änderung des Wasser- und Elektrolythaushaltes nach Süßungsmittelaufnahme Auswirkungen auf das renale System haben könnte. Die Verabreichung von Na-Saccharin, Cyclohexylamin (CHA) und Aspartam führte zu Änderungen der Kreatinin-, Harnstoff- und Albuminserumgehalte (Gaunt *et al.* 1976; Palmnäs *et al.* 2014; Saleh 2014; Adaramoye & Akanni 2016; Amin *et al.* 2016). Anderson *et al.* beobachteten nach Saccharinverabreichung in Ratten erhöhte Harnstoffwerte und reduzierte Ammoniak-Gehalte im Urin und diskutierten die Hemmung der Urease-Aktivität von *Proteus vulgaris* durch Saccharin als eine mögliche mechanistische Ursache (Anderson 1979; Anderson & Kirkland 1980). Des Weiteren wurden Änderungen des pH-Wertes und der Calcium- und Phosphatexkretion nach Süßungsmittelaufnahme beobachtet (Ishii *et al.* 1981; Anderson *et al.* 1988).

Die Aussagekraft der Änderungen renaler Parameter (z. B. Harnstoff oder Albumin) in Bezug auf die Nierenfunktion ist aufgrund der zahlreichen abhängigen Faktoren aus toxikologischer

Sicht bei der derzeitigen Datenlage nur gering. Dennoch können sie einen Hinweis auf das Vorliegen einer renalen Dysfunktion geben (Kluwe 1981).

3.4.2 Befunde im Nierengewebe aus Humandaten

In epidemiologischen Studien wurde der Zusammenhang zwischen der Aufnahme von Süßungsmitteln und der Entwicklung von Nierenfunktionsstörungen bzw. Blasenkrebs untersucht. In elf Fallkontrollstudien wurde eine positive Assoziation zwischen der erhöhten Aufnahme von Süßungsmitteln (künstlich und nicht-nutritiv) und der Entwicklung von Krebs in der Blase oder in den Harnwegen beobachtet. Im Gegensatz dazu zeigten 20 Assoziationsstudien keinen Zusammenhang (Lohner *et al.* 2017). Insbesondere die humane Relevanz der Effekte von Saccharin in Bezug auf die Entwicklung von Blasenkrebs in der Ratte wird zum Beispiel von Bell *et al.* und Cohen *et al.* kontrovers diskutiert (Bell *et al.* 2002; Cohen 2018).

Die hier betrachteten Effekte (*Mineralisierungen und Hyperplasie im Nierenbecken von Ratten*) wurden von den internationalen Bewertungsgremien als spezifisch für das Tiermodell Ratte und damit als für die Bewertung gesundheitlicher Risiken wenig relevant angesehen. Allerdings können Verschiebungen des Mineral- und Wasserhaushalts ein Ungleichgewicht im renalen System und im Harntrakt hervorrufen. Insbesondere die Kristallbildung und -retention können entscheidende Faktoren für die Entstehung von Nierensteinen beim Menschen darstellen (Aihara *et al.* 2003; Baumann *et al.* 2010). Wong *et al.* haben auf die hohe Inzidenz und Prävalenz von Blasenkrebs und Nierenfunktionsstörungen mit teilweise unbekannter Ätiologie, insbesondere bei sensiblen Bevölkerungsgruppen (Menschen hohen Alters, Menschen mit Diabetes mellitus etc.), hingewiesen (Wong *et al.* 2018).

3.4.3 Fazit und Handlungsempfehlungen

In der Regel basiert der ADI-Wert jedes einzelnen Süßungsmittels auf der Dosis, bei der keine unerwünschten gesundheitlichen Effekte im Tiermodell auftraten (NOAEL). Unsicherheiten bei der Übertragung der Studienergebnisse vom Tier auf den Menschen und individuelle Unterschiede werden jeweils durch einen Faktor berücksichtigt. Der Quotient aus NOAEL und ADI beträgt in der Regel 100.

Unter der Voraussetzung, dass

- für die betrachteten Effekte eine additive Wirkung besteht,
- die Exposition jeweils der betreffenden akzeptablen täglichen Aufnahmemenge (ADI) entspricht und
- Wichtungsfaktoren für die unterschiedliche toxikologische Potenz der drei Süßungsmittel angewendet werden,

würde die kombinierte Aufnahme der drei Süßungsmittel Sucralose, Saccharin und Aspartam dazu führen, dass zwischen der Dosis, bei der in Rattenstudien *Mineralisierungen im Nierenbecken* auftraten, und der gewichteten Gesamtexposition nur ein Faktor (bzw. „Abstand“) von 21,5 besteht (Tabelle 8). Im Vergleich dazu wäre der „Abstand“ zwischen der Effektdosis und dem jeweiligen ADI bei separater Betrachtung der betreffenden Süßungsmittel bei Sucralose 60, bei Saccharin 100 und bei Aspartam 50. Die kombinierte Aufnahme würde somit dazu führen, dass der „Abstand“ geringer ist als bei separater Betrachtung. Ein ähnliches Bild zeigt sich bei der Betrachtung des Effekts *Hyperplasie im Nierenbeckenepithel* von Ratten bei kombinierter Aufnahme der Süßungsmittel Sucralose und Aspartam (Tabelle 9).

Die Beispiele zeigen, dass Kombinationseffekte prinzipiell auftreten können. Sofern es sich dabei um toxikologisch relevante Effekte handelt, könnte die langfristige tägliche Aufnahme von Sucralose, Saccharin und Aspartam bei der angenommenen Exposition in Höhe des jeweiligen ADI bei kombinierter Verwendung möglicherweise nicht mehr als gesundheitlich unbedenklich angesehen werden.

Die betrachteten Effekte (*Mineralisierungen und Hyperplasie im Nierenbecken von Ratten*) wurden von den internationalen Bewertungsgremien für die Risikobewertung der drei Süßungsmittel als wenig relevant angesehen. Das BfR weist jedoch darauf hin, dass Verschiebungen des Mineral- und Wasserhaushalts ein Ungleichgewicht im renalen System und im Harntrakt hervorrufen können. Insbesondere die Kristallbildung und -retention können entscheidende Faktoren für die Entstehung von Nierensteinen beim Menschen darstellen. Insofern lassen sich Effekte in den Nieren und ableitenden Harnwegen, die bei kombinierter Verwendung der drei Süßungsmittel potenziell auftreten könnten, aus Sicht des BfR auf der Basis der derzeit verfügbaren Daten nicht abschließend bewerten.

Wie bereits beschrieben wurde die Datenlage zu den anderen betrachteten Effekten (Hodengewebe, Reproduktionssystem, Gastrointestinaltrakt, Veränderungen biochemischer Parameter im Blut, in der Leber und in lymphatischen Organen) für eine vergleichende Bewertung von Kombinationswirkungen als nicht ausreichend belastbar angesehen.

Eine Tierstudie, in der mehrere Süßungsmittel kombiniert und parallel dazu auch separat verabreicht werden, wäre für die Beurteilung von potenziellen Kombinationswirkungen sehr hilfreich.

Aktuelle Expositionsschätzungen in Deutschland zur Aufnahme von Süßungsmitteln über nichtalkoholische Erfrischungsgetränke und weitere Produktgruppen liegen derzeit nicht vor. Inwieweit die Werte für die akzeptable tägliche Aufnahmemenge (ADI) der einzelnen Süßungsmittel in Deutschland ausgeschöpft oder womöglich sogar schon überschritten werden, ist demnach derzeit nicht bekannt. Es ist aber zu erwarten, dass eine vermehrte Verwendung von Süßungsmitteln im Rahmen der NRI-Strategie zu einer Zunahme der Exposition gegenüber diesen Süßungsmitteln führt. Insofern erscheint es ratsam, vor einer eventuellen Ausweitung der Verwendung von Süßungsmitteln die aktuelle Exposition für die Verbraucherinnen und Verbraucher in Deutschland zu ermitteln.

Weitere Informationen auf der BfR-Website zum Thema Süßungsmittel:

https://www.bfr.bund.de/de/a-z_index/suessstoffe-5018.html



„Stellungnahmen-App“ des BfR

4 Referenzen

Adaramoye O. A. and Akanni O. O. (2016). Effects of long-term administration of aspartame on biochemical indices, lipid profile and redox status of cellular system of male rats. *Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology* **27**: 29-37.

- Aihara K., Byer K. J., Khan S. R. (2003). Calcium phosphate-induced renal epithelial injury and stone formation: involvement of reactive oxygen species. *Kidney International* **64**: 1283-1291.
- Alkafafy Mel S., Ibrahim Z. S., Ahmed M. M., El-Shazly S. A. (2015). Impact of aspartame and saccharin on the rat liver: Biochemical, molecular, and histological approach. *International Journal of Immunopathology and Pharmacology* **28**: 247-255.
- Amin K. A., Al-muzafar H. M., Abd Elsttar A. H. (2016). Effect of sweetener and flavoring agent on oxidative indices, liver and kidney function levels in rats. *Indian Journal of Experimental Biology* **54**: 56-63.
- Anderson R. L. (1979). Response of male rat to sodium saccharin ingestion: urine composition and mineral balance. *Food and Cosmetics Toxicology* **17**: 195-200.
- Anderson R. L. and Kirkland J. J. (1980). The effect of sodium saccharin in the diet on caecal microflora. *Food and Cosmetics Toxicology* **18**: 353-355.
- Anderson R. L., Lefever F. R., Maurer J. K. (1988). The effect of various saccharin forms on gastro-intestinal tract, urine and bladder of male rats. *Food Chemistry and Toxicology* **26**: 665-669.
- Baumann J. M., Affolter B., Meyer R. (2010). Crystal sedimentation and stone formation. *Urological Research* **38**: 21-27.
- Bell W., Clapp R., Davis D., Epstein S., Farber E., Fox D. A., Holub B., Jacobson M. F., Lijinsky W., Millstone E., Reuber M. D., Suzuki D., Temple N. J. (2002). Carcinogenicity of saccharin in laboratory animals and humans: letter to Dr. Harry Conacher of Health Canada. *Int J Occup Environ Health* **8**: 387-393.
- Bian X., Chi L., Gao B., Tu P., Ru H., Lu K. (2017a). Gut Microbiome Response to Sucralose and Its Potential Role in Inducing Liver Inflammation in Mice. *Frontiers in Physiology* **8**: 487.
- Bian X., Tu P., Chi L., Gao B., Ru H., Lu K. (2017b). Saccharin induced liver inflammation in mice by altering the gut microbiota and its metabolic functions. *Food Chemistry and Toxicology* **107**: 530-539.
- Bopp B. A., Sonders R. C., Kesterson J. W., Renwick A. G. (1986). Toxicological aspects of cyclamate and cyclohexylamine. *Critical Reviews in Toxicology* **16**: 213-306.
- Brune H. and Mohr U. (1978). Establishment of the no-effect dosage of cyclohexylamine hydrochloride in male Sprague-Dawley rats with respect to growth and testicular atrophy. Unpublished report from Abbott Laboratories, Ltd (cited in Bopp et al. 1986 and in Twenty-sixth report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, 1982).
- Chowaniec J. and Hicks R. M. (1979). Response of the rat to saccharin with particular reference to the urinary bladder. *British Journal of Cancer* **39**: 355-375.
- Cohen S. M. (2018). Screening for human urinary bladder carcinogens: two-year bioassay is unnecessary. *Toxicology Research* **7**: 565-575.
- Creasy D. M., Ford G. R., Gray T. J. (1990). The morphogenesis of cyclohexylamine-induced testicular atrophy in the rat: in vivo and in vitro studies. *Experimental and Molecular Pathology* **52**: 155-169.

- Dhurandhar D., Bharihoke V., Kalra S. (2018). A histological assessment of effects of sucralose on liver of albino rats. *Morphologie* **102**: 197-204.
- Dikalova A. E., Kadiiska M. B., Mason R. P. (2001). An in vivo ESR spin-trapping study: free radical generation in rats from formate intoxication--role of the Fenton reaction. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **98**: 13549-13553.
- EFSA (European Food Safety Authority: Scientific Panel on Food Additives and Nutrient Sources added to Food (ANS)) (2010). Scientific Opinion on the safety of steviol glycosides for the proposed uses as a food additive. *EFSA Journal* **8(4)**: 1537.
- EFSA (European Food Safety Authority: Scientific Panel on Food Additives and Nutrient Sources added to Food (ANS)) (2013). Scientific Opinion on the re-evaluation of aspartame (E 951) as a food additive. *EFSA Journal* **11(12)**: 3496.
- Finamor I., Perez S., Bressan C. A., Brenner C. E., Rius-Perez S., Brittes P. C., Cheiran G., Rocha M. I., da Veiga M., Sastre J., Pavanato M. A. (2017). Chronic aspartame intake causes changes in the trans-sulphuration pathway, glutathione depletion and liver damage in mice. *Redox Biology* **11**: 701-707.
- Flamm W. G., Blackburn G. L., Comer C. P., Mayhew D. A., Stargel W. W. (2003). Long-term food consumption and body weight changes in neotame safety studies are consistent with the allometric relationship observed for other sweeteners and during dietary restrictions. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* **38**: 144-156.
- Friedman L., Richardson H. L., Richardson M. E., Lethco E. J., Wallace W. C., Sauro F. M. (1972). Toxic response of rats to cyclamates in chow and semisynthetic diets. *Journal of the National Cancer Institute* **49**: 751-764.
- Fukushima S., Arai M., Nakanowatari J., Hibino T., Okuda M., Ito N. (1983). Differences in susceptibility to sodium saccharin among various strains of rats and other animal species. *Gan* **74**: 8-20.
- Garland E. M., Shapiro R., Kraft P. L., Mattson B. J., Parr J. M., Cohen S. M. (1991). Effects of in utero and postnatal sodium saccharin exposure on the nutritional status of the young rat. II. Dose response and reversibility. *Food Chemistry and Toxicology* **29**: 669-679.
- Garland E. M., St John M., Asamoto M., Eklund S. H., Mattson B. J., Johnson L. S., Cano M., Cohen S. M. (1994). A comparison of the effects of sodium saccharin in NBR rats and in intact and castrated male F344 rats. *Cancer Letters* **78**: 99-107.
- Gaunt I. F., Sharratt M., Grasso P., Lansdown A. B., Gangolli S. D. (1974). Short-term toxicity of cyclohexylamine hydrochloride in the rat. *Food and Cosmetics Toxicology* **12**: 609-624.
- Gaunt I. F., Hardy J., Grasso P., Gangolli S. D., Butterworth K. R. (1976). Long-term toxicity of cyclohexylamine hydrochloride in the rat. *Food and Cosmetics Toxicology* **14**: 255-267.
- Goldsmith L. A. (2000). Acute and subchronic toxicity of sucralose. *Food and Chemical Toxicology* **38**: S53-S69.

- Gong T., Wei Q. W., Mao D. G., Nagaoka K., Watanabe G., Taya K., Shi F. X. (2016). Effects of Daily Exposure to Saccharin and Sucrose on Testicular Biologic Functions in Mice. *Biology of Reproduction* **95**: 116.
- Grice H. C. and Goldsmith L. A. (2000). Sucralose - An overview of the toxicity data. *Food and Chemical Toxicology* **38**: S1-S6.
- Hanzlik R. P., Fowler S. C., Eells J. T. (2005). Absorption and elimination of formate following oral administration of calcium formate in female human subjects. *Drug Metabolism and Disposition* **33**: 282-286.
- Hardy J., Gaunt I. F., Hooson J., Hendy R. J., Butterworth K. R. (1976). Long-term toxicity of cyclohexylamine hydrochloride in mice. *Food and Cosmetics Toxicology* **14**: 269-276.
- Ishii H., Koshimizu T., Usami S., Fujimoto T. (1981). Toxicity of aspartame and its diketopiperazine for Wistar rats by dietary administration for 104 weeks. *Toxicology* **21**: 91-94.
- James R. W., Heywood R., Crook D. (1981). Testicular responses of rats and dogs to cyclohexylamine overdose. *Food and Cosmetics Toxicology* **19**: 291-296.
- JECFA (Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives) (1982). Toxicological evaluation of certain food additives. Twenty-sixth report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. *WHO Food Additives Series No. 17*.
- JECFA (Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives) (1991a). Toxicological evaluation of certain food additives and contaminants. The thirty-seventh report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. *WHO Food Additives Series No. 28*.
- JECFA (Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives) (1991b). Evaluation of certain food additives and contaminants. Thirty-seventh report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. *WHO Technical Report Series No. 806*.
- JECFA (Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives) (1993). Evaluation of certain food additives and contaminants. Forty-first report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. *WHO Technical Report Series No. 837*.
- Johnsen S. G. (1970). Testicular biopsy score count--a method for registration of spermatogenesis in human testes: normal values and results in 335 hypogonadal males. *Hormones* **1**: 2-25.
- Kararli T. T. (1995). Comparison of the gastrointestinal anatomy, physiology, and biochemistry of humans and commonly used laboratory animals. *Biopharmaceutics & Drug Disposition* **16**: 351-380.
- Kluwe W. M. (1981). Renal function tests as indicators of kidney injury in subacute toxicity studies. *Toxicology and Applied Pharmacology* **57**: 414-424.
- Kroes R., Peters P. W., Berkvens J. M., Verschuuren H. G., de Vries T., van Esch G. J. (1977). Long term toxicity and reproduction study (including a teratogenicity study) with cyclamate, saccharin and cyclohexylamine. *Toxicology* **8**: 285-300.
- Leegwater D. C., de Groot A. P., van Kalmthout-Kuyper M. (1974). The aetiology of caecal enlargement in the rat. *Food and Cosmetics Toxicology* **12**: 687-697.

- Lohner S., Toews I., Meerpohl J. J. (2017). Health outcomes of non-nutritive sweeteners: analysis of the research landscape. *Nutrition Journal* **16**: 55.
- Lord G. H. and Newberne P. M. (1990). Renal mineralization--a ubiquitous lesion in chronic rat studies. *Food Chemistry and Toxicology* **28**: 449-455.
- Magnuson B. A., Burdock G. A., Doull J., Kroes R. M., Marsh G. M., Pariza M. W., Spencer P. S., Waddell W. J., Walker R., Williams G. M. (2007). Aspartame: a safety evaluation based on current use levels, regulations, and toxicological and epidemiological studies. *Critical Reviews in Toxicology* **37**: 629-727.
- Magnusson G. and Ramsay C. H. (1971). Urolithiasis in the rat. *Laboratory Animals* **5**: 153-162.
- Mann S. W., Yuschak M. M., Amyes S. J. G., Aughton P., Finn J. P. (2000). A combined chronic toxicity/ carcinogenicity study of sucralose in sprague-dawley rats. *Food and Chemical Toxicology* **38**: S71-S89.
- Murasaki G. and Cohen S. M. (1981). Effect of dose of sodium saccharin on the induction of rat urinary bladder proliferation. *Cancer Research* **41**: 942-944.
- Nguyen T. L., Vieira-Silva S., Liston A., Raes J. (2015). How informative is the mouse for human gut microbiota research? *Disease Models & Mechanisms* **8**: 1-16.
- NTP (U.S. National Toxicology Program) (1997). Reproductive toxicology. Sodium saccharin. *Environmental Health Perspectives* **105 Suppl 1**: 347-348.
- Oser B. L., Carson S., Cox G. E., Vogin E. E., Sternberg S. S. (1976). Long-term and multigeneration toxicity studies with cyclohexylamine hydrochloride. *Toxicology* **6**: 47-65.
- Palmnäs M. S., Cowan T. E., Bomhof M. R., Su J., Reimer R. A., Vogel H. J., Hittel D. S., Shearer J. (2014). Low-dose aspartame consumption differentially affects gut microbiota-host metabolic interactions in the diet-induced obese rat. *PLoS One* **9**: e109841.
- Prasad O. and Rai G. (1987). Haematological abnormalities induced by feeding a common artificial sweetener, saccharin, in ICR Swiss mice. *Toxicology Letters* **36**: 81-88.
- Prokic M. D., Paunovic M. G., Matic M. M., Djordjevic N. Z., Ognjanovic B. I., Stajn A. S., Saicic Z. S. (2014). Prooxidative effects of aspartame on antioxidant defense status in erythrocytes of rats. *J Biosci* **39**: 859-866.
- Renwick A. G. (1986). The metabolism of intense sweeteners. *Xenobiotica* **16**: 1057-1071.
- Roberts A., Renwick A. G., Ford G., Creasy D. M., Gaunt I. (1989). The metabolism and testicular toxicity of cyclohexylamine in rats and mice during chronic dietary administration. *Toxicology and Applied Pharmacology* **98**: 216-229.
- Robertson J. L. (1980). Spontaneous Bladder and Kidney Lesions in Young Rats. *Toxicologic Pathology* **8**: 9-13.
- Saad S. (2017). A Histological Study of the Effect of Aspartame Versus Sucralose on the Spleen of Adult Male Albino Rats. *The Egyptian Journal of Anatomy* **40**: 107-119.
- Saleh A. A. S. (2014). Synergistic effect of N-acetylcysteine and folic acid against aspartame-induced nephrotoxicity in rats. **2**: 363-373.

- SCF (European Commission: Scientific Committee for Food) (1995). Opinion on saccharin and its sodium, potassium and calcium salts (expressed on 2 June 1995). *ANNEX III TO DOCUMENT III/5157/97 CS/ADD/EDUL/148-FINAL*. February 1997.
https://ec.europa.eu/food/sites/food/files/safety/docs/sci-com_scf_7_out26_en.pdf.
- SCF (European Commission: Scientific Committee on Food) (2000a). Revised opinion on cyclamic acid and its sodium and calcium salts (Expressed on 9 March 2000). *SCF/CS/EDUL/192 final*. 13 March 2000.
https://ec.europa.eu/food/sites/food/files/safety/docs/sci-com_scf_out53_en.pdf.
- SCF (European Commission: Scientific Committee on Food) (2000b). Opinion Re-evaluation of acesulfame K with reference to the previous SCF opinion of 1991 (Expressed on 9 March 2000). *SCF/CS/ADD/EDUL/194 final*. 13 March 2000.
https://ec.europa.eu/food/sites/food/files/safety/docs/sci-com_scf_out52_en.pdf.
- SCF (European Commission: Scientific Committee on Food) (2000c). Opinion of the Scientific Committee on Food on sucralose (Adopted by the SCF on 7 September 2000). *SCF/CS/ADD/EDUL/190 Final*. 12/9/2000.
https://ec.europa.eu/food/sites/food/files/safety/docs/sci-com_scf_out68_en.pdf.
- Schoenig G. P. and Anderson R. L. (1985). The effects of high dietary levels of sodium saccharin on mineral and water balance and related parameters in rats. *Food Chemistry and Toxicology* **23**: 465-474.
- Schoenig G. P., Goldenthal E. I., Geil R. G., Frith C. H., Richter W. R., Carlborg F. W. (1985). Evaluation of the dose response and in utero exposure to saccharin in the rat. *Food Chemistry and Toxicology* **23**: 475-490.
- Tomonari Y., Kurotaki T., Sato J., Doi T., Kokoshima H., Kanno T., Tsuchitani M., Seely J. C. (2016). Spontaneous Age-related Lesions of the Kidney Fornices in Sprague-Dawley Rats. *Toxicologic Pathology* **44**: 226-232.
- wafg (Wirtschaftsvereinigung Alkoholfreie Getränke e.V.) (2018). wafg-Branchenbeitrag: Kalorienreduktion um 15 Prozent bei Erfrischungsgetränken. *Presseinformation*
- Wallig Matthew A. (2018). Chapter 15 - Digestive System. In *Fundamentals of Toxicologic Pathology (Third Edition)*, Wallig M. A., Haschek W. M., Rousseaux C. G., Bolon B. (eds), pp 395-442. Academic Press,
- Wong M. C. S., Fung F. D. H., Leung C., Cheung W. W. L., Goggins W. B., Ng C. F. (2018). The global epidemiology of bladder cancer: a joinpoint regression analysis of its incidence and mortality trends and projection. *Scientific Reports* **8**: 1129.

Über das BfR

Das Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR) ist eine wissenschaftlich unabhängige Einrichtung im Geschäftsbereich des Bundesministeriums für Ernährung und Landwirtschaft (BMEL). Es berät die Bundesregierung und die Bundesländer zu Fragen der Lebensmittel-, Chemikalien- und Produktsicherheit. Das BfR betreibt eigene Forschung zu Themen, die in engem Zusammenhang mit seinen Bewertungsaufgaben stehen.