

今回の28日反復投与試験においては、雌雄で副腎重量が増加し、剖検の結果、副腎は高用量群の少数例で腫大や暗色化がみられ、さらに病理組織学的検査では、副腎皮質細胞の肥大が認められた。これはエストロゲン作用によるコルチコイドの生合成抑制ならびに肝臓でのコルチコイドの分解促進等により、血中コルチコイド濃度の低下が起こり、このフィードバックのために下垂体からACTHが分泌されるためと説明されている。今回の試験においては、コルチコイド濃度の変化は捉え得なかったが、雄の個体別の成績を見ると、各群の中間の動物番号の動物が比較的低値を示している様に考えられる。これは、採血順が関係し、ストレスによるコルチコイドの増加がノイズとなって被験物質の影響をかくしてしまった可能性も考えられる。

エストロゲンによって閉経期のヒトやラットで肝内胆汁鬱滞が起こることが知られている<sup>14,17)</sup>。本試験においては、肝臓に病理組織学的所見は認められなかったものの、血液生化学所見においてALP活性の増加がみられたことは、この所見を裏づけるものと考えられる。TraunerやKoopenの報告においては鬱滞の発現用量は5 mg/kgであり<sup>15,17)</sup>、本試験でALP活性の増加がみられた48 µg/kgとは100倍以上の開きがある。

今回の28日反復投与試験では、雄における下垂体重量の増加ならびにプロラクチン濃度の増加がみられた。Cliftonらはエストロゲンの皮下投与によって下垂体におけるプロラクチン分泌細胞の増加を認めており<sup>18)</sup>、本試験においても病理組織学的には著変はなかったものの、下垂体におけるプロラクチン分泌の増加があったものと考えられる。雄においては、エストラジオール濃度の増加傾向もみられたものの、テストステロン濃度には変化はみられず、病理組織学検査の結果、精巣、精巣上体および前立腺に被験物質投与によると思われる変化は認められなかった。精子検査の結果にも変化は認められなかった。

一方、雌のホルモン濃度、生殖器重量には変化はみられなかったが、病理組織学的には、卵巣における卵胞の閉鎖の亢進や黄体数の低下、子宮の内膜および筋層の肥大が用量依存的に認められた。さらに、これらのうち変化の著明な例では黄体のルテイン細胞の肥大、子宮腔上皮細胞や乳腺腺房細胞の過形成が認められたほか、他のほとんどの例でみられた子宮腔上皮細胞や子宮腺上皮細胞における細胞残層を含む空胞化ならびに子宮内膜および筋層の好酸球浸潤が減少する傾向にあった。また、膣では上皮の角化が観察される例数が減少しており、粘液細胞化のみ認められた例もあった。新生児期のマウスにエストロゲンを投与すると膣上皮の持続性増殖と角化ならびに子宮上皮の不可逆な多層化と角化が認められることが知られている<sup>11,19)</sup>。また、胎児期にエチニルエストラジオールを投与されたラットでは、卵巣における変性卵胞の増加、子宮内膜の扁平上皮化を伴う増殖、卵胞の閉鎖の亢進、膣上皮の各化の亢進等が認められたことが報告されている<sup>21)</sup>。今回の病理組織学検査においては、子宮内膜および筋層の肥大は軽度で、膣上皮の角化傾向に減少がみられている。これらの動物では、下垂体からのプロラクチン分泌が亢進され、黄体が維持されたことから、この黄体からのプロジェステロンの作用によって子宮、膣や乳腺における変化が引き起こされたものと考えられる。中山らの成績は100 µg/kgを上回る投与量で

の成績であり<sup>4)</sup>、全身的な変化も本試験よりはるかに強い。本試験における所見はエストロゲンの弱いが継続的な作用に対する二次的な反応が認められたものと判断される。性周期観察の結果、48  $\mu\text{g}/\text{kg}$  投与群では発情期がまったく現れなかった動物が2例認められた。臼井らによれば、エチニルエストラジオールの反復投与により、性周期観察で連続間期像や連続発情期像の混在を認めており、本試験におけるこの2例の変化は、被験物質のエストロゲン作用に基づくものと判断される。

以上に記載した通り、強化407プロトコールに従った今回の試験によって、エチニルエストラジオールの反復経口投与によるエストロゲン作用を、大筋において確認することが可能であった。

【参考文献】

- 1) Messiha,F.S.: Effect of pharmacologic interventions on aldehyde dehydrogenase in the rat testicles. *Journal of Applied Toxicology*. 1: 297-299 (1981)
- 2) McGinty,D.A.: Some chemical and biological properties of 19-nor-17  $\alpha$  - ethynyltestosterone. *Annals of the New York Academy of Science*. 71: 500-515 (1958)
- 3) Watnick,A.S., Gibson,J., Vinagra,M. et al.: Ethynyl estradiol: A potent orally active contraceptive in rats. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*. 116 : 343-347 (1964)
- 4) 中山隆治、臼井哲夫、堀内敏ら : Ethinylestradiol および hexestrol のラットにおける亜急性毒性試験. *薬理と治療*. 7: 3340-3354 (1979)
- 5) 臼井哲夫、中山隆治、堀内敏ら : Hexestrol, ethinylestradiol および estriol 3-benzoate 16,17-diacetate のラットにおける長期投与の影響. *薬理と治療*. 7: 3355-3372 (1979)
- 6) Wallentin,L., Varenhorst,E.: Cholesterol ester metabolism in plasma during estrogen and antiandrogen treatment in men with carcinoma of the prostate. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*. 98 906-916 (1981)
- 7) Haarbo,J., Hassager,C., Jensen,S.B., et al.: Serum lipids, lipoproteins, and apolipoproteins during postmenopausal estrogen replacement therapy combined with either 19-nortestosterone derivatives or 17-hydroxyprogesterone derivatives. *American Journal of Medicine*. 90: 584-589 (1991)
- 8) Fewster,M.E., Pirrie,R.E., Turner,D.A.: Effect of estradiol benzoate on lipid metabolism in the rat. *Endocrinology*. 80: 263-271 (1967)
- 9) Hay,R.V., Pottenger,L.A., Reingold,A.L., et al.: Degradation of I125 labelled serum low density lipoprotein in normal and estrogen-treated male rats. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 44: 1471-1477 (1971)

- 10) Davis, R.A., Roheim, P.S.: Pharmacologically induced hypolipidemia. *Atherosclerosis*. 30: 293-299 (1978)
- 11) Merola, A.J., Arnold, A.: Estrone inhibition of cholesterol biosynthesis at the mevalonic acid stage. *Science*. 144: 301-302 (1964)
- 12) Eriksson, M., Berglund, L., Rudling, M., et al.: Effects of estrogen on low density lipoprotein metabolism in males. *Journal of Clinical Investigations*. 84: 802-810 (1989)
- 13) Ke, H.Z., Chen, H.K., Simmons, H.A., et al.: Comparative effects of droloxifene, tamoxifen, and estrogen on bone, serum cholesterol, and uterine histology in the ovariectomized rat model. *Bone*. 20: 31-39 (1997)
- 14) Bossard, R., Stieger, B., O'Neill, B., et al.: Ethinylestradiol treatment induces multiple canalicular membrane transport alterations in rat liver. *Journal of Clinical Investigations*. 91: 2714-2720 (1993)
- 15) Trauner, M., Arrese, M., Soroka, C.J., et al.: A molecular basis for jaundice in intrahepatic and extrahepatic cholestasis. *Hepatology*. 26: 1682-1684 (1997)
- 16) Trauner, M., Arrese, M., Soroka, C.J., et al.: The rat canalicular conjugate export pump (Mrp2) is down-regulated in intrahepatic and obstructive cholestasis. *Gastroenterology*. 113: 255-264 (1997)
- 17) Koopen, N.R., Wolters, H., Havinga, R., et al.: Impaired activity of the bile canalicular organic anion transporter (Mrp2/cmoat) is not the main cause of ethinylestradiol-induced cholestasis in the rat. *Hepatology*. 27: 537-545 (1998)
- 18) Clifton, K.H., Meyer, R.K.: Mechanism of anterior pituitary tumor induced by estrogen. *Anatomical Record*. 125: 65-81 (1956)
- 19) Takasugi, N.: Vaginal cornification in persistent-estrous mice. *Endocrinology*. 72: 607-619 (1963)
- 20) Kimura, T., Basu, S.L., Nandi, S.: Nature of induced persistent vaginal cornification

in mice. 1. Effect of neonatal treatment with various doses of steroids. *Journal of Experimental Zoology*. 165: 71-88 (1967)

21) Yasuda, Y., Kihara, T., Nishimura, H.: Effect of prenatal treatment with ethinyl estradiol on the mouse uterus and ovary. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. 127: 832-836 (1977)

Table 1-1

Twenty-eight-day repeat dose oral toxicity study of ethinylestradiol in rats

Body weight changes in males

Group	Body weight(g)										
	Day of dosing period										
	1	4	8	11	15	18	22	25	28		
Control	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	251.6	277.4	309.7	331.0	358.7	376.3	399.8	413.9	426.7	413.9	426.7
	9.0	12.4	16.2	24.0	29.0	30.9	36.6	41.4	46.7	41.4	46.7
3 $\mu$ g/kg	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	254.3	274.7	306.9	325.3	353.1	371.2	395.5	411.7	423.8	411.7	423.8
	8.3	10.2	14.3	17.6	22.1	24.4	28.3	28.6	31.3	28.6	31.3
12 $\mu$ g/kg	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	251.7	271.8	297.1	316.0	339.1	355.3	375.1	387.9	398.1	387.9	398.1
	7.9	9.8	15.3	16.0	19.7	19.4	21.3	23.3	24.9	23.3	24.9
48 $\mu$ g/kg	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	251.3	271.4	300.6	320.7	344.3	360.6	381.7	392.1	401.1	392.1	401.1
	6.2	7.2	10.1	11.8	16.2	19.6	21.5	23.4	24.4	23.4	24.4

Parameter, number of animals

mean

S.D.

Table 1-2

Twenty-eight-day repeat dose oral toxicity study of ethinylestradiol in rats

Body weight changes in females

Group	Body weight(g)										
	Day of dosing period										
	1	4	8	11	15	18	22	25	28		
Control	189.2	200.4	214.2	221.6	232.3	242.8	252.1	258.4	263.4		
	5.6	6.8	9.1	12.3	14.0	14.1	16.3	16.8	18.6		
3 $\mu$ g/kg	188.4	197.0	208.2	218.2	226.9	233.1	242.0	248.4	254.0		
	3.7	6.1	10.3	8.8	9.9	12.8	15.0	14.8	15.4		
12 $\mu$ g/kg	188.3	195.0	205.0	212.2	221.6	228.9	239.9	245.2	250.9		
	7.9	8.6	13.6	15.6	19.4	22.5	26.9	29.0	31.0		
48 $\mu$ g/kg	185.3**	192.7**	202.9**	210.4**	221.1**	226.1*	233.9**	238.4**	243.9*		
	7.0	7.9	8.8	11.6	10.7	11.8	10.4	12.5	13.4		

Parameter number of animals

mean

S.D.

\*, significantly different from control,  $p < 0.05$ \*\*, significantly different from control,  $p < 0.01$

Table 2-1

## Twenty-eight-day repeat dose oral toxicity study of ethinylestradiol in rats

## Estrous cycle in females; CMC Na(vehicle control)

Animal no.	Stage														Mean length (days)
	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33			
41	D	P	E	D	D	P	E	D	DS					4.0	
42	E	E	D	D	P	E	D	DS						4.0	
43	E	D	D	P	E	D	D	P	E	D	DS			4.0	
44	E	E	D	D	P	E	D	DS						4.0	
45	D	D	P	E	D	D	P	E	D	DS				4.0	
46	E	E	D	D	D	E	D	DS						4.0	
47	E	E	D	D	P	E	D	DS						4.0	
48	E	D	D	D	E	D	D	P	E	D	DS			4.0	
49	E	E	D	D	P	E	D	DS						4.0	
50	E	E	D	D	P	E	D	DS						4.0	
Mean														4.0	
±S.D.														0.0	

D, diestrus; P, proestrus; E, estrus

S, sacrifice



Table 2-2

Twenty-eight-day repeat dose oral toxicity study of ethinylestradiol in rats

Estrous cycle in females; ethinylestradiol, 3  $\mu$ g/kg

Animal no.	Stage												Mean length (days)
	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	
51	D	D	P	E	D	D	P	E	D	DS			4.0
52	E	D	D	D	E	D	D	P	E	D	DS		4.0
53	E	E	D	D	P	E	D	DS					4.0
54	E	E	D	D	P	E	D	DS					4.0
55	D	D	E	D	D	P	E	D	DS				4.0
56	E	D	D	D	E	D	D	P	E	D	DS		4.0
57	D	E	E	D	D	D	E	E	D	DS			5.0
58	D	D	D	D	E	E	E	D	DS				
59	E	D	D	D	E	D	D	P	D	D	DS		
60	E	D	D	D	E	D	D	E	D	D	DS		4.0
Mean													4.1
$\pm$ S.D.													0.5

D, diestrus; P, proestrus; E, estrus  
S, sacrifice

Table 2-3

Twenty-eight-day repeat dose oral toxicity study of ethinylestradiol in rats

Estrous cycle in females; ethinylestradiol, 12  $\mu$ g/kg

Animal no.	Stage														Mean length (days)
	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33			
61	E	D	D	D	E	D	D	D	E	D	DS			4.0	
62	E	D	D	D	E	D	D	D	E	D	DS			4.0	
63	E	D	D	D	D	D	D	D	DS						
64	D	D	P	E	E	D	P	E	D	DS					
65	E	D	D	D	E	D	D	D	E	D	DS			4.0	
66	D	D	E	D	D	P	E	D	DS					4.0	
67	E	D	D	D	E	D	D	D	E	D	DS			4.0	
68	D	D	E	E	D	D	D	E	D	DS				4.0	
69	D	D	E	E	D	D	D	E	E	D	DS			5.0	
70	E	E	D	D	D	E	D	DS						4.0	
Mean														4.1	
$\pm$ S.D.														0.4	

D, diestrus; P, proestrus; E, estrus  
S, sacrifice

Table 2-4

Twenty-eight-day repeat dose oral toxicity study of ethinylestradiol in rats

Estrous cycle in females; ethinylestradiol, 48  $\mu$ g/kg

Animal no.	Stage												Mean length (days)
	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	
71	D	P	D	D	D	E	E	D	DS				
72	D	D	D	D	D	D	P	D	P	D	DS		4.0
73	E	D	D	P	E	D	D	D	E	D	DS		4.0
74	E	E	D	D	P	E	D	DS					4.0
75	D	D	D	E	E	D	D	D	E	D	DS		4.0
76	D	E	D	D	P	E	D	DS					4.0
77	D	D	D	D	E	D	D	D	E	D	DS		4.0
78	D	P	E	D	D	D	D	D	DS				5.0
79	D	E	D	D	D	E	D	D	DS				4.0
80	E	D	D	D	E	D	D	D	E	D	DS		4.1
Mean													4.1
$\pm$ S.D.													0.4

D, diestrus; P, proestrus; E, estrus  
S, sacrifice

Table 3-1

## Twenty-eight-day repeat dose oral toxicity study of ethinylestradiol in rats

## Serum hormone levels in males

Group	LH (ng/mL)	FSH (ng/mL)	Prolactin (ng/mL)	Oestradiol (pg/mL)	Testosterone (ng/mL)	Corticosterone (ng/mL)
Control	10	10	10	0	10	8
	13.6	313	62	N.D.	2.82	137
3 $\mu$ g/kg	1.7	40	20	-	1.83	119
	10	10	10	0	10	9
12 $\mu$ g/kg	15.7	305	67	N.D.	3.49	65
	3.2	53	22	-	2.75	66
48 $\mu$ g/kg	10	10	10	1	10	7
	13.5	282	83	11	4.17	80
48 $\mu$ g/kg	3.9	68	65	-	2.21	97
	10	10	10	3	10	10
48 $\mu$ g/kg	12.9	310	162	**	2.59	49
	2.9	99	72	5	1.34	45
Parameter, number of animals						
mean						
S.D.						

\*\*, significantly different from control,  $p < 0.01$

Table 3-2

Twenty-eight-day repeat dose oral toxicity study of ethinylestradiol in rats

Serum hormone levels in females						
Group	LH (ng/mL)	FSH (ng/mL)	Prolactin (ng/mL)	Oestradiol (pg/mL)	Corticosterone (ng/mL)	
Control	10 13.1 2.3	10 210 57	10 37 41	6 17 8	10 413 278	
3 $\mu$ g/kg	10 10.9 * 1.6	10 230 37	10 34 16	3 17 5	9 243 140	
12 $\mu$ g/kg	10 13.4 1.7	10 251 60	10 44 21	4 18 5	10 235 138	
48 $\mu$ g/kg	10 13.0 1.5	10 300 139	10 55 67	2 15 -	10 306 221	
Parameter,	number of animals					
	mean					
	S.D.					

\*, significantly different from control,  $p < 0.05$

Table 4-1

## Twenty-eight-day repeat dose oral toxicity study of ethinylestradiol in rats

## Hematological findings in males

Group	RBC		Hemoglobin		Hematocrit		MCV ( $\mu\text{m}^3$ )	MCH (pg)	MCHC (%)	WBC ( $\times 100/\text{mm}^3$ )	Segmented neutrophil			Eosinophil (%)	Basophil (%)	Monocyte (%)	Lymphocyte (%)	Platelet ( $\times 10^4/\text{mm}^3$ )	PT (sec)	
	( $\times 10^4/\text{mm}^3$ )	(g/dL)	(%)	(%)	(%)	(%)					(%)	(%)	(%)							(%)
Control	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	705	13.9	40.0	56.9	19.7	34.7	82	0	9	1	0	5	85	90.8	11.4	5	85	90.8	11.4	5
3 $\mu\text{g}/\text{kg}$	28	0.3	1.0	1.8	0.7	0.4	19	0	4	1	0	2	6	5.5	0.4	2	6	5.5	0.4	2
	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
12 $\mu\text{g}/\text{kg}$	698	13.9	39.3	56.4	19.9	35.4 **	87	0	10	0	0	5	85	100.0	11.6	5	85	100.0	11.6	5
	18	0.4	1.5	1.7	0.6	0.5	20	0	5	1	0	3	7	23.7	0.3	3	7	23.7	0.3	3
48 $\mu\text{g}/\text{kg}$	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	705	14.0	40.1	57.0	19.8	34.9	85	0	10	1	0	4	86	87.5	11.9 *	4	86	87.5	11.9 *	4
48 $\mu\text{g}/\text{kg}$	36	0.4	1.3	1.5	0.6	0.4	12	0	4	1	0	3	4	10.1	0.3	3	4	10.1	0.3	3
	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
48 $\mu\text{g}/\text{kg}$	711	13.9	39.8	56.1	19.6	34.9	80	0	10	1	0	5	85	86.9	12.3 **	5	85	86.9	12.3 **	5
	17	0.4	1.1	1.8	0.7	0.3	15	0	5	1	0	2	7	9.1	0.6	2	7	9.1	0.6	2

Parameter, number of animals

mean

S.D.

\*, significantly different from control,  $p < 0.05$ \*\*, significantly different from control,  $p < 0.01$

Table 4-2

Twenty-eight-day repeat dose oral toxicity study of ethinylestradiol in rats

Hematological findings in females															
Group	RBC ( $\times 10^4/\text{mm}^3$ )	Hemoglobin (g/dL)	Hematocrit (%)	MCV ( $\mu\text{m}^3$ )	MCH (pg)	MCHC (%)	WBC ( $\times 100/\text{mm}^3$ )	Band neutrophil (%)	Segmented neutrophil (%)	Eosinophil (%)	Basophil (%)	Monocyte (%)	Lymphocyte (%)	Platelet ( $\times 10^4/\text{mm}^3$ )	PT (sec)
Control	10 685 19	10 13.2 0.5	10 38.5 1.1	10 56.2 1.2	10 19.3 0.6	10 34.4 0.5	10 58 17	10 0 0	10 11 5	10 1 1	10 0 0	10 3 2	10 86 6	10 95.8 3.7	10 11.5 0.5
3 $\mu\text{g}/\text{kg}$	10 672 26	10 13.2 0.6	10 38.0 1.7	10 56.6 1.7	10 19.6 0.7	10 34.6 0.5	10 56 16	10 0 0	10 12 4	10 0 1	10 0 0	10 2 1	10 85 5	10 90.1 9.1	10 11.7 0.4
12 $\mu\text{g}/\text{kg}$	10 679 15	10 13.2 0.4	10 38.6 1.2	10 56.9 1.3	10 19.5 0.5	10 34.3 0.6	10 72 38	10 0 0	10 9 4	10 0 1	10 0 0	10 2 2	10 89 5	10 89.6 6.3	10 12.2 * 0.7
48 $\mu\text{g}/\text{kg}$	10 679 25	10 12.9 0.4	10 37.8 1.3	10 55.8 2.1	10 19.0 0.7	10 34.1 0.6	10 64 33	10 0 0	10 9 4	10 0 * 0	10 0 0	10 3 2	10 88 4	10 90.2 7.8	10 12.5 ** 0.8

Parameter, number of animals

mean

S.D.

\*, significantly different from control,  $p < 0.05$ \*\*, significantly different from control,  $p < 0.01$

Table 5-1

## Twenty-eight-day repeat dose oral toxicity study of ethinylestradiol in rats

## Biochemical findings in males

Group	Total protein (g/dL)	Albumin (g/dL)	A/G	BUN (mg/dL)	Creatinine (mg/dL)	Glucose (mg/dL)	Total cholesterol (mg/dL)	Tri-glyceride (mg/dL)	ALP (U/L)	LDH (U/L)	GPT (U/L)	GOT (U/L)	$\gamma$ -GTP (U/L)	Inorg. phos. (mg/dL)	Ca (mg/dL)	Na (mEq/L)	K (mEq/L)	Cl (mEq/L)
Control	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	5.9	3.3	1.29	18	0.6	166	58	146	582	118	38	60	0	5.9	9.2	143.5	4.11	106.0
	0.2	0.1	0.10	4	0.0	20	6	25	82	30	4	4	0	0.3	0.3	0.8	0.21	1.3
3 $\mu$ g/kg	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	5.8	3.2	1.26	18	0.6	168	46**	204	556	136	36	58	0	6.3	9.3	143.3	4.13	106.1
	0.2	0.2	0.19	2	0.1	15	5	63	71	65	7	6	0	0.3	0.2	0.7	0.26	1.7
12 $\mu$ g/kg	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	5.8	3.2	1.28	16	0.6	168	40**	295**	600	151	34	54	0	5.9	9.4	142.7	4.17	107.2
	0.3	0.1	0.18	2	0.1	16	6	76	52	64	5	3	0	0.6	0.2	1.0	0.30	1.4
48 $\mu$ g/kg	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	6.0	3.2	1.19	16	0.7	169	34**	255**	672*	188	37	57	0	5.7	9.4	143.1	4.00	105.9
	0.2	0.1	0.12	2	0.1	27	6	77	95	106	5	6	0	0.8	0.3	1.5	0.34	1.1

Parameter, number of animals  
mean  
S.D.\*, significantly different from control,  $p < 0.05$ \*\*, significantly different from control,  $p < 0.01$



Table 5-2

## Twenty-eight-day repeat dose oral toxicity study of ethinylestradiol in rats

## Biochemical findings in females

Group	Total protein (g/dL)	Albumin (g/dL)	A/G	BUN (mg/dL)	Creatinine (mg/dL)	Glucose (mg/dL)	Total cholesterol (mg/dL)	Tri-cholesteride (mg/dL)	ALP (U/L)	LDH (U/L)	GPT (U/L)	GOT (U/L)	$\gamma$ -GTP (U/L)	Inorg. phos. (mg/dL)	Ca (mg/dL)	Na (mEq/L)	K (mEq/L)	Cl (mEq/L)	
Control	5.9	3.6	1.55	21	0.6	166	68	144	327	99	27	51	0	6.1	9.2	140.6	4.18	108.3	
	0.4	0.3	0.10	4	0.0	19	8	82	75	41	5	5	0	0.6	0.3	1.7	0.50	1.9	
3 $\mu$ g/kg	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	5.7	3.4	1.43	24	0.7	170	54**	151	316	116	25	49	0	5.8	9.2	140.3	4.24	109.1	
	0.4	0.3	0.12	5	0.1	14	7	92	49	53	6	4	0	0.7	0.4	0.9	0.23	1.6	
12 $\mu$ g/kg	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	5.5*	3.4	1.65	18	0.6	164	39**	149	385	107	24	49	0	5.7	8.9	140.8	3.95	109.4	
	0.3	0.3	0.20	3	0.0	16	7	43	86	37	5	5	0	0.5	0.4	2.4	0.33	2.4	
48 $\mu$ g/kg	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	5.6	3.3	1.41	15**	0.6	169	38**	133	383	114	22	46	1**	5.8	8.8	140.4	4.02	109.8	
	0.3	0.3	0.19	4	0.1	18	8	69	89	51	5	7	1	0.8	0.4	1.2	0.48	3.1	

Parameter, number of animals

mean

S.D.

\*, significantly different from control, p&lt;0.05

\*\*, significantly different from control, p&lt;0.01

Table 6-1

## Twenty-eight-day repeat dose oral toxicity study of ethinylestradiol in rats

## Absolute organ weights in males

Group	Body weight (g)	Liver (mg)	Kidneys (mg)	Adrenal glands (mg)	Pituitary gland (mg)	Thyroid gland (mg)	Prostate (mg)	Seminal vesicles (mg)	Testes (mg)	Epididymides (mg)	Accessory reproductive gland (mg)
Control	10 432.8 48.8	10 16304.8 2341.4	10 2807.2 330.6	9 49.8 4.9	10 11.0 1.4	10 17.1 3.2	10 537.0 82.4	10 1318.7 171.2	10 3027.9 593.8	10 915.5 148.4	10 2334.6 263.2
3 $\mu$ g/kg	10 433.1 33.5	10 17454.8 2415.1	10 2777.8 281.8	10 56.4 7.2	10 11.9 1.2	10 17.5 3.7	10 521.2 60.6	10 1367.8 215.7	10 3260.2 413.1	10 909.5 123.2	10 2382.8 290.2
12 $\mu$ g/kg	10 405.7 26.7	10 16569.9 1429.1	10 2776.5 266.0	10 52.5 8.7	10 11.2 1.4	10 17.1 3.5	10 471.0 147.0	10 1388.4 172.1	10 3248.3 238.4	10 958.2 58.7	10 2394.3 326.7
48 $\mu$ g/kg	10 407.1 23.8	10 17450.3 2150.6	10 2704.1 346.6	10 78.5** 20.7	10 13.0** 1.5	10 16.3 2.6	10 472.9 82.8	10 1318.8 164.3	10 3126.0 231.3	10 952.9 101.9	10 2249.4 223.5

Parameter, number of animals

mean

S.D.

\*\*, significantly different from control,  $p < 0.01$

Table 6-2

## Twenty-eight-day repeat dose oral toxicity study of ethinylestradiol in rats

## Absolute organ weights in females

Group	Body weight (g)	Liver (mg)	Kidneys (mg)	Adrenal glands (mg)	Pituitary gland (mg)	Thyroid gland (mg)	Uterus (mg)	Ovaries (mg)
Control	267.0 19.9	9735.6 1018.2	1742.8 159.0	62.1 7.4	13.8 1.8	11.4 2.2	375.4 51.9	84.1 7.4
3 $\mu$ g/kg	261.9 15.7	9744.9 959.0	1755.1 102.8	64.2 6.6	12.6 1.5	11.9 2.3	388.4 37.6	86.0 13.2
12 $\mu$ g/kg	257.2 33.1	10103.6 1872.0	1730.6 236.1	72.7 12.8	13.3 1.5	13.1 2.0	389.9 51.0	81.7 19.5
48 $\mu$ g/kg	248.0 15.7	9835.5 1167.2	1702.4 154.1	75.6* 13.7	13.4 1.3	13.7 2.1	374.0 34.8	80.7 16.6

Parameter, number of animals

mean

S.D.

\*, significantly different from control,  $p < 0.05$

Table 7-1

Twenty-eight-day repeat dose oral toxicity study of ethinylestradiol in rats

## Relative organ weights in males

Group	Body weight		Liver		Kidneys		Adrenal glands		Pituitary gland		Thyroid gland		Prostate		Seminal vesicles		Testes		Epididymides		Accessory reproductive gland		
	(g)	(mg/g)	(mg/g)	(mg/g)	(mg/g)	(mg/g)	(mg/g)	(mg/g)	(mg/g)	(mg/g)	(mg/g)	(mg/g)	(mg/g)	(mg/g)	(mg/g)	(mg/g)	(mg/g)	(mg/g)	(mg/g)	(mg/g)	(mg/g)	(mg/g)	(mg/g)
Control	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	432.8	37.587	6.497	0.115	0.025	0.040	1.251	3.072	7.000	2.122	5.436	48.8	1.944	0.432	0.007	0.213	0.471	1.245	0.336	0.724			
3 $\mu$ g/kg	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	433.1	40.156	6.420	0.131	0.028	0.041	1.210	3.175	7.560	2.111	5.534	33.5	2.656	0.499	0.020	0.160	0.553	1.079	0.325	0.809			
12 $\mu$ g/kg	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	405.7	40.829*	6.860	0.130	0.028	0.042	1.168	3.449	8.055	2.374	5.942	26.7	1.952	0.695	0.023	0.380	0.572	0.950	0.248	1.004			
48 $\mu$ g/kg	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	407.1	42.743**	6.628	0.192**	0.032**	0.040	1.164	3.241	7.712	2.353	5.526	23.8	3.144	0.625	0.045	0.198	0.358	0.812	0.317	0.425			

Parameter, number of animals

mean

S.D.

\*, significantly different from control,  $p < 0.05$ \*\*, significantly different from control,  $p < 0.01$