MASTER

Hormonell wirksame Umweltchemikalien
Gefahr für Mensch und Tier

Redaktion
G. Behling, U. Koller, A. Klemmer, H.-J. Haury

Seminar der Zentralen Informationsstelle
Umweltberatung Bayern

Band 12

GSF-Bericht 16/98

Ein Projekt der gsf für das Bayerische Staatsministerium für Landesentwicklung und Umweltfragen

GSF – Forschungszentrum
für Umwelt und Gesundheit

DISTRIBUTION OF THIS DOCUMENT IS UNLIMITED
FOREIGN SALES PROHIBITED

Herausgeber:

GSF - Forschungszentrum
für Umwelt und Gesundheit, GmbH

Ingolstädter Landstraße 1
D-85764 Neuherberg

Telefon 089/3187 - 0
Telefax 089/3187 - 3324

Mitglied der Hermann von Helmholtz-Gemeinschaft
Deutscher Forschungszentren (HGF)

© GSF-Forschungszentrum, 1998

ISSN 0721 - 1694

Diese Veröffentlichung wurde auf 100 % Recyclingpapier gedruckt.

DISCLAIMER

Portions of this document may be illegible in electronic image products. Images are produced from the best available original document.

DE99G6831

Hormonell wirksame Umweltchemikalien Gefahr für Mensch und Tier?

Redaktion
G. Behling, U. Koller, A. Klemmer, H.-J. Haury

Seminarband der Zentralen Informationsstelle Umweltberatung Bayern

Band 12

August 1998

GSF-Bericht 16/98

Umweltzeichen
weil aus 100 % Altpapier

Inhalt

		Seite
Vorwort		5
A. Gies	Hormonell wirksame Chemikalien - Eine Einführung zum Forschungsstand und Forschungsbedarf	7
J. Schwaiger	Wirkungen endokriner Umweltchemikalien auf Fische - dargestellt am Beispiel Nonylphenol	11
M. Schlumpf	Gefahren hormonaktiver Chemikalien für Mensch und Tier	15
W. Kalbfus	Hormonaktive Substanzen in (bayerischen) Gewässern - Herkunft und Gefährdungspotential	25
W. Dekant	Vorkommen hormonaktiver Substanzen (Phyto- und Xenoöstrogene) in der Nahrung und in industriellen Produkten	31
H. Certa	Endokrine Modulation: Bestandsaufnahme Die Stellung der chemischen Industrie zum Problemfeld „Endokrin wirksame Substanzen"	39
Anschriften der Referentinnen und Referenten		45

Vorwort

Am 28. April 1998 veranstaltete die Zentrale Informationsstelle, Umweltberatung Bayern ihr zwölftes Seminar mit dem Thema „Hormonell wirksame Umweltchemikalien - Gefahr für Mensch und Tier?". An der Veranstaltung nahmen rund 40 Vertreterinnen und Vetreter von Umweltberatungsstellen und Gesundheitsämtern sowie anderen mit Umwelt- und Gesundheitsberatung beauftragten Institutionen teil.

Kompetente Sachverständige aus Behörden und wissenschaftlichen Einrichtungen stellten das Themenspektrum vor, führten in den Forschungsstand ein und zeigten den Forschungsbedarf auf. Der Schwerpunkt lag in der Darstellung der Auswirkungen hormonell wirksamer Substanzen auf Mensch und Tier sowie in der Abschätzung der Risikofaktoren anhand der bekannten Daten aus wissenschaftlichen Tests sowie der aktuellen Exposition in der Umwelt. Mit dem Beitrag der Chemischen Industrie wurde auch deren Einschätzung der Problematik aufgezeigt.

Im vorliegenden Seminarband sind die Vorträge schriftlich wiedergegeben. Dabei handelt es sich im wesentlichen um Ausarbeitungen der Referenten. Den Referenten sei an dieser Stelle herzlich für ihre Mühe und ihr Engagement gedankt. Mit Hilfe ihrer wertvollen Beiträge sowohl auf der Veranstaltung als auch für den Seminarband konnte dieses wichtige Problemfeld in der Umweltberatung behandelt werden.

Neuherberg, im August 1998

Gabriele Behling und Ulrike Koller

Hormonell wirksame Chemikalien -
Eine Einführung zum Forschungsstand und Forschungsbedarf

Dr. Andreas Gies, Umweltbundesamt, Berlin

Hormonell wirksame Umweltchemikalien (engl.: Endocrine Disruptors) sind exogene Stoffe, die schädliche Wirkungen haben, indem sie in den Hormonhaushalt des Menschen oder der Tiere eingreifen. Bei der Wirkung auf das hormonelle Steuerungssystem gibt es einige Besonderheiten, die bei anderen stofflichen Wirktypen nicht vorkommen:

- Hormone gehören zu den Stoffen mit der höchsten biologischen Aktivität, das heißt, es werden daher in der Regel sehr geringe Konzentrationen benötigt, um eine Wirkung zu erzielen.
- Organismen (einschließlich des Menschen) sind im Lebensverlauf nicht gleichbleibend sensibel gegenüber diesen Stoffen. Es gibt oft deutlich ausgeprägte Sensibilitätsfenster, die in der Embryonalentwicklung oder der frühen Jugend liegen. In anderen Lebensphasen kann der Organismus dann nicht oder sehr viel weniger sensibel gegenüber diesen Stoffen sein.
- Die Wirkungen können deutlich verzögert auftreten, z. B. ist es wahrscheinlich, daß schädliche Einwirkungen auf die Spermienproduktion bereits während der Embryonalentwicklung verursacht werden können, die sichtbaren Effekte jedoch erst nach der Pubertät, beim Menschen also Jahrzehnte später feststellbar wären.
- Die Wirkungen sind oft irreversibel, eine kurzzeitige Schadstoffexposition während einer sensiblen Phase kann für das gesamte Leben prägen.

Endokrin wirkende Substanzen können entweder am Rezeptor wie Hormone wirken (Agonisten) oder die Wirkung von Hormonen blockieren (Antagonisten). Sie können aber auch in die Synthese oder den Abbau von Hormonen oder die Ausbildung der entsprechenden Rezeptoren eingreifen.

Zum gegenwärtigen Zeitpunkt ist die Expositionssituation in Bezug auf die Summe der hormonell wirksamen Stoffe noch weitgehend ungeklärt. Dies gilt sowohl für die Umweltkonzentrationen der meisten Stoffe, als auch für die Mechanismen ihres Zusammenwirkens. Gleichwohl liegen jedoch Beispiele vor, die belegen, daß frei lebende Tiere Konzentrationen ausgesetzt sind, die Effekte auslösen können. Die gefundenen Werte liegen in einem Bereich, der auch eine Relevanz für den Menschen vermuten läßt.

Eine systematische Übersicht über die Effekte, die bei frei lebenden Tieren der Störung des hormonellen Systems zugeschrieben werden, finden sich in den folgenden Tabellen:

Tab. 1: Hormonell wirkende Stoffe in der Umwelt - diskutierte Wirkungen bei frei lebenden Tieren in Amerika

Tierart	Effekt	Belastung	Ort
Beluga-Wal	Population destabilisiert, Hermaphroditismus	DDT, PCB´s, Organochlorpestizide	USA
Weißkopfadler	gestörtes Brutverhalten, Sterilität	DDT	USA, Florida
Florida Panther	Sterilität, abnorme Spermien, Hormonbalance gestört	Quecksilber, DDE	USA
Nerz (Zucht)	Fortpflanzungsstörungen, Sterilität	Nahrung (belasteter Fisch aus den Great Lakes)	USA, Lake Michigan
Heringsmöwe	mißgebildete Jungtiere, verminderter Bruterfolg	Dioxine	USA, Lake Ontario
verschiedene Möwenarten	gestörtes Brutverhalten, Verweiblichung der Männchen	DDT	USA, California

Tab. 2: Hormonell wirkende Stoffe in der Umwelt - diskutierte Wirkungen bei frei lebenden Tieren in Europa

Tierart	Effekt	Belastung	Ort
Seehund	Verminderte Immunkompetenz	Nahrung	Nord- und Ostsee
Seehund	Beeinträchtigung der Fortpflanzungsfähigkeit (verminderte Fruchtbarkeit bzw. Follikelreifung)	Nordseefische, PCB	Niederländisches Wattenmeer
Fischembryonen von diversen Nordseefischen	hoher Prozentsatz an Mißbildungen	Organohalogene wie PCB, DDE, Dieldrin	Nordsee
Vorderkiemenschnecken	Imposex, männliche Geschlechtsorgane und Sterilität bei weiblichen Schnecken, Artenschwund	Tributylzinnverbindungen	weltweit
Brassen	erhöhte Vitellogeninkonzentration	?	Elbe
Ringelrobben	Skelettdeformationen	?	Ostsee
Plattfische	Veränderung des Geschlechterverhältnisses	?	Nordsee
Regenbogenforellen	Intersex, erhöhte Vitellogeninkonz., Verweiblichung	Kommunale Abwasser, Alkylphenole	England

Im Mittelpunkt der gegenwärtigen Diskussion stehen Stoffe mit östrogener Wirkung. Zu dieser Stoffgruppe gehören neben natürlichen und synthetischen Östrogenen einige PCB's, DDT, Alkylphenolethoxylate und deren Abbauprodukte, manche Phthalate (neuere Ergebnisse deuten auf eine zusätzliche antiandrogene Wirkung der wichtigsten Phthalate hin), Bestandteile von Kunststoffen, wie Bisphenol A, aber auch östrogen wirkende Substanzen aus Pilzen und höheren Pflanzen (z. B. Soja), sogenannte Myko- und Phytoöstrogene.

Zu beachten sind aber auch andere hormonelle Wirkungen wie z. B. antiöstrogene Wirkungen (einige Dioxine), androgene Wirkungen (Tributylzinnverbindungen bei Schnecken), antiandrogene Wirkungen (DDE) und Wirkungen auf das Schilddrüsensystem (einige PCB's). Im Falle der PCBs werden signifikante Wirkungen der derzeitigen Umweltkonzentrationen auf die neuronale Entwicklung des Menschen diskutiert.

Die ersten 1995 Anfang diesen Jahres begonnenen Forschungsvorhaben des Umweltbundesamtes zu diesem Thema sollten schwerpunktmäßig dazu dienen, in Deutschland die Kapazitäten aufzubauen, um das Problem der hormonell wirkenden Stoffe bearbeiten zu können. Diese Vorhaben befassen sich hauptsächlich mit der Testentwicklung und Validierung.

1997 wurde vom Umwelt- und vom Forschungsministerium (BMU und BMBF) ein Schwerpunktprogramm von insgesamt mehreren Millionen Mark Volumen aufgelegt, in dem inzwischen 15 Vorhaben gefördert werden, die hauptsächlich die Wirkmechanismen dieser Stoffe aufklären sollen. Die gegenwärtig vom Umweltbundesamt betreuten Vorhaben finden sich in Tabelle 3.

Für Amerika und Europa liegen jeweils Datenbanken vor, die die laufenden Forschungsvorhaben auf diesem Gebiet dokumentieren. Eine Zusammenführung dieser Datenbanken ist noch im Jahre 1998 geplant. Zur Zeit können diese Informationsquellen im Internet unter der Adresse

http://www.liwa.de/iis/rneed

abgerufen werden. Unter der gleichen Adresse findet sich ein Stoffverzeichnis von ca. 200 Stoffen, von denen bekannt ist, daß sie Potenz haben hormonelle Regelkreise zu unterbrechen.

Im nächsten Schritt der Forschungsplanung soll versucht werden, Ursache - Wirkungsketten zu schließen und die Relevanz des Problems für den Raum der Bundesrepublik Deutschland zu untersuchen.

Hierzu ist es notwendig, Fische, Land- und Wassersäuger, Vögel aber auch bisher wenig beachtete Organismengruppen, wie Amphibien und Wirbellose, exemplarisch auf Effekte zu untersuchen und diese mit bestehenden Umweltkonzentrationen verdächtiger Stoffe zu vergleichen.

Tab. 3: Forschungsvorhaben im Umweltforschungsplan des Bundes zu Chemikalien in der Umwelt mit Wirkung auf das endokrine System, Stand: 06.11.1997

Name	Institution	Projekttitel	Laufzeit
Monsees	Zentrum für Dermatologie und Andrologie; Univ. Gießen	Einfluß von Chemikalien mit potentiell östrogener oder antiandrogener Wirkung auf die Funktion testikulärer Zellen	01.08.1997-31.07.2000
Dekant	Institut für Toxikologie; Univ. Würzburg	Belastung des Menschen durch Phyto- und Xenoöstrogene am Beispiel von ausgewählten Substanzen	01.08.1997-31.07.2000
Filser	GSF Neuherberg	Belastung des Menschen durch Phyto- und Xenohormone (Toxikokinetik)	01.08.1997-31.07.2000
Seibert	Institut für Toxikologie; Univ. Kiel	Einstufung von Schadstoffen als endokrin wirksame Substanzen	15.08.1997-15.02.1998
Kubiak	Staatl. Lehr- und Forschungsanstalt für Landwirtschaft, Wein- und Gartenbau Neustadt	Alkylphenole im Agrarökosystem	01.08.1997-31.07.2000
Karbe	Institut für Hydrobiologie/ AK Aquatische Toxikologie; Univ. Hamburg	Ökotoxikolische Relevanz endokrin wirksamer Stoffe in der aquatischen Umwelt	01.08.1997-31.07.2000
Sordyl	Institut für angewandte Ökologie Forschungsges. mbH, Neu Brodersdorf bei Rostock	Erfassung von Effekten endokrin wirksamer Xenobiotika an Indikatororganismen im Küstenbereich der Ostsee	01.08.1997-31.07.2000
Oehlmann	Internationales Hochschulinstitut Zittau	Testentwicklung zur Erfassung endokriner Wirkung bei Gastropoden (Marisa cornuarietis)	01.08.1997-31.07.2000
Braunbeck	Zoologisches Institut; Univ. Heidelberg	Endokrine Substanzen in Fischen und Fischzellen - ein Vergleich etablierter *in vivo*- und *in vitro*-Methoden	01.08.1997-31.07.2000
Wenzel	FhG Schmallenberg	Östrogen wirkende Substanzen in Umweltmedien	01.08.1997-31.12.1997
Fromme	Itox Berlin	Substanzen mit endokriner Wirkung in verschiedenen Umweltkompartimenten	01.08.1997-31.12.1997
Lippke	Lippke & Wagner	Europäische Forschungsstrategie für hormonell wirksame Umweltchemikalien	abgeschlossen
Meister	TFH Berlin	Verzeichnis europäischer Forschungsprojekte für hormonell wirksame Umweltchemikalien	01.11.1997-28.02.1998
Gahr	MPI Seewiesen	Entwicklung eines in vitroTestsystems mit einer neuronalen östrogen-sensitiven Zell-Linie	01.02.1996-30.05.1998
Braunbeck	Zoologisches Institut; Univ. Heidelberg	Entwicklung und Erprobung eines in vitro Testsystems zum Nachweis östrogener Wirkung von Umweltschadstoffen an primären Leberzellen von Forellen	01.01.1996-30.12.1997
Segner	UFZ Leipzig	Entwicklung und Erprobung eines in vitro Testsystems zum Nachweis östrogener Wirkung von Umweltschadstoffen an primären Leberzellen von Karpfen und Amphibien	01.12.1995-31.11.1997
Fent	EAWAG Dübendorf	Entwicklung und Erprobung eines in vitro Testsystems zum Nachweis östrogener Wirkung von Umweltschadstoffen an permanenten Leberzellen	05.02.1996-30.05.1998
Wenzel	FhG Schmallenberg	Entwicklung und Erprobung eines in vitro Testsystems zum Nachweis östrogener Wirkung von Umweltschadstoffen mit einer gentechnisch veränderten Hefe	01.03.1996-31.07.1998
Seibert	Institut für Toxikologie, Univ. Kiel	Substanzen mit endokriner Wirkung in Oberflächengewässern	01.11.1995-31.12.1996

Wirkungen endokriner Umweltchemikalien auf Fische – dargestellt am Beispiel Nonylphenol

Schwaiger J.[1], B. Wörle[1], O. H. Spieser [2], R. D. Negele[1]

[1] Bayerisches Landesamt für Wasserwirtschaft – Institut für Wasserforschung
[2] GSF-Forschungszentrum für Umwelt und Gesundheit – Institut für Toxikologie

Nach neueren Untersuchungen besitzen eine Reihe weitverbreiteter Umweltchemikalien das Potential, in hormonelle Regelkreise bei Mensch und Tier einzugreifen (Colborn, 1993). Von den bisher bekannten, endokrin wirksamen Substanzen sind insbesondere Stoffe in den Mittelpunkt des Interesses gerückt, die Wirkungen des weiblichen Sexualhormones 17ß-Östradiol nachahmen und dadurch möglicherweise das Fortpflanzungsgeschehen beeinflussen können.

Veränderungen an wildlebenden Tierarten, wie beispielsweise Fehlentwicklungen der Geschlechtsorgane bei Reptilien (Guillette et al., 1994; Bergeron et al., 1994), oder eine Verweiblichung von Vögeln (Fry & Toone, 1981) und Fischen (Purdom et al., 1994), werden ursächlich mit einer Einwirkung von Xenoöstrogenen in Verbindung gebracht. Studien der letzten Jahre zur östrogenen Wirkung von Umweltchemikalien auf Fische konzentrieren sich überwiegend auf die Analyse des Proteins Vitellogenin im Blutplasma männlicher Fische. Vitellogenin stellt die Vorstufe des Dotterproteins dar und wird unter physiologischen Bedingungen in der Leber weiblicher Fische gebildet und an das Blut abgegeben (Mommsen & Walsh, 1988). Unter Einwirkung östrogener Substanzen kann dieses Protein auch von männlichen Individuen synthetisiert werden (Idler & Campbell, 1980). Aufgrund dieser Tatsache wird das Auftreten von Vitellogenin im Blutplasma männlicher Fische als Biomarker für eine östrogene Wirkung eingesetzt (Purdom et al., 1994; Sumpter & Jobling, 1995; Harries et al., 1997).

Unter den zahlreichen chemischen Verbindungen werden neben dem synthetischen Östrogen Ethinylöstradiol (EE_2) v. a. Abbauprodukte von Alkylphenol-Polyethoxylaten, wie z. B. Nonylphenol, für die genannten Effekte verantwortlich gemacht. Nonylphenolpolyethoxylate stellen grenzflächenaktive Substanzen dar, die insbesondere in Wasch- und Reinigungsmitteln vielfältige Anwendung finden. Aufgrund ihres breiten Anwendungsspektrums und einer hohen weltweiten Jahresproduktion kommt dieser Stoffgruppe eine besondere Umweltrelevanz zu.

Im Rahmen eines, vom Bayerischen Staatsministerium für Landesentwicklung und Umweltfragen geförderten Forschungsvorhabens, werden derzeit umfangreiche Untersuchungen zur östrogenen und toxischen Wirkung der Umweltchemikalie Nonylphenol an Fischen durchgeführt. Leitgedanke bei der Konzeption der Versuche war, daß Reproduktionsstörungen nicht in jedem Fall in ursächlichem Zusammenhang mit einer Hormoneinwirkung stehen müssen. Eine Vielzahl anderer Faktoren wie beispielsweise zytotoxisch bedingte Veränderungen der Gonaden, Störungen des allgemeinen Gesundheitszustandes oder Verhaltensänderungen können ebenfalls das Reproduktionsverhalten beeinflussen, ohne primär in hormonelle Regelkreise einzugreifen. Auf hormoneller Ebene kommen ebenfalls wiederum verschiedene Angriffspunkte in Betracht. Prinzipiell kann eine Wirkung östrogener Umweltchemikalien entweder direkt durch Bindung an Östrogenrezeptoren, oder aber indirekt, beispielsweise durch eine Beeinflussung von metabolischen Prozes-

sen oder Transportproteinen, oder auch der übergeordneten Regulationszentren Hypothalamus oder Hypophyse erfolgen (Thierfelder et al., 1995).

Ziel des Forschungsvorhabens ist es, durch Anwendung einer Vielzahl medizinisch-toxikologischer Untersuchungsmethoden zu einer möglichst gesamthaften Beurteilung des Risikopotentials umweltrelevanter Konzentrationen der Testsubstanz Nonylphenol zu gelangen. Als Indikatortiere wurden adulte Regenbogenforellen und juvenile Karpfen verwendet, welche über mehrere Wochen im Durchfluß Nonylphenol-Konzentrationen zwischen 1 und 10 µg/l (Regenbogenforellen), bzw. 1 und 15 µg/l (Karpfen) ausgesetzt wurden. Zu Vergleichszwecken wurden Positiv-Kontrolltiere mit dem synthetischen Östrogen Ethinylestradiol behandelt. Daneben dienten völlig unbehandelte Fische als Kontrolltiere.

Zur Erfassung toxischer Wirkungen von Nonylphenol wurden hämatologische, klinisch-chemische sowie histopathologische Untersuchungen durchgeführt. Bei den Karpfen erfolgte zusätzlich eine quantitative Verhaltensmessung mittels des automatischen Bildanalysesystems BehavioQuant®. Um mögliche reproduktionstoxische Wirkungen von Nonylphenol abzubilden, erfolgten Vermehrungsversuche mit Nonylphenol-exponierten Laichfischen (Regenbogenforellen). Als Endpunkte dienten (1) die Qualität der Geschlechtsprodukte, (2) die Befruchtungs- und Schlupfraten, sowie (3) das Auftreten von Mißbildungen bei den Nachkommen. Zur Erfassung endokriner Wirkungen dienten (1) die Analyse von Vitellogenin mittels ELISA (enzyme linked immunosorbent assay) als biologische Antwort auf eine Rezeptorbindung, (2) die histologische Untersuchung der gonadalen Geschlechtsdifferenzierung bei den Nachkommen exponierter Elterntiere und (3), die Ermittlung des Aktivitätszustandes der Gonadotropin-sezernierenden Zellen der Hypophyse mittels quantitativ-stereologischer Untersuchungsmethoden.

Die vorläufigen Untersuchungsergebnisse lassen zum einen auf ein toxisches Wirkungspotential von Nonylphenol schließen. So wurde beispielsweise bei beiden Fischarten eine hochgradige Anämie nach Nonylphenol-Exposition diagnostiziert. Darüberhinaus ergaben die Verhaltensstudien an Nonylphenol-exponierten Karpfen eine, den Ethinylöstradiol-behandelten Tieren vergleichbare Veränderungen der Aktivitätsmuster.

Im Rahmen der Reproduktionsstudien zeigte sich eine geringgradige Verminderung der Befruchtungsraten bei Nonylphenol-exponierten Regenbogenforellen, wobei sich die Unterschiede gegenüber den Kontrolltieren als nicht statistisch signifikant erwiesen.

Basierend auf den Ergebnissen der Vitellogenin-Bestimmung, die eine signifikante Zunahme von Vitellogenin im Blutplasma männlicher, Nonylphenol-exponierter Regenbogenforellen ergab, ist von einer endokrinen Wirkung von Nonylphenol im Sinne einer Bindung an den Östrogenrezeptor in der Leber auszugehen. Dies allein läßt jedoch noch keine Aussage im Hinblick auf mögliche biologische Konsequenzen sowohl für das Individuum, als auch auf Populationsebene zu. Gegenwärtig durchgeführte Untersuchungen zum Aktivitätszustand des übergeordneten Regulationsorgans Hypophyse Nonylphenol-exponierter Tiere, sowie zur Geschlechtsdifferenzierung bei deren Nachkommen sollen weitere Anhaltspunkte über das endokrine Gefährdungspotential von Nonylphenol geben.

Literatur

BERGERON, J.M., CREWS, D., McLACHLAN, J.A. 1994: PCBs as environmental estrogens: turtle sex determination as a biomarker of environmental contamination. Environ. Health Perspect. 102: 780-781

COLBORN, T., VOM SAAL, F.S., SOTO, A.M. 1993: Developmental effects of endocrine-disrupting chemicals in wildlife and humans. Environ. Health Perspect. 101, 378-384

FRY, D.M., TOONE, C.K. 1981: DDT-induced feminisation of gull embryos. Science 213, 922-924

GUILLETTE, L.J., GROSS, T.S., MASSON, G.R., MATTER, M.M., PERCIVAL, H.F., WOODWARD, A.R. 1994: Developmental abnormalities of the gonad and abnormal sex hormone concentrations in juvenile alligators from contaminated and control lakes in Florida. Environ. Health Perspect. 102, 680-688

HARRIES, J.E., SHEAHAN, D.A., JOBLING, S., MATTHIESSEN, P., NEALL, P., SUMPTER, J.P., TYLOR, T., ZAMAN, N. 1997: Estrogenic activity in five United Kingdom rivers detected by measurement of vitellogenesis in caged male trout. Environ. Toxicol. Chem. 16(3), 534-542

IDLER, D.R., CAMPBELL, C.M. 1980: Gonadotropin stimulation of estrogen and yolk precursor synthesis in juvenile rainbow trout. Gen. Comp. Endocrinol. 41, 384-391

MOMMSEN, T.P., WALSH, P.J. 1988: Vitellogenesis and oocyte assembly. In: HOAR, W.S., RANDALL, D.J. (Hrsg.): Fish Physiology, Vol. XIA, Academic Press, New York, 347-406

PURDOM, C.E., HARDIMAN, P.A., BYE, V.J., ENO, N.C., TYLER, C.R., SUMPTER, J.P. 1994: Estrogenic effects of effluents from sewage treatment works. Chem. Ecol. 8, 275-285

SUMPTER, J.P., JOBLING, S. 1995: Vitellogenesis as a biomarker for estrogenic contamination of the aquatic environment. Environ. Health Perspect. 103: 173-178

THIERFELDER, W., MEHNERT, W.H., LAUßMANN, D., ARNDT, D., REINEKE, H.H. 1995: Der Einfluß umweltrelevanter östrogener oder östrogenartiger Substanzen auf das Reproduktionssystem. Bundesgesundheitsblatt Bd. 38(9), 338-341

Gefahren hormonaktiver Chemikalien für Mensch und Tier

Dr. Margret Schlumpf und Prof. Dr. Walter Lichtensteiger, Universität Zürich, Institut für Pharmakologie

1. Vorkommen von Störungen der Reproduktion beim Menschen

Über eine Zunahme von Störungen der weiblichen wie der männlichen Reproduktion wird seit einiger Zeit in der Fachpresse berichtet, wobei die Ätiologie völlig unbekannt ist.

1.1 Männliche Reproduktionsfunktionen

Hodenkrebs. In Ländern, die seit längerem ein Krebsregister führen, wie z. B. die skandinavischen Länder, die Länder um die Ostsee, Deutschland, die Schweiz, England, die USA und Neuseeland, läßt sich ein starker Anstieg der Inzidenz von Hodenkrebs (Seminomen und Nicht-Seminomen) nachweisen (Toppäri, 1996). Während die Zunahme von Prostatakrebs teilweise auf eine verbesserte Diagnostik zurückgeführt werden könnte, trifft dies beim Hodenkrebs, der schon lange zuverlässig diagnostiziert werden kann, nicht zu. Der Hodenkrebs tritt am häufigsten bei jüngeren Männern auf, weshalb Einflüsse während der frühen Entwicklung als ätiologische Faktoren vermutet werden.

Prostatakrebs. Zwischen 1969 und 1986 stieg die Rate der Erkrankungen an Prostatakrebs in den USA und anderen Ländern durchschnittlich um jährlich 1 % an (Platt, 1995); zwischen 1982 und 1994 verdreifachte sich in den USA die Zahl der jährlichen Prostatakrebserkrankungen. Die Prostata ist ein Zielorgan hormonaktiver Chemikalien; neue experimentelle Daten weisen auf Einflüsse während der frühen Entwicklung hin (siehe unten).

Kryptorchismus/Hypospadie. Kryptorchismus und Hypospadie sind Zeichen ungenügender Androgenwirkung während der Entwicklung und abhängig von vorgeburtlichen Geschehnissen. Interessant ist, dass Hodenkrebs bei Patienten mit Kryptorchismus häufiger vorkommt. Hinweise auf eine Zunahme von Kryptorchismus und Hypospadie werden allerdings noch als unsicher beurteilt (Weybridge, 1996).

Spermienzahl und -qualität. Während das häufigere Vorkommen von Hodenkrebs ein in allen Regionen beobachtetes Phänomen darstellt, variieren die Befunde hinsichtlich Spermienproduktion und Spermienqualität zum Teil beträchtlich. Die Beweislage für die Abnahme der Spermienzahlen ist somit weniger robust. Zwischen verschiedenen Regionen wurden Unterschiede von mehr als 50 % festgestellt. Die innerhalb derselben geographischen Region nachgewiesenen Veränderungen der Spermienzahlen sind aber meist genügend groß, um daraus schliessen zu können, daß sie nicht nur bekannten Variablen zuzuschreiben sind (Probandenauswahl, unterschiedliche Methodik, Häufigkeit des Geschlechtsverkehrs). Während die Konferenz von Weybridge (1996) die Datenlage noch als ungenügend erachtete, unterstützt eine neuere Metaanalyse von 56 verschiedenen Studien (Swan, 1997) die Annahme einer Abnahme der Spermienzahlen; für die USA wurde eine jährliche

Abnahme von 1,5 % berechnet, für Europa von 3,1 %. Zusätzlich wurde in einer Untersuchung aus Belgien (Comhaire K. et al., 1996) eine Verschlechterung der Spermienqualität beobachtet. Seit längerem bekannt ist Infertilität des Mannes bei beruflicher Organochlor- oder Schwermetallexposition (Bonde und Kolstad, 1997, Thrupp, 1991)

Geschlechterquotient bei Neugeborenen. Der Quotient von neugeborenen Knaben/Mädchen ist eine sehr konstante Größe. Nach Möller und Mitarbeitern ist der Anteil der Knaben in verschiedenen zentraleuropäischen und skandinavischen Ländern (Dänemark, England, Holland) seit den 50er Jahren geringgradig aber signifikant gesunken. Daten der dänischen Studie weisen auf einen Zusammenhang zwischen Hodenkrebs, geringerer Fertilität und reduziertem Geschlechterquotienten hin (Möller, 1996). Eine Untersuchung in Seveso hat ergeben, daß in der am stärksten Dioxin-exponierten Population der Geschlechterquotient bei Geburten, die zwischen 9 Monaten nach dem Unfall und Dezember 1984 (etwa Halbwertszeit von TCDD) erfolgten, von 0.515 auf 0.351 herabgesetzt war, um dann in der Periode 1985-1994 wieder auf 0.484 anzusteigen (Mocarelli, 1996).

1.2 Weibliche Reproduktionsfunktionen

Europäische Publikationen berichten vorwiegend über Störungen der männlichen Reproduktion. Eine höhere Empfindlichkeit des männlichen Geschlechtsapparates ist zwar nicht auszuschliessen, die momentane Betonung männlicher Reproduktionsstörungen könnte aber auch eine Folge ungenügenden Datenmaterials sein. Vor allem in den USA entstanden über die letzten Jahre Studien zum Thema Hormone, Umweltchemikalien und Brustkrebs, Umweltchemikalien und Endometriose (Wolff, 1994). Noch fehlen weitgehend Untersuchungen anderer Endpunkte, die Dysfunktionen des weiblichen Genitaltraktes anzeigen, wie Pathologie von Ovarien und Uterus, Zyklus- und Schwangerschaftsstörungen (Weybridge, 1996). Korrelationen zwischen aktueller Belastung durch chlorierte Kohlenwasserstoffe und Fertilitätsstörungen, z. B. zwischen Pentachlor-Plasmakonzentrationen und Abortrate während eines einjährigen Beobachtungszeitraums, sind an einem Patientinnenkollektiv beobachtet worden (Gerhard et al., 1993), doch ist dies erst als ein Ausgangspunkt für weitere Untersuchungen anzusehen.

Brustkrebs. Brustkrebserkrankungn haben vor allem in industrialisierten Ländern seit 1930 um rund 1-2 % jährlich zugenommen. Auch in Entwicklungsländern ist eine Zunahme festzustellen (Platt, 1995). Wie bei anderen Krebserkrankungen variiert die Anzahl der Fälle von Region zu Region stark; sie ändert sich auch mit steigendem Durchschnittsalter der Bevölkerung. Neben bekannten Risikofaktoren (Alter, Alter bei der ersten Menstruation, beim ersten Kind und bei der Menopause; Obesitas, faserarme Diät, Alkohol) werden auch hormonaktive Fremdstoffe als Risikofaktoren diskutiert. (Platt, 1995) weist darauf hin, daß sich bei israelischen Frauen die Brustkrebsrate nach dem Verbot von DDT um 30 % reduzierte.

2. Chemikalienexposition und Reproduktionsstörungen

Zahlreiche Organochemikalien (Tabelle), Schwermetalle und pflanzliche Stoffe können Fortpflanzungsprozesse bei Wirbeltieren (inkl. Mensch) und wirbellosen Tieren stören (siehe Schlumpf und Lichtensteiger, 1996, für eine Übersicht über subhumane Spezies).

2.1 Hormonaktive Umweltchemikalien

Endokrin wirksame Chemikalien werden definiert, als *"Substanzen und ihre Metaboliten, die mit der Produktion, der Freisetzung, dem Transport und dem Abbau von Hormonen sowie mit der Wirkung von Hormonen auf deren Rezeptoren interferieren"*. Endokrine Systeme sind häufig mehrstufig organisiert (z. B. Gehirn - Hypophyse - periphere endokrine Drüse (Keimdrüsen, Nebennierenrinde, Schilddrüse) - Zielorgan, und durch Feedbackschlaufen reguliert. Fremdstoffe können auf verschiedenen Ebenen angreifen. Am besten dokumentiert sind derzeit Wirkungen auf die Gonadenachse.

Reprotoxisch wirksame Chemikalien			
PESTIZIDE			
Herbizide	Fungizide	Insektizide	
2,4, - D 2,4,5, -T Alachlor Almitrol Atrazin Metribuzin Nitrofen Trifluralin	Benomyl Hexachlorbenzol Mancozeb Maneb Metiramin-complex *Tributylzinn* Zineb Ziram	- HCH Carbaryl ***Chlordane*** Dicofol Dieldrin ***DDT/Metaboliten*** ***Endosulfan*** Heptachlor Heptachlorepoxid	Lindan Methomyl ***Methoxychlor*** Mirex Oxychlordane Parathion Synth. Pyrethroide ***Toxaphen***
Nematizide	INDUSTRIECHEMIKALIEN und NEBENPRODUKTE		
Aldicarp DBCP	Cadmium Blei Methylquecksilber	***Bisphenol A*** ***Bisphenol F*** ***Dioxine*** ***gewisse PCB (polychlorierte Biphenyle)*** ***PCP (Pentachlorphenol)*** ***Alkylphenole (Penta- Nonyl-)*** Phthalate Styrene	
Kursiv: *in vitro* als hormonaktive Substanz identifiziert			

2.1.1 Wirkungen von hormonaktiven Chemikalien auf Synthese, Transport und Abbau von Steroidhormonen

Hormonsynthese. Verschiedene Substanzen hemmen Enzyme in der Biosynthese von Steroidhormonen. Das Fungizid Fenarimol (Crisp, 1998) z. B. ist ein Hemmstoff der Aromatase, des Enzyms, das die Umwandlung von Testosteron in Estradiol, den letzten Schritt in der Estrogensynthese, katalysiert.

Transportproteine. Hormone werden im Blut sowohl frei als auch an Proteine gebunden transportiert. Für die verschiedenen Hormone existieren spezifische Transportproteine, SHBG (Sex Hormone Binding Globulin). Viele Phytoestrogene und estrogen wirksame Chemikalien (Diethylstilbestrol, Pestizide u. a.) werden durch diese Proteine sehr wenig oder gar nicht gebunden. Dies bedeutet, daß bei gleicher Konzentration von Fremdstoff und körpereigenem Steroidhormon ein relativ größerer Anteil des Fremdstoffs in freier Form vorliegt und auf den Rezeptor wirken kann.

Metabolismus von Steroidhormonen. Verschiedene Chemikalien wie z. B. DDT oder Lindan induzieren mikrosomale Cytochrom P450-Enzyme der Leber und erhöhen damit die Kapazität zum Abbau von Fremdstoffen und körpereigenen Substanzen, wie z. B. von Hormonen.

2.1.2 Interaktion von hormonaktiven Chemikalien mit Steroidhormon-Rezeptoren

Genregulation durch Steroidhormon-Rezeptoren
Die meisten typischen Wirkungen von Sexualhormonen und anderen Steroidhormonen kommen dadurch zustande, daß diese Hormone direkt die Genregulation beeinflussen; man spricht deshalb von einer ***genomischen Wirkung.*** Diese wird durch ***nukleäre Rezeptoren*** vermittelt.

Die ***nukleären Steroidhormon-Rezeptoren*** funktionieren als Transkriptionsfaktoren, welche die Ablesung (Transkription) von Genen steuern. Da sie in der Regel erst aktiv werden, wenn sich ein Steroidhormon an sie bindet, bezeichnet man sie als ***Ligand-aktivierte Transkriptionsfaktoren.*** Neben den nukleären Rezeptoren für die Steroidhormone existieren solche Rezeptoren für Schilddrüsenhormone, Retinsäure und Vitamin D. Beim Säuger kennt man mehrere nukleäre ***Rezeptoren für Estrogene*** (Estrogen-Rezeptor, 1, 2; Petersen et al., 1998), mit unterschiedlichen Bindungseigenschaften für körpereigene Estrogene und für Fremdstoffe, sowie einen ***Androgen-Rezeptor.***

Die nukleären Steroidhormon-Rezeptoren befinden sich immer im Zellinnern, meist im Zellkern. Das Steroidhormon, z. B. Estradiol, diffundiert in den Zellkern und bindet an die Liganden-Bindungsdomäne des Rezeptors. Dadurch wird der Rezeptor aktiviert, er verändert seine dreidimensionale Struktur, und ein am Rezeptor angelagertes Eiweiß (Heat Shock Protein90, hsp90) wird abgestoßen. Zwei gleiche Steroidhormon-Rezeptor-Komplexe lagern sich nun aneinander und bilden zusammen ein ***Homodimer.*** Das Homodimer lagert sich mit den DNA-Bindungsdomänen der beiden Rezeptormoleküle an spezifische Sequenzen der DNA an, sog. ***"Responsive Elements"*** (RE: ERE = Estrogen RE, ARE = Androgen RE).

2.1.3 Interaktion von Xenobiotika mit Steroidhormon-Rezeptoren

Verschiedene synthetische Chemikalien und pflanzliche Stoffe (Phytoestrogene/Phytoandrogene) binden an nukleäre Rezeptoren für Sexualhormone (Estrogen- oder Androgenrezeptoren). Sie können diese Rezeptoren entweder aktivieren ***(Agonist)*** oder blockieren ***(Antagonist)***.

Der Komplex aus Steroidhormon-Rezeptor und Fremdstoff hat nicht genau die gleichen Eigenschaften wie der Komplex aus Steroidhormon-Rezeptor und natürlichem Hormon. Nicht selten ist die maximale Rezeptor-Aktivierung durch einen Fremdstoff (auch in hoher Konzentration) geringer als jene durch das natürliche Hormon, z. B. Estradiol. Solche ***"partielle Agonisten"*** wirken in Gegenwart sehr niedriger Konzentrationen des natürlichen Hormons als Agonisten.

Untersuchungen mit Modellsubstanzen und mit Pharmaka haben einen weiteren sehr wichtigen Unterschied an den Tag gebracht: Es hat sich gezeigt, daß von der Stärke der Bindung einer agonistisch wirksamen Substanz an den Steroidhormon-Rezeptor nicht allgemein auf deren Wirkung auf die Gen-Transkription geschlossen werden kann. Dies beruht darauf, daß die chemische Struktur einer Substanz nicht nur die Stärke der Bindung dieser Substanz an den Steroidhormon-Rezeptor selbst, sondern auch die Stärke der Bindung des Homodimers (aus zwei Substanz-Rezeptor-Komplexen) an verschiedene Typen von RE und die Interaktionen dieser Komplexe mit anderen Regulationsfaktoren in diesem Bereich beeinflusst (Stancel et al., 1995, Pilat et al.,1993).

Fremdstoffe können deshalb nicht nur eine generelle Verstärkung oder Blockierung von Steroidhormonwirkungen, z. B. von estrogenen Effekten, bewirken, sondern auch ***qualitativ verschiedene Gen-Aktivierungsmuster*** auslösen. Ein Beispiel dafür ist die unterschiedliche Wirkung von Estradiol und Tamoxifen, einem in der Humanmedizin verwendeten, partiellen Estrogen-Rezeptor-Agonisten, auf estrogenregulierte Gene im Uterus der Ratte: Das natürliche Hormon, Estradiol aktiviert gleichzeitig 4 Protoonkogene, c-fos, c-jun, jun-B und jun-D, während etwa 6 Stunden (Chiappetta et al., 1992). Tamoxifen aktiviert nur c-fos und jun-B, diese aber während 48 Stunden (eine für Protoonkogene ungewöhnlich lange Aktivierung) (Nephew et al., 1993).

3. Entwicklungstoxizität hormonaktiver Chemikalien

3.1 Steuerung der sexuellen Differenzierung von Genitalorganen und Gehirn durch Steroidhormone

Die sexuelle Differenzierung des Organismus verläuft dreistufig:

1. Das ***chromosomale Geschlecht*** (Säuger: männlich XY, weiblich XX) wird bei der Befruchtung der Eizelle durch das Spermium (X oder Y) determiniert.
2. Darauf folgt die Bestimmung des ***gonadalen Geschlechts***. Bei einem genetisch männlichen XY-Säugerembryo entwickelt sich die noch indifferente Gonadenanlage unter Einwirkung des SRY-Gens, das auf dem Y-Chromosom kodiert ist (bzw. TDF, Testis determining factor), und eines weiteren, durch ein autosomales Gen kodierten Faktors (SOX9), zum primitiven Hoden (Testis). Für die Ausbildung

eines Ovars (Eierstock) braucht es das DAX1-Gen (auf dem X Chromosom) und das auf einem autosomalen Gen kodierte WNT4a.

3. ***Sexueller Phänotyp.*** Die Entwicklung des *hetero*sexuellen Phänotyps, beim Säuger das Männchen, ist abhängig von Sexualhormonen. Die Leydig-Zellen im primitiven Hoden produzieren ***Testosteron.*** Testosteron fördert die Weiterentwicklung des Hodens und die Ausdifferenzeriung des männlichen Genitaltrakts (Wolff'scher Gang). Aus dem Wolff'schen Gang entwickeln sich die akzessorischen Sexualorgane wie Samenbläschen, Samenleiter und Nebenhoden. Die Sertoli-Zellen des primitiven Hodens sezerniern gleichzeitig MIS (Mullerian Inhibiting Substance), ein Glykoprotein, welches die Ausbildung des weiblichen Genitaltrakts (Müllerscher Gang) aktiv unterdrückt. Prostata und Präputialdrüsen entstehen aus dem Sinus urogenitalis, Penis und Skrotum entstehen aus dem Geschlechtswulst. Fehlt Testosteron und MIS, entwickelt sich beim Säuger aus der indifferenten Gonade ein Ovar und der Phänotyp wird weiblich. Androgene und Estrogene sind in Embryonen und Feten beiderlei Geschlechts präsent, aber in unterschiedlichem Verhältnis und unterschiedlichen Mengen. Zusätzlich bestehen Unterschiede in der Expression von Steroidhormon-Rezeptoren in verschiedenen Phasen der Entwicklung. Dieses delikate hormonelle Gleichgewicht ist vor allem im noch instabilen Zustand früher Entwicklungsperioden hochsensibel gegenüber Interaktionen mit hormonaktiven Chemikalien.

3.2. Störung sexueller Differenzierungsprozesse durch hormonaktive Chemikalien

Interferieren hormonaktive Chemikalien während der embryonalen sexuellen Determinierungsphase mit der Wirkung von Sexualhormonen, kann Hermaphroditismus (ein XY-Männchen wird phänotypisch weiblich) entstehen. Während der sexuellen Differenzierung des männlichen Genitaltrakts, des Gehirns oder anderer Organe in der Fetalperiode sind Einwirkungen von androgen-, antiandrogen- oder von estrogen-wirksamen Chemikalien verbunden mit Fehlbildungen (z. B. Hypospadie oder Feminisierung des männlichen Genitale) oder mit sexuellen Fehlfunktionen, die oft erst in der Pubertät oder im Erwachsenenalter in Erscheinung treten (Peterson, 1993, 1996). *Fremdstoffexpositionen des adulten Organismus lassen sich in keinem Fall mit toxischen Wirkungen derselben Substanz während der Entwicklung vergleichen, da während der Entwicklung spezifische entwicklungsbiologische Prozesse beeinflusst werden. Auch sind die Bedingungen für Metabolismus und Ausscheidung völlig anders.*

Antiandrogene. Der Metabolit des als Medikament verwendeten Flutamids, Hydroxiflutamid, und die Metaboliten des Fungizids Vinclozolin, sowie der DDT-Metabolit p,p'-DDE blockieren als Antiandrogene die Aktivierung des Androgen-Rezeptors durch körpereigene Androgene, z. B. Testosteron. Applikation dieser Substanzen an trächtige Ratten während der Fetalperiode führte bei den Nachkommen zur Ausbildung feminisierter Genitalien und zu Gewichtsreduktionen der inneren männlichen Genitalorgane (Samenbläschen und Prostata) (Kelce und Gray, 1997). Analoge Effekte sind auch nach bestimmten Phthalaten beobachtet worden (Gray and Kelce, 1998).

Estrogene Agonisten. Estrogene Agonisten greifen typischerweise am ***Estrogen-Rezeptor*** an. Dieser ist während der pränatalen Entwicklung sowohl in der Anlage des männlichen Genitaltrakts (Wolff'scher Gang), als auch im Sinus urogenitalis

präsent. Die von verschiedenen embryonalen Geweben abstammenden Organe können verschieden auf Estradiol oder auf hormonaktive Substanzen reagieren. Bei Labornagern bewirkt eine pränatale DES-Exposition eine Reduktion des Hodenwachstums mit verminderter Proliferation der Sertoli-Zellen (Orth 1984, Sharpe, 1996), und verringert dadurch die Spermienproduktionskapazität im adulten Alter. Analoge Befunde sind bei Knaben nach pränataler DES-Exposition erhoben worden (Sharpe, 1996). Pränatale Belastung durch die Plastikkomponente Bisphenol A (20 ng/g an 7 Fetaltagen) führte bei Mäusen zu einer 20%igen Reduktion der Spermienproduktion (vom Saal, 1998).

Die pränatale Entwicklung der akzessorischen Geschlechtsdrüsen wird ebenfalls durch Bisphenol A beeinflusst (vom Saal 1998). In sehr niedriger Dosierung (2 ng/g) an trächtige Mäuse abgegeben, reduzierte diese Substanz das Gewicht des Nebenhodens und erhöhte dasjenige der Präputialdrüse der männlichen Nachkommen. Die beiden Bisphenol A-Dosierungen liegen im Bereich von Mengen, die während der ersten Stunde nach einer Zahnfüllung aus der Füllung ausgewaschen werden. Interessant sind neue Erkenntnisse über die Prostataentwicklung. Diese reagiert mit einer glockenförmigen Dosis-Wirkungskurve auf estrogen aktive Substanzen: Eine 50%ige Erhöhung des Plasma-Estradiol-Spiegels in männlichen Mäuse-Feten stimulierte das Prostata-Wachstum im Fetus und resultierte in einer vergrößerten Prostata in adulten Nachkommen, während hohe fetale Estradiolkonzentrationen eine Reduktion des adulten Prostatagewichts zur Folge hatten. Die Vergrößerung der Prostata war assoziiert mit einer sechsfach erhöhten Menge von Androgen-Rezeptoren in der Prostata, was potentiell die Androgensensitivität der Drüse erhöht (vom Saal, 1997). DES übte eine analoge Doppelwirkung aus, mit Stimulation des Prostatawachstums bei sehr niedrigen Konzentrationen (0.02-2.0 ng/g) und Hemmung der Prostataentwicklung bei hohen Konzentrationen (200ng/g).

Estrogen aktive Substanzen (Estradiol, Chlordecone, DES, o,p'DDE) können auch (mit geringerer Affinität) an den ***Androgen-Rezeptor*** binden. Es erscheint daher möglich, daß die entwicklungstoxische Wirkung solcher Substanzen zum Teil auf einer Verdrängung körpereigener Androgene vom Androgen-Rezeptor beruht. Dies könnte die Ähnlichkeit der Effekte von Antiandrogenen und Estrogenen auf die männliche Genitalentwicklung erklären (Kelce und Gray, 1997).

Dioxine. Nach relativ niedrigdosierter pränataler TCDD-Exposition weisen männliche Ratten Gewichtsdefizite der inneren Reproduktionsorgane auf, zeigen eine verringerte Spermienproduktion und einen in weibliche Richtung veränderten Ano-Genitalabstand (ein Maß für den pränatalen Androgenstatus) (Peterson et al., 1993). Auch bei weiblichen Nachkommen Dioxin-exponierter Mütter wurden permanente Störungen der Reproduktionsfunktionen und die Ausbildung von Pseudohermaphroditismus beobachtet. Der diesen Effekten zugrundeliegende Wirkungsmechanismus ist nicht bekannt.

Differenzierung des Zentralnervensystems. Aufgrund der unterschiedlichen Bedeutung von Androgenen und Estrogenen für die Differenzierung der Genitalorgane und des Zentralnervensystems ist zu erwarten, daß hormonaktive Substanzen die Differenzierung von peripheren Organen und Gehirn unterschiedlich beeinflussen können. Eine estrogen wirksame Substanz kann einerseits beim genetischen Männchen die Ausbildung von Teilen des weiblichen Genitaltraktes (Müller'scher Gang) fördern, andererseits beim genetischen Weibchen die Entwick-

lung des Gehirns in männliche Richtung lenken. Bei Mädchen von Müttern, die während der Schwangerschaft mit dem synthetischen Estrogen Diethylstilbestrol behandelt worden waren, ist eine Verstärkung von bisexuellem Verhalten beobachtet worden (Ehrhardt et al., 1985), was mit der These einer Verschiebung der Gehirndifferenzierung in männliche Richtung zu vereinbaren wäre. Die Wirkung hormonaktiver Umweltchemikalien auf die Gehirnentwicklung ist bisher wenig untersucht worden. Bei der Ratte führt pränatale Dioxin (TCDD)- oder PCB-Exposition zu einer Abschwächung männlicher Verhaltensformen (Sexualverhalten und sexuell dimorphes nicht-reproduktives Verhalten) bei adulten Nachkommen (Peterson et al., 1993; Hany et al., 1998). Die zugrundeliegenden Mechanismen sind auch hier nicht bekannt. Im Fall der Gehirndifferenzierung wären die Effekte von TCDD mit seiner antiestrogenen Wirkungskomponente (Safe und Krishnan, 1995) vereinbar. Auch verstärkter Abbau von Steroidhormonen wegen Enzyminduktion ist zu diskutieren; bei den TCDD-exponierten Feten waren die Testosteronspiegel im Blut reduziert (Peterson et al., 1993).

Intrauterine Schutzmechanismen und Toxikokinetik. Aus dem Gesagten wird verständlich, daß der Säugerfetus vor (zuviel) Estrogen geschützt werden muß. Die Leber des Rattenfetus bildet ein Protein, -Fetoprotein, das Estradiol bindet (McEwen, 1988). Testosteron wird nicht gebunden und kann deshalb seine Zielorgane im (männlichen) Fetus erreichen. Beim Menschen scheint von Bedeutung, daß die Plazenta das schwächer wirksame Estron bildet, das präferentiell in den mütterlichen, nicht in den fetalen Kreislauf abgegeben wird. Estrogen wirksame, nicht-steroidale Fremdstoffe werden durch diese Schutzmechanismen nicht zurückgehalten und können dank meist kleinem Molekulargewicht und guter Fettlöslichkeit über die Plazenta in den Fetus gelangen.

4. Diagnostik und Maßnahmen

Das Problem der hormonaktiven Fremdstoffe befindet sich derzeit noch im Stadium der Erarbeitung epidemiologischer und experimentell-toxikologischer Grundlagen. Verschiedene nationale und internationale Gremien, z. B. die Environmental Protection Agency der USA und die OECD, befassen sich mit der Ausarbeitung von Teststrategien zur Identifikation hormonaktiver Chemikalien und zur Risikoevaluation. Letztere erfordert nach allgemeiner Ansicht Mehrgenerationen-*in vivo*-Studien. Im jetzigen Zeitpunkt ist es noch nicht möglich, zuverlässige Aussagen über das Risiko der Belastung durch hormonaktive Fremdstoffe zu machen und kritische Belastungsgrenzen anzugeben. Wie oben dargelegt, ist die Situation sehr komplex, da Mensch und Tiere einem Gemisch hormonaktiver Fremdstoffe ausgesetzt sind. Dabei ist die relative Bedeutung der Belastung durch Phytoestrogene einerseits, durch hormonaktive Chemikalien andererseits nicht geklärt.

Im Einzelfall ist es deshalb meist nicht möglich, Störungen von Reproduktionsfunktionen auf Belastung durch einen bestimmten Fremdstoff zurückzuführen, mit Ausnahme von Fällen überdurchschnittlicher, z. B. beruflicher Belastung. In solchen Fällen kann die Bestimmung von Fremdstoffkonzentrationen im Blut (ev. Humanmilch) zusätzliche Grundlagen für Maßnahmen zur Reduktion der Belastung liefern. Ansonsten ist man auf eine symptomatische Behandlung der Fertilitätsprobleme angewiesen. Bei Dysfunktionen, die wahrscheinlich auf Entwicklungsstörungen beruhen, ist von Fremdstoffanalysen im Erwachsenenalter keine Information zu

erwarten. Hier müsste die Belastung der Mutter analysiert werden via Schadstoffanalyse der Frauenmilch. Die Belastung der Humanmilch mit Fremdsubstanzen ist einerseits relevant für den Säugling, andererseits reflektiert sie die Belastung der Mutter und des Kindes mit fettlöslichen Chemikalien während der Schwangerschaft. Die vorgeburtliche Periode erweist sich zunehmend als eine gegenüber chemischen Einflüssen sehr sensitive Phase. Mit der Präsenz synthetischer Moschus-Parfümstoffe und von UV-Filtern in der Humanmilch (Rimkus und Brunn, 1996, Hany und Nagel, 1995) schließt sich die mütterliche Schadstoffbelastung den modernen Life Style Gepflogenheiten sehr nahe an. Dies wiederum ruft nach einem umfassenden und regelmäßigen Screening der vorgeburtlichen Belastung.

5. Literatur

Bonde, J.P.E., Kolstad, H. (1997) Fertility of Danish Battery workers. Int J Epidemiol Int Epidemiol Assoc 26:1281 - 1288.

Chiappetta, C., Kirkland, J.L., Loose-Mitchell, D.S., Murthy, L., Stancel, G.M. (1992). Estrogen regulates expression of the *jun* family of protooncogenes in the uterus. J Steroid Biochem Molec Biol 41: 113-123.

Comhaire, F., Van Waeleghem, K., De Clercq, N., Schoonjans, F. (1996) Declining sperm quality in European men. Andrologia 28: 300 - 301.

Crisp, T.M. et al. (1998) Environmental Endocrine Disruption: An Effects Assessment and Analysis. Environm Health Persp Vol 106 Suppl. 1, 11 - 57.

Ehrhardt, A., Meyer-Bahlburg, H., Rosen, L., Feldman, J., Veridiano, N., Zimmerman, I., McEwen, B.S. (1985). Sexual orientation after prenatal exposure to exogenous estrogen. Arch. Sex. Behav. 14: 57-75.

Gray, L.E.,Kelce, W. (1998) Xenoendocrine disruptors - laboratory studies on male reproductive effects. Toxicology Letters Suppl 1 95: 17 (Abstract).

Hany, J., Lilienthal, H., Roth-Härer, A., Sarasin, A., Lichtensteiger, W., Winneke, G. (1998) Alterations in sex hormone dependent functions by in utero exposure to polychlorinated biphenyls. N.-S. Arch Pharmacol 357, Suppl: R127.

Hany, J., Nagel, R (1995) Nachweis von UV Filtersubstanzen in der Muttermilch. Deutsche Lebensmittelrundschau 91. Jahrgang, Heft 11: 341 -345.

Kelce WR, (1994) Environmental hormone disruptors: Evidence that vinclozolin developmental toxicity is mediated by antiandrogenic metabolites. Toxicol Appl Pharmacol 126:276-285.

Kelce WR, (1995) Persistent DDT metabolite *p,p'*-DDE is a potent androgen- receptor antagonist. Nature 375:581-585.

Kelce, W.R., Gray, L.E. (1997) Endocrine disruptors: Effects on sex steroid hormone receptors and sex development. In: Drug toxicity in embryonic development II (Kavlock, R.J. and Daston, G.P., eds.) Springer, Berlin 1997, p 435 - 485.

McEwen, B.S. (1988) Actions of sex hormones on the brain: 'organization' and 'activation' in relation to functional teratology. Progr. Brain Res. 73: 121-134.

Mocarelli, P., Brambilla, P., Gerthoux, P.M., Patterson, D.G., Needham, L.L. (1996) Change in sex ratio with exposure to dioxin. The Lancet 348: 409.

Möller, H. (1996) Recent decrease in the male: Female ratio among newborns in Denmark. Lancet 1996: 348: 828 - 829.

Nephew, K.P., Polek, T.C., Akcali, K.C., Khan, S.A. (1993) The antiestrogen tamoxifen induces *c-fos* and *jun-B*, but not *c-jun* or *jun-D*, protooncogenes in the rat uterus. Endocrinology 133: 419-422.

Perez, P., Pulgar, R., Olea-Serrano F., Villalobos M, Rivas, A., Metzler, M., Pedraza, V., Olea, N. (1998) The estrogenicity of bisphenol A-related diphenylalkanes with various substituents at the central carbon and the hydroxy groups. Environm Health Perspect 106: 167-174.

Peterson, R.E., Theobald, H.M., Kimmel, G.L. (1993) Developmental and reproductive toxicity of dioxins and related compounds: cross-species comparisons. Crit Rev Toxicol 23: 283-335.

Peterson, R.E., Moore, R.W., Mably, T.A., Bjerke, D.R., Goy, R.W. (1996) Auswirkungen von Dioxin auf die Entwicklung des männlichen Reproduktionssytems. In "Sinkt die Fertilität?" (M. Schlumpf und W. Lichtensteiger, Hrsg.) Verlag Kind und Umwelt, Zürich, pp. 197-224.

Petersen, D.N., Tkalcevic, G.T., Koza-Taylor, P.H., Turi, T.G., Brown, T.A. (1998) Identification of estrogen receptor beta2, a functional variant of estrogen receptor beta expressed in normal rat tissues. Endocrinology 139: 1082-1092.

Pilat, M.J., Hafner, M.S., Kral, L.G., Brooks, S.C. (1993) Differential induction of pS2 and cathepsin DmRNA by structurally altered estrogens. Biochemistry 32: 7009-7015.

Platt, A.E.(1995) Breast and Prostate Cancer Rising. Vital Signs, 1995 136-38.

Rimkus, G. und Brunn, H. (1996/1997) Synthetische Moschus Duftstoffe - Anwendung, Anreicherung in der Umwelt und Toxikologie. Ernährungs Umschau 43 (1.Teil) Heft 12 442-449 /44 (2. Teil) Heft 1: 4-9.

Safe, S., Krishnan, V. (1995). Cellular and molecular biology of aryl hydrocarbon (Ah) receptor-mediated gene expression. Arch Toxicol, Suppl. 17: 99-115.

Schlumpf, M., Lichtensteiger, W., Hrsg. (1996). Sinkt die Fertilität? Daten zur Wirkung von Umweltchemikalien auf Fortpflanzungsprozesse bei Mensch, Wirbeltieren und wirbellosen Tieren. Verlag Kind und Umwelt, Zürich, 265pp.

Sharpe, R.M. (1996) Sind estrogene Umweltchemikalien verantwortlich für Erkrankungen des männlichen Reproduktionstrakts während der frühen Entwicklung? In "Sinkt die Feritilität?" (M. Schlumpf und W. Lichtensteiger, Hrsg.), Verlag Kind und Umwelt, Zürich, pp. 175-196.

Stancel, G.M., Boettger-Tong, H.L., Chiappetta, C., Hyder, S.M., Kirkland, J.L., Murthy, L., Loose-Mitchell, D.S. (1995) Toxicity of endogenous and environmental estrogens: what is the role of elemental interactions? Environm Health Perspect 103 (Suppl. 7): 29-33.

Steinmetz, R., Brown, N.G., Allen, D.L., Bigsby, R.M., Ben-Jonathan, N. (1997) The environmental estrogen bisphenol A stimulates prolactin release *in vitro* and *in vivo*. Endocrinology 138: 1780-1786.

Stoker T.E (1995) The effect of thiram on the CNS control of luteinizing hormone in the male and female rat. Toxicologist 15:94-99.

Swan, H., Elkin, E.P., Fenster, L. (1997) Have sperm densities declined? A Reanalysis of global trend data. Environ Health Perspect 105: 1228-1232.

Thrupp, L.A. (1991) Sterilization of workers from Pesticide exposure: the causes and consequences of DBCP - induced damage in Costa Rica. Int. J. of Health Services 21: 731-757.

Toppäri, J. et al. (1996) Male reproductive health and environmental xenoestrogens. Environ Health Perspect. 104: Suppl. 4, 741-803.

vom Saal, F.S., Timms, B.G., Montano, M.M., Palanza, P., Thayer, K.A., Nagel, S.C., Dhar, M.D., Ganjam, V.K., Parmigiani, S., Welshons, W.V. (1997) Prostate enlargement in mice due to fetal exposure to low doses of estradiol or diethylstilbestrol and opposite effects of high doses. Proc Natl. Acad Sci USA 94: 2056-2061.

vom Saal, F.S., Cooke, P.S., Buchanan, D.L., Palanza, P., Thayer, K.A., Nagel, S.C., Parmigiani, S., Welshons, W.V. (1998) A physiologically based approach to the study of bisphenol A and other estrogenic chemicals on the size of reproductive organs, daily sperm production, and behavior. Toxicol Ind Health 14: 239-260.

Weybridge: European Workshop: Impact of Endocrine Disruptors on Human Health and Wildlife, Weybridge, UK, 1996.

Wolff, M.S. (1994). Ist die Belastung mit Organochlorchemikalien ein Faktor für die Entstehung von Brustkrebs? In "Schadstoffe Heute" (M. Schlumpf und W. Lichtensteiger, Hrsg.) Verlag Kind und Umwelt, Zürich, pp. 111-123.

Wolff, M.S. (1994) Workshop: Hormone, Hormone Metabolism, Environment and Breast Cancer, Health Perspectives 105, Suppl. 3 Breast Cancer, 1997.

Hormonaktive Substanzen in (bayerischen) Gewässern – Herkunft und Gefährdungspotential

Dr. Wolfgang Kalbfus, Bayerisches Landesamt für Wasserwirtschaft
- Institut für Wasserforschung, München

Hormonell wirksame Substanzen in den verschiedenen Umweltkompartimenten sind seit Jahren ein Thema, das mit höchster Priorität behandelt wird, da zum einen statistische Erhebungen in Europa und in USA eine erschreckende Abnahme der Fertilität bei Männern aufgezeigt haben und in Hinblick auf das aquatische Ökosystem Reproduktions- und Entwicklungsstörungen bei Fischen und anderen Tieren beobachtet worden sind. Es ist bekannt, daß Fortpflanzungs- und Entwicklungsprozesse am empfindlichsten auf Umweltchemikalien reagieren.

Neben den körpereigenen, synthetischen und pflanzlichen Östrogenen sind aus der Vielzahl der hormonell (endokrin) wirksamen Substanzen, zu denen in erster Linie chlorierte Pestizide und coplanare PCB gehören, einige Industriechemikalien von besonderer Bedeutung, da sie bis heute in z. T. erheblichen Mengen produziert und verwendet werden. Für die Alkylphenole und hier speziell das technische Produkt 4-iso-Nonylphenol und dessen Derivate sowie für Bisphenol-A und einige Phthalate ist eine östrogene Aktivität durch geeignete Bioassays mit entsprechender Plausibilität nachgewiesen worden. Als bisher einzige Substanz mit androgener Wirkung hat sich Tributylzinn herausgestellt.

Umfangreiche Untersuchungen zu Exposition und Stoffstromanalysen dieser Verbindungen wurden in den vergangenen zwei Jahren vom Bayer. Landesamt für Wasserwirtschaft durchgeführt. Der Schwerpunkt der Arbeiten lag bei der Ermittlung von Analysendaten als Grundlage für eine mögliche Ursache - Wirkungsbeziehung.

Bei der breiten Anwendung von 4-iso-Nonylphenol und dessen Derivaten, bei einer Produktionskapazität in Deutschland von mehr als 35.000 t/a und einer hohen Persistenz dieser Verbindung ist es nicht verwunderlich, daß in allen Umweltkompartimenten meßbare Konzentrationen auftreten. 70 - 80 % werden zu Nonylphenolethoxylaten umgesetzt, von denen ein Großteil im Gewerbe- und Industriebereich verwendet wird:

- in der metallverarbeitenden Industrie
- zur Herstellung von Schmieröladditiven
- in der Textilindustrie
- als Polymerisationshilfsmittel für Kunststoffe
- Zusatzstoffe in Farben
- zur Herstellung von Epoxidharzen
- als Komponente in der Pestizidformulierung
- in Flotationsmitteln
- als Komponente in Wasch- und Reinigungsmitteln.

Gerade die letztgenannte Anwendung führte aufgrund der Messungen, die Giger, Stephanou und Schaffer [1] bereits 1982 in verschiedenen Umweltkompartimenten machten, zu einer Selbstbeschränkung der Industrie. Hierin wurde festgehalten, daß auf eine Verwendung von Nonylphenolethoxylaten in Haushaltsreinigern ab 31.12.1986 verzichtet wird. Stufenweise sollten bis Ende 2000 auch im Bereich der Industrie in ganz Europa die Nonylphenolethoxylate ersetzt werden. Diese Selbstbeschränkung wurde vereinbart nicht aufgrund der hormonellen Wirkung des Metaboliten Nonylphenol sondern aufgrund der hohen aquatischen Toxizität dieser Verbindung. Während die als nichtionische Tenside eingesetzten Ethoxylate gegenüber Daphnia Magna ein EC 50 (effect concentration) von 5-10 mg/l haben, wird der EC 50 für Nonylphenol mit 180 µg/l angegeben und ein NOEC (no observed effect concentration) im Reproduktionstest von 1 µg/l [2]. Vor dem Hintergrund der Diskussion über endokrin wirkende Substanzen kommt dem Nonylphenol in den letzten Jahren besondere Bedeutung zu, nachdem 1991 Soto et al eine östrogene Wirkung festgestellt haben und Sumpter in England unterhalb von Kläranlagen eine östrogene Wirkung durch Vitellogeninanalyse (Eidotterproteinanalyse) bei männlichen Fischen nachgewiesen hat. Die Einstufung des Nonylphenols in der östrogenen Wirkung gegenüber der Bezugssubstanz für östrogene Wirkung, dem ß-Estradiol, liegt bei 10^{-6}.

Untersuchungen an bayerischen Oberflächengewässern in den Jahren 1995-1997 haben gezeigt, daß je nach Bevölkerungsdichte und industrieller Struktur unterhalb von Kläranlagen Konzentrationen zwischen 0,01 µg/l und 0,2 µg/l nachgewiesen werden konnten. In Tabelle 1 sind einzelne Daten in Fließgewässern wiedergegeben.

Tab. 1: Nonylphenol in bayerischen Fließgewässern (Werte in ng/l)

Fließ-gewässer	Anzahl der Messungen	Minimum	Maximum	Mittelwert/ Wert
Alzkanal	1	–	–	62
Ammer	1	–	–	23
Aufseß	3	14	23	17
Baunach	6	n. n.	44	24
Donau	9	10	51	24
Iller	2	10	12	11
Inn	5	4	43	23
Isar	11	5	210	45
Itz	1	–	–	30
Lech	18	8	100	32
Main	12	11	190	55
Naab	1	–	–	14
Regen	1	–	–	24
Regnitz	2	28	36	32
Rodach	1	–	–	30
Saalach	1	–	–	6
Salzach	4	3	142	56
Schmutter	2	17	24	21
Sinn	2	50	67	59
Wertach	1	–	–	18
Wiesent	1	–	–	19
Würm	1	–	–	7
Gesamt	87	n. n.	210	34

Das Nonylphenol wird in den Flußsedimenten angereichert. Die Höhe der Anreicherung ist abhängig vom Gesamtgehalt der organischen Substanz im Sediment und nicht wie bei den Schwermetallen ausschließlich von der Korngrößenverteilung. Einige Sedimente wurden auf Nonylphenol untersucht. In Tabelle 2 sind einige Daten zusammengestellt.

Tab. 2: Nonylphenol in Flußsedimenten (Werte in µg/kg mT)

Fluß	org. TS %	Nonylphenol
Inn	3,4	52
Iller	3	71
Illerkanal	19	222
Isar	1,4	33
Lech	4,9	37
Naab	9,2	75
Regen	22	258

Die Konzentrationen in den Fließgewässern sind in erster Linie zurückzuführen auf die punktförmigen Einleitungen der Kläranlagen. 17 Kläranlagen unterschiedlicher Technologie und Belastung und mit unterschiedlicher Struktur der Indirekteinleiter wurden untersucht. Es ergaben sich folgende Konzentrationen in den Abläufen:

Anzahl der untersuchten Anlagen	17
Minimum	38 ng/l
Maximum	850 ng/l
Mittelwert	266 ng/l
Medianwert	240 ng/l

Die Hauptmenge des Nonylphenols, das in die Kläranlagen eingeleitet wird, wird am Klärschlamm adsorbiert. Der Anreicherungsfaktor liegt zwischen 10^3 und 10^4. Einige der Klärschlämme aus den genannten 17 Kläranlagen wurden untersucht. In Tabelle 3 sind die Daten zusammengestellt.

Tab. 3: Nonylphenol in Klärschlämmen (Werte in mg/kg mT)

Probenbezeichnung	4-iso-Nonylphenol
KS 1	2,1
KS 2	38
KS 3	90
KS 4	480
KS 5	600
KS 6	1300

Trotz der hohen Anreicherungsrate, besitzt das Nonylphenol eine nicht unerhebliche Mobilität aufgrund seiner hydrophilen Eigenschaft. Bei den Analysen von Grundwasserproben, die aus Uferfiltraten entnommen wurden, konnten mit zunehmender Entfernung vom Gewässer sinkende Konzentrationen von 150 ng/l bis 47 ng/l festgestellt werden. Neben dieser Infiltration durch die Fließgewässer waren bei der Untersuchung von Grundwässern in Bayern z. T. nennenswerte Konzentrationen an Nonylphenol feststellbar.

Über spezielle Eintragspfade herrscht bisher keine eindeutige Klarheit. Neben der Kontamination durch ausgebrachte Klärschlämme ist natürlich auch die Verwendung bei der Formulierung von Pestiziden eine mögliche Quelle für diese Verbindung. Festzuhalten ist, daß die Größenordnung der Nonylphenol-Konzentration in den Grundwässern vergleichbar ist mit der Konzentration in Fließgewässern. Im einzelnen wurden folgende Analysenergebnisse erzielt:

Anzahl der Probenahmestellen		51
Minimum	<1 ng/l	
Maximum	400 ng/l	
Mittelwert	35 ng/l	
Medianwert	28 ng/l	

Bemerkenswert ist dieser Befund, wenn man in Betracht zieht, daß durch eine in Bayern übliche Trinkwasseraufbereitung kaum eine Minderung der Konzentration zu erwarten ist.

Rohwasseruntersuchungen einer Trinkwasserversorgung ergaben 93 ng/l und 47 ng/l, das aufbereitete Trinwasser enthielt 27 - 65 ng/l.

Neben chlorierten Spritzmitteln und anderen Industriechemikalien sind unter dem Aspekt der endokrinen Wirkung die Estrogene von besonderem Interesse. Sowohl synthetische Verbindungen wie das 17-alpha-Ethinylestradiol (EE2) als einer der Hauptbestandteile oraler Kontrazeptiva, als auch das natürliche 17-beta-Estradiol und seine Metaboliten Estron und Estriol gehören zu den Steroidhormonen, deren biologische Aktivität um ein Vielfaches höher ist als die der Industriechemikalien und Pflanzenschutzmitteln. Untersuchungen haben gezeigt, daß die hormonelle Wirkung des EE2 auf Regenbogenforellen schon bei einer Konzentration von 0,3 ng/l zu beobachten ist. Neueste Messungen des deutschen Herstellers schließen sogar Effekte im aquatischen System bei einem Wirkstoffgehalt von 0,1 ng/l nicht aus.

Um einen ersten Überblick über die Exposition im Wasser zu bekommen wurden im vergangenen Jahr etwa 70 - 80 Proben aus den verschiedenen Stufen des Wasserkreislaufs untersucht. Schwerpunkte bei der Probenahme bildeten:

- bayerische Kläranlagen unterschiedlicher Größe mit unterschiedlichem Einzugsgebiet,
- Grundwasserpegel, die möglicherweise durch Fließgewässer beeinflußt sind,
- Trinkwasserversorgungen, die Uferfiltrate verwenden,
- Trinkwasserversorgungen in landwirtschaftlich genutzten Gebieten.

Während die körpereigenen Estrogene im Organismus gebildet, großteils in metabolisierter und konjugierter Form von Mensch und Tier ausgeschieden werden und so fortwährend in den Wasserkreislauf gelangen können, ist der Eintrag von EE2 durch die Produktionsmenge von ca. 60 kg/a in Deutschland und die Zielgruppe der Anwender limitiert. Die tägliche Anwendungsdosis in Hormonpräparaten wie der „Anti-Baby-Pille" liegt für den synthetischen Wirkstoff bei 10 - 50 µg; demgegenüber kann bei Frauen die Estrogenproduktion bei 450 µg/d liegen. Unabhängig von der höheren Löslichkeit und Stabilität der freien, synthetischen Estrogene gegenüber den freien, natürlichen Verbindungen, wäre somit ein deutliches Übergewicht an natürlichen Estrogenen bzw. Metaboliten zu erwarten, was jedoch durch die wenigen bisher vorliegenden Untersuchungen anderer Institute nicht bestätigt wurde.

Neben der Konzentration der freien und damit hoch-wirksamen Estrogene im Wasser war für uns die Konzentration der Konjugate von Interesse. Es wurden also bei allen Wasserproben zuerst von einem Teil die freien Estrogene gemessen und anschließend der zweite Teil der Probe der Hydrolyse unterworfen, um die Konjugate zu spalten. Hieraus wurde dann der Gesamtgehalt an estrogenen Verbindungen bestimmt.

Unsere Ergebnisse zeigen (Tabelle 4), daß in allen Arten von Wässern je nach Herkunft in der Mehrzahl natürliche Estrogene gefunden werden. Insbesondere das Estron ist in allen Grundwässern und in 50 % der Trink- und Oberflächenwasserproben nachweisbar. Sieht man sich die Mengenverteilung bei den positiven Proben an (Tabelle 5), so wird deutlich, daß mit wenigen Ausnahmen EE2 als freie Verbindung unter 1 ng/l liegt, während die freien natürlichen Estrogene und ihre Metaboliten vor allem in Kläranlagenabläufen deutlich höher liegen. Betrachtet man allerdings das Wirkungspotential des EE2, das etwa viermal größer ist als bei 17-beta-Estradiol und um den Faktor 10^6 größer ist als beim Nonylphenol, so kommt man zu dem Schluß, daß der Beitrag des EE2 trotz niedriger Konzentration an der gesamten hormonellen Wirkung im aquatischen Bereich nicht zu vernachlässigen ist.

Tab. 4: Anzahl der Proben über der Bestimmungsgrenze von 0,1 ng/l

		freie Verbindung			**freie Verbindung + Konjugate**		
Probenart	Anzahl	EE2	ß-Estradiol	Estron	EE2	ß-Estradiol	Estron
Trinkw.	15	3	1	2	4	3	9
Grundw.	7	3	0	3	2	1	7
Rohw.	4	0	0	1	1	0	2
Oberfl.-W	40	6	13	13	12	18	24
Kläran.Abl.	5	3	4	3	4	5	3

Tab. 5: Ergebnisbereiche der positiven Proben in ng/l

	freie Verbindung			freie Verbindung + Konjugate		
Probenart	EE2	ß-Estradiol	Estron	EE2	ß-Estra-diol	Estron
Trinkw.	0,1-1,4	0,2	0,2-0,8	0,1-2,4	0,2-0,3	0,4-1,2
Grundw.	0,1-0,2	–	0,2	0,2	0,6	0,3-2,3
Rohw.	–	–	0,8	0,4	–	0,8-1,4
Oberfl.-W	0,1-0,2	0,1-2,5	0,1-4,5	0,1-2,5	0,1-3	0,1-4,9
Kläran.Abl.	0,2-0,6	0,2-0,6	0,3-18	0,2-1,6	0,2-2	0,4-57

Literatur:

[1] Giger, W.; Stephanou, E; Schaffer, C.: Persistent Organic Chemicals in Sewage Effluents (1. Identifikation of Nonylphenols and Nonylphenolethoxylates by Glass Capaillary GC/MS). The Chemisphere, Vol. 10, Nr. 11/12, 1253-1263

[2] Kopf, W.; Wirkung endokriner Stoffe in Biotests mit Wasserorganismen. Bayerisches Landesamt für Wasserwirtschaft, Institut für Wasserforschung München (ed), Oldenbourg (1997)

Vorkommen hormonaktiver Substanzen (Phyto- und Xenoöstrogene) in der Nahrung und in industriellen Produkten

Abschätzung des Risikos für den Menschen

Prof. Dr. Wolfgang Dekant, Institut für Toxikologie der Universität Würzburg

Einleitung

Die Exposition des Menschen und der Tierwelt gegenüber Xenoöstrogene wird als Ursache für eine Vielzahl von Schadwirkungen (z. B. erhöhte Inzidenzen von Brust- und Prostatakrebs, erniedrigte Spermienproduktion des Mannes, Schädigung der Leibesfrucht, ungünstige Veränderung des Immunsystems, verringerte Fortpflanzungsfähigkeit von Vögeln, Fischen, Alligatoren und anderen Tieren) diskutiert. Als "Xenoöstrogene" wird eine Reihe unterschiedlicher, synthetischer Verbindungen bezeichnet, die in verschiedenen Untersuchungssystemen östrogene Wirkungen zeigen. Zu solchen Verbindungen gehören beispielsweise in der Umwelt persistierende chlorierte Insektizide, aber auch andere verbreitet genutzte Stoffe wie bestimmte Weichmacher, Tenside und Desinfektionsmittel.

In diesem Artikel sollen mögliche Risiken der Expositions des Menschen gegenüber östrogenartig wirkenden Industriechemikalien auf Basis der bekannten Daten und toxikologischer Grundprinzipien abgeschätzt werden.

Allgemeines zur Risikocharakterisierung

Die Wahrscheinlichkeit des Eintritts eines Gesundheitsschadens nach Exposition gegen einen Stoff (Risiko) ist abhängig von der aufgenommenen Dosis, der dem Stoff eigenen Wirkungsstärke und der Dosis- und Zeitabhängigkeit dieser Wirkungen. Das Ausmaß einer solchen Beeinträchtigung ist, wie alle toxischen Wirkungen, abhängig von der aufgenommen Dosis des Schadstoffes; daher ist Risiko das Produkt aus der Gefährlichkeit (Toxizität) des Stoffes und der tatsächlichen Exposition. Bei fehlender Exposition stellen auch sehr toxische Stoffe kein Risiko dar, nach dauernder Aufnahme hoher Dosen kann auch das Risiko eines gering toxischen Stoffes groß sein. Zur Abschätzung der Gesundheitsgefährdung durch einen chemischen Stoff sind Kenntnisse zur Toxizität (Bestimmung der Gefährlichkeit) und zur Exposition zu erarbeiten (Risikoermittlung).

Die Konzepte zur toxikologischen Risikoabschätzung können auch zur Bewertung eventueller Gesundheitsrisiken durch Xenoöstrogene angewendet werden. Expositionsdaten erhält man z. B. aus den Konzentrationen von Xenoöstrogenen in der Nahrung. Als Parameter für Wirkungsstärken können im Fall östrogenartig wirkender Fremdstoffe die Affinitäten dieser Stoffe für den Östrogenrezeptor und die Stärke der durch die Bindung ausgelösten biochemischen Effekte dienen. Für eine Bewertung möglicher Schadwirkungen von Fremdstoffen mit östrogenen Wirkungen ist die Östrogenität eines Stoffes (Wirkungsstärke) alleine jedoch noch nicht ausreichend. Neben der Affinität des Xenoöstrogens für den entsprechenden Rezeptor

(die meist *in vitro* gemessen wird) bestimmt die Konzentration des Stoffes in der Umgebung des Rezeptors maßgeblich die Wirkungsstärke. Die Konzentration des Stoffes am Östrogenrezeptor ist abhängig von Ausmaß der Exposition und toxikokinetischen Parametern des Stoffes wie Bioverfügbarkeit, Verteilung, Biotransformation und Ausscheidung. Weiterhin können in die Bewertung die vielen Kenntnisse eingehen, die zu Wirkungen und Nebenwirkungen von Östrogenen in der Therapie von Erkrankungen und in der Schwangerschaftsverhütung gesammelt wurden. Zudem muß in die Bewertung das Problem wirkungsfreier Konzentrationen eingehen. Für die meisten rezeptorvermittelten Wirkungen (wie östrogene Wirkungen) werden Schwellenwerte (Konzentrationen, bei deren Unterschreitung eine Wirkung ausbleibt) beobachtet. Falls die im Körper erreichten Konzentrationen eines Stoffes den Schwellenwert nicht überschreiten, treten in aller Regel keine Wirkungen auf.

Komplexe, stoffspezifische Dosis-Wirkungsbeziehungen erschweren allerdings die Bewertung von Xenoöstrogenen. Diese Stoffe können auf unterschiedliche Organe toxisch wirken, Zeitpunkt und Dauer der Einwirkung können für das Ausmaß toxischer Wirkungen von Xenoöstrogenen ebenfalls wichtig sein. Viele Randbedingungen sind wenig erforscht. Daher ist eine vergleichende Bewertung möglicher Krankheitsrisiken durch Xenoöstrogene mit anderen östrogen wirksamen Stoffen (z. B. Pflanzeninhaltsstoffe, sogenannte Phytoöstrogene), die der Mensch hauptsächlich und in relativ großen Mengen mit der Nahrung oder als Arzneimittel aufnimmt, sinnvoll. Die Ableitung eines kausalen Zusammenhangs zwischen Erkrankungen und der Belastung durch über die Nahrung aufgenommene Xenoöstrogene mittels epidemiologischen Methoden ist wegen der vielen Störfaktoren sehr unwahrscheinlich. Daher scheint zur Bewertung eventueller Gesundheitsrisiken durch Xenoöstrogene ein Vergleich der Belastung durch Xenoöstrogene und Phytoöstrogene basierend auf der Toxikokinetik und relativen Wirkstärken ein durchführbarer Ansatz mit guten Erfolgsaussichten.

Natürliche Östrogene und als Arzneimittel verwendete Stoffe mit östrogenen Wirkungen

Fundierte Kenntnisse zur Auslösung von Krankheiten durch hormonabhängige Wirkungen von Fremdstoffen sind nur für wenige Verbindungen (meist potente Östrogene, die in hohen Dosen in der Therapie eingesetzt wurden) vorhanden. Abbildung 1 zeigt ein natürliches Östrogen, 17β-Östradiol, und zwei in der Therapie des Menschen eingesetzte Östrogene, Ethinylöstradiol und Diethylstilböstrol.

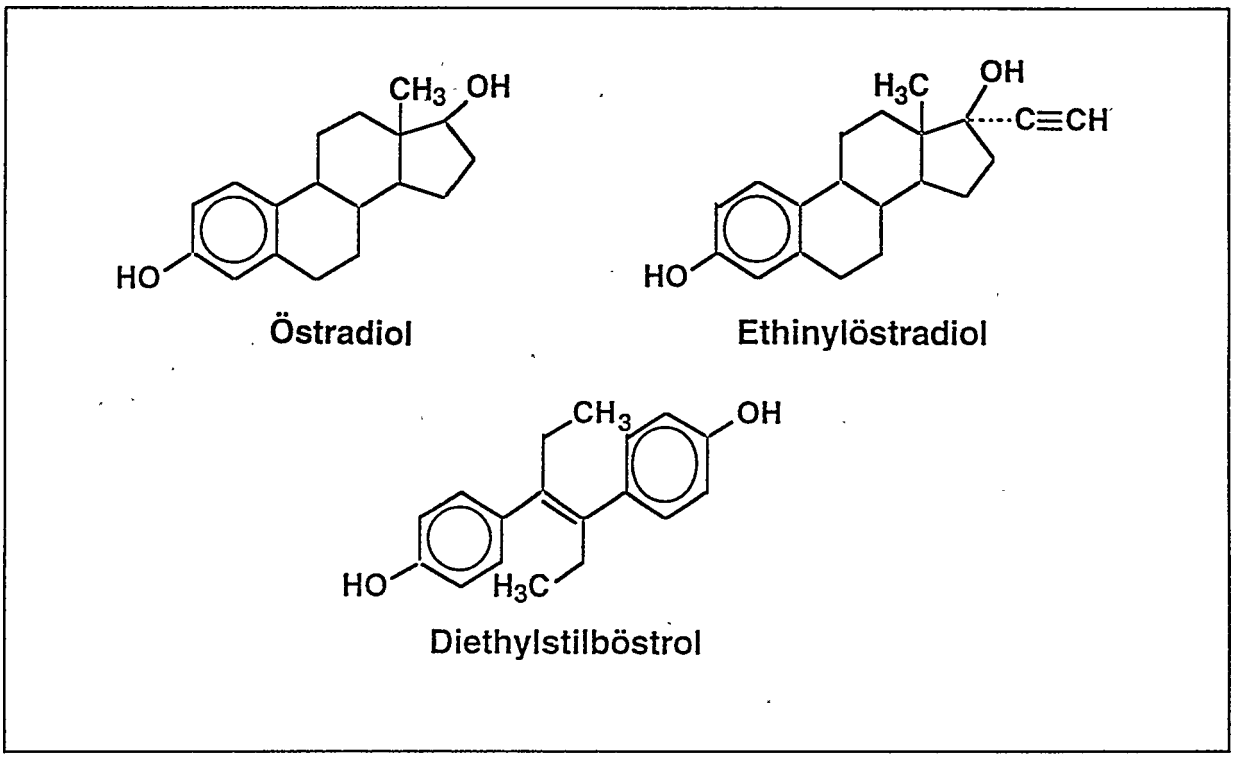

Abb. 1: Natürliche und therapeutisch genutzte Östrogene

Ethinylöstradiol ist ein potentes Östrogen, das in oralen Antikontrazeptiva ("Antibabypille") eingesetzt wird. In den modernsten Darreichungsformen enthalten diese Pillen 2,5 µg Ethinylöstradiol, die über den Zyklus der Frau hinweg über einen bestimmten Zeitraum täglich eingenommen werden. Trotz der (bei Anwendung der oben geschilderten Methoden der Risikoermittlung) relativ hohen Dosen eines stark wirksamen Östrogens halten sich die Nebenwirkungen bei Einnahme in Grenzen; Wirkungen, wie sie östrogen wirksamen Industriechemikalien zugeschrieben werden, sind bis jetzt trotz sehr intensiven Untersuchungen bei normalem Gebrauch noch nicht beobachtet worden. Die Toxikologie der anderen in Abbildung 1 gezeigten Verbindung, Diethylstilböstrol, zeigt, daß Hormone bei ausreichender Dosis und ausreichender hormoneller Wirkstärke durchaus Wirkungen auslösen können. Diethylstilböstrol wurde in den 50iger Jahren bei schwangeren Frauen zur Verhinderung eines spontanen Schwangerschaftsabbruches in Dosen von 15-100 mg/Tag, teilweise über mehrere Wochen hinweg, verwendet. Die Verbindung ist ein stark wirksames Östrogen (hohe Affinität für den Östrogenrezeptor, siehe Tab. 1) und im Körper in sehr hohen Konzentration am Östrogenrezeptor verfügbar. Bei Kindern, deren Mütter während der Schwangerschaft mit Diethylstilböstrol behandelt wurden, zeigte sich eine hohe Inzidenz von Mißbildungen der Geschlechtsteile (mit einer Häufigkeit bis zu 30 %) und bei Töchtern zu Beginn der Pubertät eine erhöhte Häufigkeit von Scheidenkrebs (Inzidenz bei 0,1 %). Diese Beobachtungen zeigen deutlich, daß bei hohen Dosen und hoher östrogener Wirksamkeit durch Gabe von Östrogenen während bestimmter Abschnitte der Schwangerschaft, sogenannten "Sensibilitätsfenstern" Wirkungen erzielt werden können.

Tab. 1: Wirkungsintensitäten von Xenoöstrogenen: Bindung an Östrogenrezeptor in Hefezellen

Stoff	relative Wirkstärke *
Östradiol	1,00
Diethylstilböstrol	0,74
Coumestrol	0,0067
Genistein	0,001
Bisphenol A	0,00005
Methoxychlor	0,000033
o,p'-DDT	0,0000011
o,p'-DDE	0,0000004

* Verhältnis wirksame Dosis (EC_{50}) des Stoffs zu wirksamer Dosis (EC_{50}) Östradiol

Die unter diesen extremen Umständen beobachteten Wirkungen lassen sich allerdings aufgrund verschiedenster Parameter wie Dosis, Rezeptorbindung nicht auf östrogenartig wirkende Fremdstoffe übertragen.

Xeno- und Phytoöstrogene

Diese Stoffe werden vom Menschen aus der Umwelt hauptsächlich mit der Nahrung aufgenommen. Beispielhaft sind einige Strukturen von Xenoöstrogenen in Abbildung 2 und von Phytoöstrogenen in Abbildung 3 dargestellt.

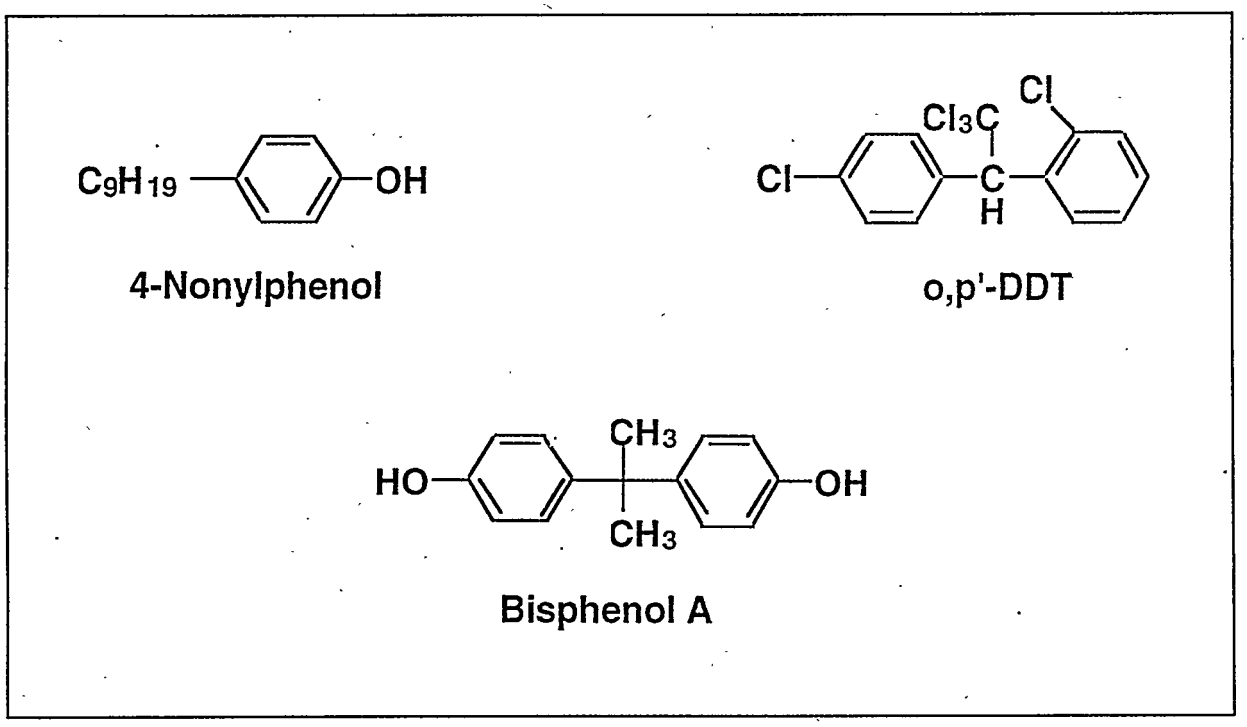

Abb. 2: Beispiele für Xenoöstrogene

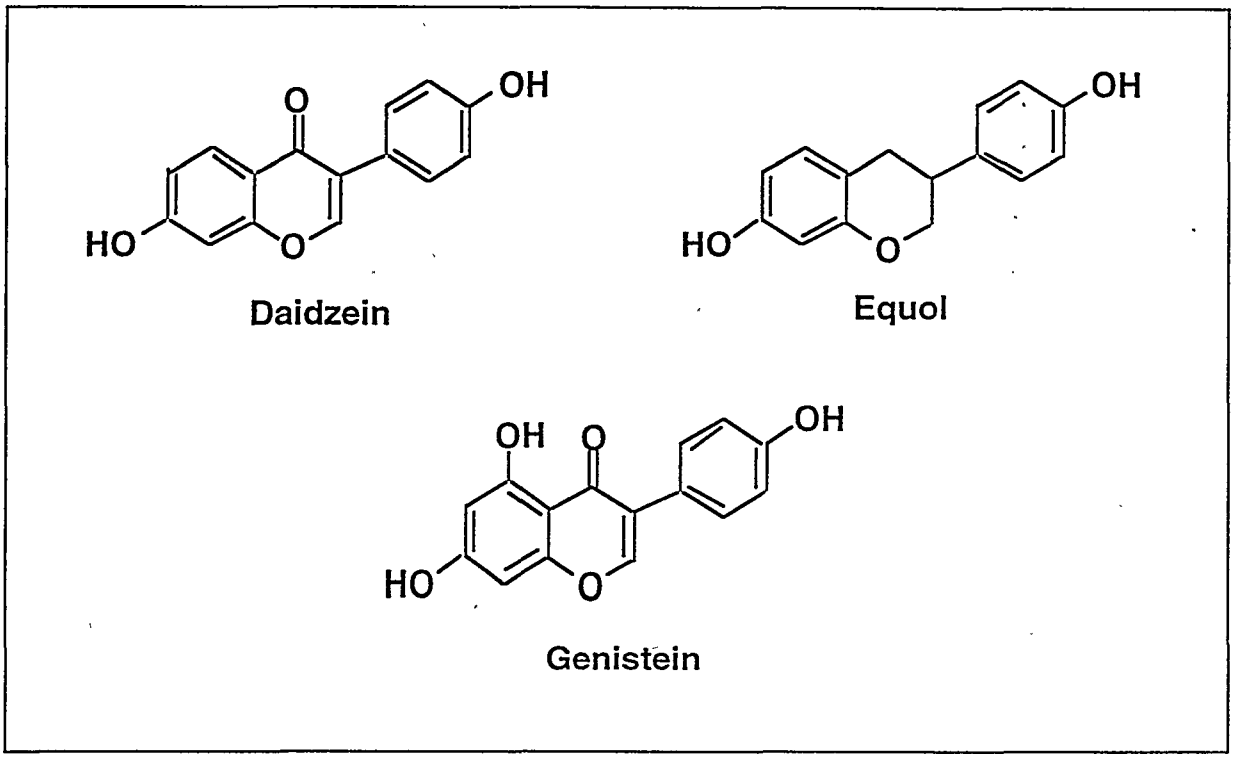

Abb. 3: Beispiel für Phytoöstrogene

Bei einigen dieser Verbindungen (besonders bei chlorierten Pestiziden) sind die äußere Exposition und die hieraus resultierenden Konzentrationen im Blut und Fett des Menschen (innere Belastung) bekannt. Die Aufnahme von chlorierten Insektiziden mit der Nahrung wird für Deutschland im Moment auf wenige Mikrogramm pro Tag geschätzt. Belastungsdaten für andere Xenoöstrogene sind nur teilweise verfügbar, Verbindungen wie Phthalsäureester, Alkylphenolen und Bisphenol A tragen im Moment wesentlich mehr als chlorierte Pestizide zur Belastung des Menschen mit Xenoöstrogenen in Europa bei. Die Exposition des Menschen mit Bisphenol A beträgt zwischen 8 und 20 µg/Tag. Die meisten der Xenoöstrogene sind vergleichend zu natürlichen Östrogenen und auch, wie unten gezeigt, zu den Phytoöstrogenen relativ schwach östrogen wirksam (Tab. 1).

Mit der Nahrung gelangen allerdings nicht nur Xenoöstrogene, sondern auch "Phytoöstrogene" in den menschlichen Organismus. Letztere sind pflanzliche Inhaltsstoffe mit östrogener Wirkung, die in der menschlichen Nahrung gefunden werden. Die Aufnahme solcher Stoffe mit der Nahrung stellt ebenfalls eine Belastung des Menschen mit Östrogenen dar. Eine Vielzahl von pflanzlichen Inhaltsstoffen mit östrogener Wirkung ist bekannt. Die vom Menschen aufgenommenen Mengen an Phytoöstrogenen sind abhängig von der Art der Ernährung und können mehrere Milligramm pro Tag und Person erreichen. Unter besonderen Nahrungsbedingungen (Futter mit hohen Gehalten an Phytoöstrogenen) wurden Wirkungen auf die Fortpflanzungsfähigkeit bei Nutztieren oder Versuchstieren beobachtet. Beim Menschen jedoch konnte ein kausaler Zusammenhang zwischen Erkrankungen und hoher Aufnahme von Pytoöstrogenen (z. B. bei Vegetariern) bisher nicht gezeigt werden. Nach kontrollierter Gabe hoher Dosen von Phytoöstrogenen wurden zwar Effekte beobachtet; ob diese als Schadeffekte definiert werden können, ist jedoch umstritten. Einige Phytoöstrogene sind vergleichsweise stark wirksame Östrogene,

deren Affinität für den Östrogenrezeptor nur um zwei Größenordnungen unter der der Referenzsubstanz 17β -Östradiol liegt.

Die Aufnahme von Xeno- und Phytoöstrogenen mit der Nahrung kann für eine Bewertung eventueller Gesundheitsrisiken genutzt werden. Aus der täglichen Aufnahme der Verbindungen und ihrer Bindungsfähigkeit an den Östrogenrezeptor lassen sich "Äquivalente" an östrogener Potenz errechnen. Der Vergleich ergibt, daß die Menge an "Östrogen" bei Einnahme der "Antibabypille" um den Faktor 160 über möglichen Wirkungen der in unserer Nahrung natürlich enthaltenen Phytoöstrogenen liegt (Tab. 2).

Tab. 2: Aufnahme von Fremdstoffen mit östrogenen Wirkungen

Mengenangaben	Östrogenäqivalente
„Antibabypille" (20-35 µg Ethinylöstradiol)	16 000
Phytoöstrogene (100-1000 µg/Tag)	100
Xenoöstrogene (2,5-10 µg/Tag)	0,00001

Die Menge an "Östrogenäquivalenten" durch Xenoöstrogene, die der Mensch täglich mit der Nahrung aufnimmt, liegt um den Faktor 10 000 niedriger. Abhängig von seiner Ernährung nimmt der Mensch sehr unterschiedliche Mengen an Phytoöstrogenen auf. Die aufgenommenen Dosen liegen jedoch immer um Grössenordnungen über denen von Xenoöstrogenen. Basierend auf den errechneten täglichen Aufnahmen mit der Nahrung kann abgeleitet werden, daß das mögliche Gesundheitsrisiko durch Aufnahme von Xenoöstrogenen im Vergleich zu dem von Phytoöstrogenen sehr gering ist. Da schon bei Aufnahme von Phytoöstrogenen keine Schadwirkungen zu beobachten sind, ist bei Aufnahme von Xenoöstrogenen mit der Nahrung wegen viel niedrigeren Dosen und Wirkungsstärken eine toxische Wirkung sehr unwahrscheinlich.

Zusammenfassend kann aus diesen Aussagen geschlossen werden, daß durch Xenoöstrogene ausgelöste mögliche Gesundheitsschäden sehr unwahrscheinlich sind, da sowohl die entsprechenden östrogenen Wirkungsstärken als auch die Exposition des Menschen zur Auslösung solcher Wirkungen zu gering ist.

Dieses Konzept wird durch eine kritische Betrachtung der die "Xenoöstrogen-Hypothese" ausgelösten Beobachtungen weiterhin unterstützt. Bei genauer Betrachtung basieren sehr viele der beschriebenen Effekte auf Einzelbeobachtungen in freilebenden Tieren oder unter Laborbedingungen erhaltenen Ergebnissen. Viele dieser Studien haben methodische oder konzeptionelle Mängel, wurden unter extremen und unrealistischen Expositionsbedingungen durchgeführt oder haben nicht reproduzierbare Ergebnisse erbracht. Beispielsweise haben neuere, methodisch sehr gut durchgeführte Versuche in den Vereinigten Staaten gezeigt, daß die Spermienzahl des Mannes in den untersuchten Labors über einen Zeitraum von 30 Jahren konstant geblieben ist; allerdings zeigten sich hierbei große regionale Unterschiede, deren Gründe nicht bekannt sind. Bei freilebenden Tieren sind bis jetzt nur

2 Verbindungen kausal mit hormonellen Wirkungen verknüpft worden. Die eine Verbindungsgruppe sind polyhalogenierte Insektizide, die bei Greifvögeln zu einer massiven Reduktion des Bestandes in den 70iger Jahren geführt haben. Nach Erkennen des Problems wurde der Einsatz dieses Stoffes massiv beschränkt, die Bestände der gefährdeten Vogelarten (Weißkopfseeadler) haben sich inzwischen erholt. Die zweite Verbindungsgruppe sind Trialkylzinnhalogenide, die in Bootsanstrichen verwendet wurden und bei Schnecken zu Veränderungen des Geschlechterverhältnisses geführt haben. Auch diese Verbindungen wurden inzwischen verboten.

Eine kausale Verknüpfung der im Apopka-See in Florida beobachteten Veränderungen in Alligatoren mit der Wirkung von bestimmten Substanzen ist dagegen sehr schwer bis unmöglich. Dieser See ist mit einer Vielzahl chemischer Stoffe hoch belastet, wobei die chemische Analytik immer wieder neue Stoffe ohne Hormonwirkung ans Licht bringt, die für die beobachteten Wirkungen verantwortlich sein können. Weiterer Forschungsbedarf zur Verbesserung der Bewertungsgrundlagen für Xeno- und Phytoöstrogene besteht. Zum einen müssen für repräsentative Vertreter aus beiden Gruppen die Art der Interaktionen mit dem Östrogenrezeptor und die Dosisabhängigkeit der durch die Bindung ausgelösten Wirkungen besser charakterisiert werden. Weiterhin ist ein verbessertes Verständnis der Toxikokinetik und der Rolle von im Körper gebildeten Umwandlungsprodukten von Xeno- und Phytoöstrogenen nötig, da das Ausmaß der Aufnahme dieser Stoffe aus der Nahrung und die Kapazität zur Rezeptorbindung für im Körper gebildete Umwandlungsprodukte nur unzureichend bekannt sind.

Weiterführende Literatur

Dekant, W. and Vamvakas, S. (1994) Toxikologie für Chemiker und Biologen. Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg.

Greim, H. (1998) Hormonähnlich wirkende Stoffe in der Umwelt. *Nachr. Chem. Tech. Lab.* 46: 63-66.

Zava, D.T., Blen, M. and Duwe, G. (1997) Estrogenic activity of natural and synthetic estrogens in human breast cancer cells in culture. *Environ. Hlth Perspect.* 105: 637-645.

Endokrine Modulation: Bestandsaufnahme

Die Stellung der chemischen Industrie zum Problemfeld "Endokrin wirksame Substanzen"

Dr. Hans Certa, CONDEA Chemie GmbH, Marl, Verband der Chemischen Industrie e. V., Frankfurt/Main

Seit einigen Jahren wächst die Sorge über einen möglichen Einfluß von Industriechemikalien auf das Hormonsystem von Mensch und Tier. Auslöser ist die Frage, ob einige in der Umwelt nachweisbare Substanzen ähnlich wie Sexualhormone wirken können und auf diese Weise unser Hormonsystem (Endokrinium) aus dem Gleichgewicht bringen. Eine Reihe von Schädigungen und bisher nicht eindeutig erklärbare Phänomene sollen darauf zurückgehen. Solche Stoffe werden mit dem englischen Begriff „endocrine disrupter" bzw. „endokrine Modulatoren" belegt.

Die zur Zeit am häufigsten publizierte Hypothese ist die Herabsetzung der Fruchtbarkeit des Mannes. Spermienzahl und Spermienbeweglichkeit sollen in den letzten 20-30 Jahren angeblich stark gesunken sein. Auch eine Erhöhung der Zahl von Mißbildungen der männlichen Fortpflanzungsorgane und ein Anstieg der Häufigkeit bestimmter Krebsarten, Brustkrebs oder Hodenkrebs werden in Zusammenhang mit hormon-ähnlich wirkenden Verbindungen diskutiert. Zusätzlich wird von einer Gefährdung der Tierwelt gesprochen. Als Hinweise werden verändertes Paarungsverhalten bei Vögeln, geschädigte Sexualorgane bei Alligatoren und Schildkröten oder die Störungen der Fortpflanzung von Meeresschnecken gewertet.

Die chemische Industrie weltweit nimmt diesen Themenkomplex wegen seiner schwerwiegenden Bedeutung für Mensch und Tier sehr ernst. Der bisher auf vielen Symposien und Kongressen in den letzten Jahren zusammengetragene Wissensstand hat gezeigt, daß zu einer Reihe von grundsätzlichen Fragen bisher keine oder nur unzureichende Antworten gegeben werden können.

1. Die medizinischen und statistischen Daten zur männlichen Fruchtbarkeit sind widersprüchlich. Es finden sich ebenso viele Studien, die einen Rückgang belegen, wie solche, die keinerlei Veränderungen gefunden haben. Verschiedene Publikationen in der letzten Zeit haben zudem auf methodische Änderungen sowie auf die hohe Variabilität des Parameters „Spermienzahl" hingewiesen. So sind bei Bestimmung der Spermienzahl in der gleichen Probe einer Person Schwankungen zwischen verschiedenen Laboratorien um den Faktor 2-3 keine Seltenheit. Ebenso ist Frage, ob der offensichtliche Anstieg des Hodenkrebses in vielen Ländern durch hormonell wirkende Stoffe beeinflußt ist, von den veränderten Lebensumständen herrührt oder andere Ursachen hat, bisher nicht zu beantworten. In dem Bericht Nr. 290 hat die dänische Umweltbehörde [DK EPA 1995] im Jahre 1995 u. a. darauf hingewiesen, daß in den Vereinigten Staaten von Amerika bezüglich des Hodenkrebses bei der weißen Bevölkerung durchaus ein Anstieg zu erkennen ist, bei der Bevölkerung afrikanischer oder asiatischer Herkunft dieser Anstieg aber nicht zu erkennen ist.
2. Bei den Alligatoren des Lake Apopka in Florida, USA, ist die massive Beeinträchtigung der Fortpflanzung und Veränderung der Sexualorgane vermutlich mit der hohen Schadstoffbelastung des Sees verknüpft, die von einem Unfall herrührt. Der hohe Intoxikationsgrad der Alligatorpopulation im Lake Apopka wird auch an

den Zahlen deutlich, die Theo Colborn in ihrem Buch „Our Stolen Future" vorgelegt hat. So beträgt die Schlupfrate bei Alligatoren im Lake Apopka nur 18 %, die durchschnittliche Schlupfrate liegt in benachbarten Seen Floridas bei über 90 %.

3. In England hat man die Bildung von Dottereiweiß (Vitellogenin) bei männlichen Fischen (Regenbogenforellen) beobachtet, die in Käfigen im Mündungsgebiet der Abflußrohre von Kläranlagen gehalten wurden. Dieses Phänomen wird vereinfacht als Verweiblichung bezeichnet, da Östrogene die Bildung des Dottereiweißes steuern. Hierfür wurden zunächst Industriechemikalien verantwortlich gemacht. Im Auftrag der zuständigen englischen Behörde durchgeführte eingehende Untersuchungen haben allerdings nicht diese chemischen Stoffe, sondern Östrogene aus den Ausscheidungen von Mensch und Tier als einzige östrogene Bestandteile der untersuchten Abwässer identifiziert. Die gefundenen Konzentrationen vermögen den beobachteten Anstieg des Vitellogenin zu erklären.

Diese Beispiele sind eine deutliche Warnung gegen zu einfache, vorschnelle und monokausale Erklärungsversuche oder Schuldzuweisungen. Solche Phänomene generell synthetischen Umweltchemikalien zuzuweisen, scheint zunächst die einfachste Lösung zu sein. Wer aber nur diese Sichtweise akzeptiert verhindert möglicherweise, daß die tatsächlichen Ursachen gefunden werden.

Eine Publikation [Arnold et al. 1996, zitiert in McLachlan 1997] über synergistische Wirkungen von Chemikalien in einem *in vitro* System fand sowohl in der Wissenschaft als auch in der Öffentlichkeit große Resonanz und löste umgehend intensive Diskussionen aus. Zwischenzeitlich wurde die Publikation von den Autoren [McLachlan 1997] widerrufen und die Daten sind als nicht existent zu betrachten. Weder die Autoren noch andere Arbeitsgruppen konnten in Wiederholungsuntersuchungen und in weiteren Experimenten Daten erheben, die die ursprüngliche Annahme einer synergistischen Wirkung stützen. An diesem Beispiel mag deutlich werden, daß der Irrtum ein inhärenter Bestandteil des wissenschaftlichen Erkenntnisgewinnes ist und daß sich in der Wissenschaft (Arbeits-) Hypothesen nicht immer zu Theorien verdichten, sondern häufig verworfen werden, da sich anfängliche Beobachtungen nicht (unabhängig) reproduzieren lassen oder sich die Resultate durch weitere Daten anderweitig erklären lassen.

In allen Symposien und wissenschaftlichen Workshops standen bisher vor allem östrogenähnliche Effekte im Vordergrund. Das allgemeine Fazit lautet: Es fehlen Erkenntnisse, um eine wissenschaftlich gesicherte Beurteilung der östrogenähnlichen Wirkung von in der Umwelt vorhandenen Chemikalien vorzunehmen. Dies wirft die Frage nach der generellen Plausibilität der Östrogenhypothese auf, aber auch die Frage nach möglichen Wirkmechanismen und entsprechenden Bewertungskonzepten. In diesem Zusammenhang ist anzumerken, daß die derzeit zusammengetragenen Erkenntnisse nicht für eine Verfestigung der Östrogen- bzw. Endokrinhypothese sprechen. Im Gegenteil, die Daten deuten vielmehr auf eine Widerlegung der Hypothese hin.

In einer Zusammenfassung eines Workshops der US EPA (amerikanische Umweltbehörde) von April 1995 haben Kavlock et al. die vorliegenden Daten wie folgt dargestellt:

Brustkrebs:

- Die Daten bezüglich einer ursächlichen Beteiligung von DDT, DDE, PCBs sind widersprüchlich.
- Die EPA Datenbank für Agrochemikalien (Pestizide) gibt keine Anzeichen für östrogenvermittelte Brustkrebsauslösung.
- In ca. 10 % von 450 Kanzerogenitäts-Studien des NTP der amerikanischen Gesundheitsbehörde zeigten sich Anstiege der Brustkrebsrate bei den Versuchstieren. Die Chemikalien sind aber mutmaßlich nicht östrogen wirksam.
- Eine gleichzeitige Verminderung des Uteruskrebses sowie des männlichen Brustkrebses wurde beobachtet.

Hodenkrebs, Ovarkrebs:

- Es gibt keine Anzeichen, daß endokrin wirkende Chemikalien ein Risikofaktor sind.
- Verminderung der Spermienqualität: Die Allgemeingültigkeit dieses Effektes und die Ursache sind weit davon entfernt, als sichere Erkenntnis zu gelten.

Zur Unterscheidung eines assoziativen[1] von einem kausalen (ursächlichen) Zusammenhang sind in der Wissenschaft neben den sehr strengen Henle-Koch-Evans-Postulaten[2] Kriterien entwickelt worden, die nach dem Epidemiologen Sir Austin Bradford Hill als sog. „Hill-Kriterien" bezeichnet werden. Ashby et al. haben in einer Publikation darauf hingewiesen, daß die sog. Hill-Kriterien für die endocrine disruptors/endokrinen Modulatoren nicht erfüllt sind.

In Zusammenhang mit der endokrinen Hypothese stellen sich folgende Schlüsselfragen:

1. Interagieren (die geringen Mengen von) Chemikalien aus der Umwelt mit den Hormonsystemen des Menschen und der Tierwelt und führt diese Interaktion zu adversen Effekten?
2. Führt eine Exposition in der Pränatalphase zu Effekten, die sich erst Jahre später ausprägen?

---

[1] Effekte oder Phänomene werden zeitgleich bzw. parallel beobachtet

[2] zurückgehend auf Robert Koch (1843-1910).

Die US EPA hat in einem "Special Report on Environmental Endocrine Disruption" im Jahr 1997 außerdem folgende Fragen formuliert:

1. Sind adverse Effekte in der Umwelt bzw. Tierwelt auf begrenzte Gebiete (hoher Schadstoffbelastung) beschränkt oder nicht?
2. Sind die auslösenden Chemikalien (DDT, PCBs, Schwermetalle etc.) bereits auf Grund anderer Eigenschaften, Toxizität und Persistenz, identifiziert?

In einem Fact Sheet zu diesem Report wird von der US EPA u. a. festgehalten, daß aufgrund des bisherigen Standes der Wissenschaft eine „endocrine disruption" nicht als adverser Endpunkt per se angesehen werden kann, sondern vielmehr als ein Schritt, der möglicherweise zu anderen toxischen Effekten führen kann, Krebs und Beeinflussung der Reproduktion.[3)]

Die wichtige Fokussierung auf adverse Gesundheitseffekte spiegelt sich auch in der Definition wider, die auf dem europäischen Workshop (veranstaltet u. a. von der EU, OECD, BMU/UBA) erarbeitet wurde: Ein „endocrine disrupter" ist eine exogene Substanz, die als Folge von Veränderungen der endokrinen Funktion adverse Gesundheitseffekte in einem intakten Organismus oder seinen Nachkommen erzeugt.[4)]

Mögliche endokrin- bzw. hormonell-vermittelte adverse Gesundheitseffekte sind aber keine neuen Gefahrenmerkmale, auf die die Wissenschaft erst in den letzten Jahren aufmerksam wurde, sondern sie werden seit Jahrzehnten in den üblichen Standardtests der Toxikologie untersucht (so werden hormonell vermittelte Krebsarten oder eine Beeinträchtigung der Fortpflanzungsfähigkeit mit dem Repertoire der etablierten Guideline-Studien untersucht und ggf. aufgedeckt). In den einschlägigen Einstufungs- und Kennzeichnungsrichtlinien der Europäischen Union (in Deutschland umgesetzt in der Gefahrstoffverordnung auf Basis des Chemikaliengesetzes) finden sich explizite Verweise auf endokrine Effekte in den Kategorien „Beeinträchtigung der Fortpflanzung" (u. a. „...nachteilige Auswirkung auf den Hormonhaushalt oder physiologische Reaktion in Zusammenhang mit der Befruchtungsfähigkeit, der Befruchtung selbst oder Entwicklung der befruchteten Eizelle bis zur Einnistung im Uterus ...") und „fruchtschädigende, entwicklungsschädigende Wirkung" (u. a. neben letalen Effekten und Aborten sowie Mißbildungen: „funktionelle Schädigungen, peri- und postnatale Schäden und die Beeinträchtigung der postnatalen geistigen und physischen Entwicklung bis zum Abschluß der pubertären Entwicklung").

Im Zusammenhang mit Veränderungen des Hormonsystems (Endokrinium) darf nicht außer acht gelassen werden, daß das Endokrinium kein starres System ist, sondern ein System, welches zur Erhaltung der Homöostase[5)] des Körpers beiträgt.

---

3) „Given the current state of the science the agency does not consider endocrine disruption to be an adverse endpoint per se but as a step that could lead to toxic outcomes such as cancer or adverse reproductive effects." US EPA Fact Sheet, Februar 1997

4) „An endocrine disrupter is an exogenous substance that causes adverse health effects in an intact organism or ist progeny consequent to changes in endocrine function."

5) Aufrechterhaltung des inneren Milieus des Körpers

Bei Veränderungen der Umwelt reagiert das Endokrinium dynamisch. Aus diesem Umstand wird ersichtlich, daß massive Veränderungen der Umwelt zu Anpassungsreaktionen des Endokriniums führen: Hohe Konzentrationen, die zu akut toxischen Effekten führen, werden immer von Veränderungen des Endokriniums begleitet sein. Mit anderen Worten, es ist keine Substanz denkbar, die nicht bei einer (hohen) Dosis Veränderungen des Endokriniums auslöst. Bei allen Betrachtungen und Bewertungen über endokrine Störungen darf daher nicht die Dosis außer acht gelassen werden, bei der Veränderungen beobachtet werden. Eine Übertragung des bekannten Paracelsus Zitates für die derzeitige Diskussion liest sich wie folgt:

Alle Dinge sind Gift und nichts ohn Gift;
allein die Dosis macht, daß ein Ding kein Gift ist.

Paracelsus, 1537/38

Alle Dinge sind endokrin aktiv und
nichts ist ohne endokrines Potential;
allein die Dosis macht, daß ein Ding
kein „endocrine disruptor" ist.

Anonymus, 1996

Die europäische chemische Industrie nimmt den möglichen Einfluß von Substanzen mit endokrinem Potential auf die Gesundheit von Mensch und Umwelt sehr ernst. Die Prinzipien des „Product Stewardship" beinhalten, daß Chemikalien hergestellt und entwickelt werden, die sicher verarbeitet, transportiert und entsorgt werden können. Im Rahmen des „Responsible Care"-Programmes wurden in Eigeninitiative der chemischen Industrie in einem weltweiten Verbund zahlreiche Forschungsvorhaben aufgelegt, die in einem offenen und transparenten Prozeß beitragen, die identifizierten Wissenslücken zu schließen.

Die deutsche chemische Industrie hat neben der Beteiligung an den europäischen Aktivitäten einen eigenen Beitrag erarbeitet und unterstützt die Entwicklung einer Bewertungsstrategie für Substanzen mit potentiell endokriner Wirkung. Diese Strategie muß die Gesamtexposition des Körpers mit hormon-ähnlichen Stoffen berücksichtigen, in die sowohl die Aufnahme von Phytoöstrogenen über die Nahrung als auch eine mögliche zusätzliche Exposition durch synthetische Substanzen eingehen. Das Forschungsprojekt in Höhe von 1,6 Millionen DM wurde seitens des Verbandes der Chemischen Industrie e. V. an das Institut für Arbeitsphysiologie der Universität Dortmund und an die Universität Kaiserslautern vergeben. Das zu Beginn des Jahres 1997 begonnene Forschungsvorhaben soll eine Grundlage für die vergleichende Bewertung von synthetischen Chemikalien mit natürlichen Hormonen und Phytoöstrogenen schaffen. Die chemische Industrie erwartet von den Ergebnissen Antworten auf die Frage, ob Handlungsbedarf für (Umwelt-) Chemikalien besteht und welche Prioritäten gesetzt werden müssen.

Literatur

J. Ashby, E. Houthoff, S.J. Kennedy et al: The Challenge Posed by Endocrine-disrupting Chemicals. Environm Health Perspect 105: 164-169 (1997)

T.M. Crisp, E.D. Clegg, R.L. Cooper et al.: Special Report on Environmental Endocrine Disruption: An Effects Assessment and Analysis. US EPA, Risk Assessment Forum, Washington, D.C. (EPA/630/R-96/012, Feb. 1997)

EPA Fact Sheet: EPA Special Report On Endocrine Disruption. US EPA, Office of Research and Development. Washington, D.C. (Feb. 1997)

R.J. Kavlock, G.P. Daston, C. DeRosa et al.: Research needs for the risk assessment of health and environmental effects of endocrine disruptors: a report of the U.S. EPA-sponsored workshop. Environm Health Perspect 104 (suppl.4): 715-740 (1996)

J.A. McLachlan: Synergistic effect of environmental estrogens: Report withdrawn. Science 1997; 277(5345): 462-463.

Anschriften der Referentinnen und Referenten

Dr. Hans Certa
Contensio Chemicals GmbH
Bau/BP 2328/12
45764 Marl

Prof. Dr. Wolfgang Dekant
Universität Würzburg
Institut für Toxikologie
Versbacher Straße 9
97078 Würzburg

Dr. Andreas Gies
Umweltbundesamt
Postfach 33 00 22
14191 Berlin

Dr. Wolfgang Kalbfus
Bayerisches Landesamt
für Wasserwirtschaft
Institut für Wasserforschung
Kaulbachstraße 37
80539 München

Dr. Margret Schlumpf
Universität Zürich
Institut für Pharmakologie
Winterthurerstraße 190
CH-8057 Zürich

Dr. Julia Schwaiger
Bayerisches Landesamt
für Wasserwirtschaft
Institut für Wasserforschung
Delmollstraße 31
82407 Wielenbach