

**UMWELTCHEMIKALIEN
MIT HORMONELLER WIRKUNG**
Eine Standortbestimmung für Österreich

Symposium 22.-23. April 1996

CONFERENCE PAPERS/TAGUNGSBERICHTE
VOL. 19/BD. 19

CP-019

Wien/Vienna, 1996



Projektleitung: Dr. Robert Sattelberger

Moderation: Mag. Alarich Riss

Satz/Layout: Manuela Kaitna

Impressum:

Medieninhaber und Herausgeber: Umweltbundesamt (Federal Environment Agency)
Spittelauer Lände 5, A-1090 Wien (Vienna), Austria
Die unverändert abgedruckten Einzelreferate geben die
Fachmeinung ihrer Autoren wieder.
Abdruck des Medienspiegels mit freundlicher Genehmigung der
Urheber.

Druck: Berger, 3580 Horn

© Umweltbundesamt, Wien, 1996
Alle Rechte vorbehalten (all rights reserved)
ISBN 3-85457-343-X

INHALT

	Seite
Einleitung	
R. SATTELBERGER, Umweltbundesamt, Wien	3
Programm des Symposiums	4
Umweltchemikalien mit endokriner Wirkung	
H. SEIBERT, Institut für Toxikologie, Universität Kiel	7
Umwelteinflüsse auf die männliche Fertilität	
H. PUSCH, Ambulatorium für Andrologie, Graz	22
Umweltverhalten und aquatische Toxizität von Ethinylestradiol	
H. SCHWEINFURTH, R. LÄNGE, H. MIKLAUTZ und G. SCHAUER, Research Laboratories, Schering AG, Berlin	28
Fertilität bei Wein- und Obstbauern exponiert gegenüber Pflanzenschutz- und Schädlingsbekämpfungsmitteln in Österreich	
G. H. SCHULTES und H-G. SAINZ, Karolina Klinik Wien, Institut für Andrologie und interdisziplinäre Reproduktionsmedizin und Abteilung für Geburtshilfe und Gynäkologie, A. ö. KH Hollabrunn	38
Untersuchungen zur Konzentration von Ethinylöstradiol und Östradiol im Abwasser der Stadt Wien	
P. FRIGO, Ch. LANG und J. HUBER, Universitätsklinik für Frauenheilkunde, Universität Wien	44
Endokrinwirksame Substanzen in der aquatischen Umwelt	
P. STAHLSCMIDT-ALLNER, ECT Oekotoxikologie, Flörsheim; B. ALLNER, Hessische Landesanstalt für Umwelt, Wiesbaden; J. RÖMBKE und T. KNACKER, ECT Oekotoxikologie, Flörsheim	46
Erhöhen hormonell-wirksame Umweltchemikalien das Krebsrisiko?	
W. BURSCH, Ch. VUTUC, W. PARZEFALL und R. SCHULTE-HERMANN, Institut für Tumorbologie-Krebsforschung, Wien	57
Verfahren zur Bestimmung von östrogenen Aktivität von Umweltchemikalien	
A. JUNGBAUER, Institut für Mikrobiologie, Universität für Bodenkultur, Wien	69
Umweltchemikalien mit hormoneller Wirkung	
Ch. GOTTSCHALK, Umweltbundesamt, Berlin, FG II 1.3	74
Umweltchemikalien mit hormoneller Wirkung – Projekte, Forschungsbedarf und Lösungsansätze	
Th. BELAZZI, Greenpeace Österreich	81
Zusammenfassung und Schlußfolgerungen	
R. SATTELBERGER und A. RISS, Umweltbundesamt, Wien	89
Anhang A – Medienreaktionen	92
Anhang B – Einführende Literatur; Internet-Adressen	104
Adressenliste der Teilnehmer	110

EINLEITUNG

R. Sattelberger

Umweltbundesamt, Wien

Das Umweltbundesamt veranstaltete am 22. und 23. April 1996 ein Symposium zum Thema „Umweltchemikalien mit hormoneller Wirkung“. Diese Veranstaltung, die zum erstenmal in Österreich Wissenschaftler und Vertreter diverser Ministerien und Bundesanstalten zu dieser Problematik an einen Tisch brachte, hatte den Untertitel „Eine Standortbestimmung für Österreich“. Ziel der Veranstaltung war es, eine Einführung und einen Überblick über den gegenwärtigen Wissensstand zu geben, Gelegenheit zum Meinungs- und Gedankenaustausch zu bieten und für den zukünftigen Forschungs- bzw. Handlungsbedarf erste Ideen zu liefern. Auch die Öffentlichkeit sollte für dieses Thema sensibilisiert werden. Dieses Anliegen konnte, gemessen an den Reaktionen in Presse und Rundfunk, einigermaßen zufriedenstellend erfüllt werden (siehe Anhang A).

Umweltchemikalien (Xenobiotika) wie Industriechemikalien, Pflanzenschutzmittel, Arzneimittel usw. sind chemische Substanzen, die durch menschliche Tätigkeit in die Umwelt gelangen, oder als Folge menschlicher Tätigkeit in der Umwelt entstehen. Einige dieser Chemikalien (derzeit etwa 150 Substanzen), haben das Potential endokrine (endokrin = in den Blutkreislauf Hormone absondernd) Regulationsmechanismen zu beeinflussen. Am meisten wurde und wird über östrogen wirksame Chemikalien (entsprechend der Wirkung des natürlichen Sexualhormons Östrogen) geforscht und publiziert. Nicht zu vergessen ist jedoch, daß auch natürlich vorkommende Stoffe in Pflanzen östrogen wirksam sein können. Als Beispiel seien hier die Isoflavone in Sojabohnenprodukten genannt.

Xeno-Hormone stehen im Verdacht, Fruchtbarkeitsstörungen bei Mensch und Tier zu verursachen. Auch werden sie in Zusammenhang mit menschlichen Erkrankungen, wie hormonabhängige Tumoren, Fruchtbarkeitsstörungen und Entwicklungsstörungen, gebracht. Ob die gemeinsame Ursache in der vorgeburtlichen Exposition gegenüber Xeno-Hormonen liegt, ist allerdings noch wissenschaftlich umstritten.

Wichtig erscheint die internationale Bearbeitung und Erforschung folgender grundlegender Themen und Fragestellungen:

- Bestandsaufnahme und kritische Bewertung der bereits bekannten endokrin wirksamen Substanzen
- Entwicklung von Teststrategien zur Prüfung und Screening von neuen Chemikalien und „Altchemikalien“ auf endokrine Wirkung
- Entwicklung und Validierung von Bioassays zur Testung von Umweltproben auf endokrine Aktivität.

Weiters bedarf es der Klärung der spezifischen Expositionssituation des Menschen, Untersuchungen über etwaige negativen Auswirkungen auf die Umwelt, sowie Erforschung möglicher additiver Wirkungen und der Ursache-Wirkungsbeziehungen.

Es ist zu hoffen, daß dieser Tagungsbericht dazu beiträgt, sowohl die Forschung als auch die Öffentlichkeit vermehrt für diese Problematik zu interessieren und sich als Promotor für zukünftige Projekte auf diesem Gebiet erweist.



SYMPOSIUM

UMWELTCHEMIKALIEN MIT HORMONELLER WIRKUNG

Eine Standortbestimmung für Österreich

22. April 1996, 13:00-18:00 Uhr

23. April 1996, 9:00-16:00 Uhr

Ort der Veranstaltung:

Umweltbundesamt (Sitzungszimmer, Erdgeschoß), Ingen-Housz-Gasse 3, 1090 Wien

öffentliche Verkehrsverbindungen:

U4 oder Straßenbahnlinie 5 (Station Friedensbrücke)

Montag, 22. April 1996

13:00 Uhr Begrüßung der Teilnehmer
Dir.-Stellv. Dr. Manfred PETER, Umweltbundesamt Wien

13:15 Uhr Einführung in das Thema
Mag. Alarich RISS, Umweltbundesamt Wien

ÜBERBLICK UND STAND DES WISSENS

13:30 Uhr **Dr. Hasso SEIBERT**, Institut für Toxikologie, Kiel
Umweltchemikalien mit endokriner Wirkung

14:00 Uhr **Prof. Dr. Hans PUSCH**, Ambulatorium für Andrologie, Graz
Einfluß von toxischen Substanzen, Schwermetallen und Streß auf die männliche Fertilität

14:30 Uhr **Dr. Hermann SCHWEINFURTH**,
Schering-AG, Experimentelle Toxikologie, Berlin
Umweltverhalten und ökotoxikologische Wirkungen von steroidal Östrogenen

15:00 Uhr Diskussion

15:30 Uhr Pause

EXPOSITION UND WIRKUNG AUF MENSCH UND UMWELT

- 16:30 Uhr **Prim. Dr. Gunter SCHULTES**, TransMed-Institut, Wien
Fertilität bei Wein- und Obstbauern exponiert gegenüber Pflanzenschutz- und Schädlingsbekämpfungsmitteln in Österreich
- 17:30 Uhr Diskussion
- 20:00 Uhr Heurigenbesuch

Dienstag, 23. April 1996

EXPOSITION UND WIRKUNG AUF MENSCH UND UMWELT

- 9:00 Uhr **Dr. Peter FRIGO**, Univ.-Klinik für Frauenheilkunde, Abt. Endokrinologie, Wien
Östradiol- und Ethinylestradiolkonzentrationen im Abwasser von Wien
- 9:30 Uhr **Dr. Petra STAHLSCHMIED-ALLNER**, ECT-Ökotoxikologie GmbH, Flörsheim
Endokrin wirksame Substanzen in der aquatischen Umwelt
- 10:00 Uhr **Doz. Dr. Wilfried BURSCH**, Institut für Tumorbologie-Krebsforschung, Wien
Erhöhen hormonell wirksame Umweltchemikalien und Schwermetalle das Krebsrisiko?
- 10:30 Uhr **Doz. Dr. Alois JUNGBAUER**, Institut für Mikrobiologie, Wien
Verfahren zur Bestimmung der östrogenen Aktivität von Umweltchemikalien
- 11:00 Uhr Diskussion
- 11:15 Uhr Pause

PROJEKTE, FORSCHUNGSBEDARF UND LÖSUNGSANSÄTZE

- 11:30 Uhr **Christa GOTTSCHALK**, Umweltbundesamt, Berlin
Forschungsaktivitäten (international und in Deutschland) auf dem Gebiet hormonell wirksamer Substanzen
- 12:00 Uhr **Dr. Thomas BELAZZI**, Greenpeace, Wien
Umweltchemikalien mit hormoneller Wirkung – Probleme und Lösungsansätze aus der Sicht von Greenpeace
- 12:30 Uhr Mittagspause
- 14:00 Uhr Podiumsdiskussion: *Schlußfolgerungen und Empfehlungen*
- 16:00 Uhr Pressegespräch

UMWELTCHEMIKALIEN MIT ENDOKRINER WIRKUNG

H. Seibert

Institut für Toxikologie, Universität Kiel

1 ENDOKRINE WIRKUNG VON CHEMIKALIEN

Spricht man von der "endokrinen Wirkung" von Chemikalien, so umfaßt dieser Ausdruck alle Arten von Wirkungen, die in die hormonelle Regulation im Körper von Mensch und Tier eingreifen. Derartige Wirkungen können in allen Lebensstadien eines Organismus auftreten und von besonderer Bedeutung während sensibler Phasen der prä- und postnatalen Entwicklung sein. Bedenkt man, wie komplex das endokrine System aufgebaut ist und wie viele Teilprozesse an der hormonellen Regulation beteiligt sind, so wird deutlich, wie vielfältig die Möglichkeiten sind, mit denen Fremdstoffe grundsätzlich das endokrine System beeinflussen können. So können Xenobiotika beispielsweise an Hormonrezeptoren binden und Wirkungen auslösen, die denen eines körpereigenen Hormons entsprechen, d. h. sie wirken als Agonisten. Beispiele hierfür liefern zahlreiche Xenoöstrogene (s. u.). Chemische Verbindungen können aber auch an Rezeptoren binden, ohne hormonartig zu wirken, damit aber die Bindung körpereigener Hormone hemmen und so die Wirkung dieser Hormone vermindern, d. h. sie wirken als kompetitive Antagonisten. Beispiele hierfür sind einige antiandrogene Substanzen (s. u.). Neben solchen rezeptorvermittelten, direkten Wirkungen sind eine ganze Reihe indirekter Einflüsse möglich. Dazu gehören Veränderungen der Konzentrationen von Hormonrezeptoren in Erfolgsorganen, der Biosynthese und Sekretion von Hormonen in endokrinen Organen sowie der Proteinbindung im Plasma. Sexualhormone beispielsweise liegen im Blut nur zu einem sehr geringen Anteil in freier Form vor. Der größte Teil ist an SHBG (Sexual-Hormon-bindendes Globulin) und Albumin gebunden. Konkurriert eine Chemikalie nun um die Bindungsstellen an diesen Proteinen oder verändert die Konzentration von SHBG im Plasma, so kann dies zu Änderungen der freien Konzentration von Hormonen führen. Von erheblicher Bedeutung kann schließlich die Wirkung von Fremdstoffen auf Biotransformationsreaktionen in der Leber sein. So können bestimmte PCB-Kongenere beispielsweise nicht nur an Östrogenrezeptoren binden sondern zusätzlich mikrosomale Monooxygenasen in der Leber induzieren (d. h. ihre Aktivität durch Stimulierung der Neusynthese erhöhen), die einerseits für die Metabolisierung der Induktoren selbst, andererseits aber auch für den Abbau körpereigener Steroidhormone zuständig sind (Soontornchaat et al., 1994; Li et al., 1994).

Der Teilbereich der Endokrintoxikologie, der in den letzten Jahren die größte Aufmerksamkeit in der wissenschaftlichen und öffentlichen Diskussion erregt hat, beschäftigt sich mit der Frage nach dem Vorkommen und der öko- und humantoxikologischen Relevanz von Chemikalien mit östrogenen Aktivität (Xenoöstrogene). Dabei ist die Erkenntnis, daß Umweltchemikalien in geeigneten Tierversuchen (Allen-Doisy-Test, Uterus-Test mit Ratten und Mäusen, Gülden, 1995) Wirkungen entfalten können, die zumindest teilweise denen natürlicher Östrogene entsprechen, keineswegs neu. Schon seit den 60er Jahren ist dies für synthetische Verbindungen wie Methoxychlor, o,p'-DDT und PCBs bekannt (Tullner, 1961; Bitman et al. 1968; Bitman & Cecil, 1970). Hintergründe für das in jüngster Zeit gestiegene Interesse an Östrogenen in der Umwelt liegen 1. in neueren Beobachtungen zu Störungen der Geschlechtsdifferenzierung und Reproduktion bei Wildpopulationen u. a. von Fischen, Reptilien, Vögeln und Wildkatzen (Colborn & Clement, 1992; Guillette et al., 1994; Facemere et al., 1995), 2. in Ergebnissen von Versuchen mit Fischen als Bioindikatoren im Abflubereich von

Kläranlagen in England, die zeigten, daß im geklärten Abwasser (unbekannte) Substanzen enthalten sind, die bei weiblichen und männlichen Forellen die Synthese von Vitellogenin (s. u.) induzieren (Purdom et al., 1994) und 3. in neueren epidemiologischen Untersuchungen zur Entwicklung und Funktion der Geschlechtsorgane bei Männern. Zu dem letzten Punkt, der im folgenden etwas eingehender dargestellt werden soll, gehören Berichte, die auf eine Verminderung der Spermienproduktion sowie erhöhte Inzidenzen von Hodenkrebs, Kryptorchismus und Hypospadien im Verlauf der letzten 30-50 Jahre hindeuten.

2 STÖRUNGEN DER ENTWICKLUNG UND FUNKTION DES MÄNNLICHEN REPRODUKTIONSSYSTEMS

2.1 Spermienproduktion

1992 veröffentlichten Carlsen et al. (1992) die Ergebnisse einer statistischen Metaanalyse, in der die Resultate von 61 weltweit zwischen 1938 und 1990 publizierten Untersuchungen zur Spermienkonzentration im Ejakulat von Männern ausgewertet wurden. Die Autoren kamen dabei u. a. zu dem Schluß, daß die Spermienkonzentration im Mittel von $113 \times 10^6/\text{ml}$ im Jahr 1938 auf $66 \times 10^6/\text{ml}$ im Jahr 1990 abgenommen habe (s. Abb. 1). Dabei sei der Anteil von Männern mit weniger als 20×10^6 Spermien/ml deutlich gestiegen, während der Anteil mit mehr als $100 \times 10^6/\text{ml}$ drastisch abgenommen habe. Damit wurde eine Diskussion wiederbelebt, die ihren Ursprung bemerkenswerterweise schon in den 70er Jahren hatte, als u. a. Nelson & Bunge (1974) aufgrund von Untersuchungen an einem größeren Kollektiv von Prävasektomiepatienten (386 Personen) in den USA zu dem Schluß kamen, daß, verglichen mit Ergebnissen aus dem Jahr 1951 (McLeod & Gold), ein deutlicher Rückgang der Spermienkonzentrationen stattgefunden hatte. Jahre später kamen McLeod & Wang (1979) demgegenüber aufgrund einer umfangreichen Analyse bis dahin vorliegender Daten von Patienten aus New York zu dem Ergebnis, daß es keinen signifikanten Rückgang der Spermienkonzentrationen gegeben habe. 1983 verglichen Bostofte et al. die Spermacharakteristika von dänischen Männern, die 1952 bzw. 1972 die Klinik wegen Fertilitätsproblemen aufgesucht hatten, und stellten eine Abnahme der Spermienkonzentration (Mediane) von 73 auf $55 \times 10^6/\text{ml}$ fest. Der Klarheit halber muß angemerkt werden, daß die Häufigkeitsverteilung von Spermienkonzentrationen nicht "normal" ist sondern "rechtsschief", d. h. Median und arithmetischer Mittelwert unterscheiden sich deutlich, wobei letzterer stets größer ist. Osser et al. (1984) beobachteten einen Rückgang der Spermienkonzentrationen bei schwedischen Männern aus infertilen Paaren von (Mittelwerte) $125 \times 10^6/\text{ml}$ 1960/61 auf $78 \times 10^6/\text{ml}$ 1980/81. Im gleichen Jahr wurden die Ergebnisse einer Untersuchung von 861 amerikanischen Männern veröffentlicht, die in 14 unabhängigen Studien zu den Auswirkungen von Chemikalienexpositionen am Arbeitsplatz als Kontrollen gedient hatten und von denen die Autoren annahmen, daß sie als repräsentativ für die berufstätige Bevölkerung in den USA gelten können (Whorton & Meyer, 1984). Dabei ergab sich für die Spermienkonzentration ein Mittelwert von $107 \times 10^6/\text{ml}$ (Median: $83 \times 10^6/\text{ml}$). Dies sind Werte, die denen aus dem Jahr 1951 (McLeod & Gold) entsprechen.

Dieser kurze historische Rückblick belegt, wie wenig einheitlich die Datenlage war, als 1992 die oben zitierte Arbeit von Carlsen et al. erschien, die erneut einen Rückgang der Spermien-dichten im Verlauf der letzten 50 Jahre postulierte. In der Folgezeit ist diese Untersuchung von einigen Autoren stark kritisiert worden. Diese Diskussion kann hier nicht im einzelnen wiedergegeben werden. Es bleibt aber festzustellen, daß Teile der geäußerten Kritik entweder

wenig substantiell waren oder inzwischen widerlegt werden konnten. Was u. a. bleibt, ist die berechnete Frage, ob es den Daten wirklich angemessen ist, die "lineare Regression" als Analyseverfahren, zu verwenden (Olsen et al., 1995). Ein Verdienst der Arbeit von Carlsen et al. besteht zweifellos darin, daß sie weitere Untersuchungen auslöste. So analysierten Auger et al. (1995) die Spermacharakteristika von 1.351 fertilen Spendern einer Samenbank in Paris und stellten eine Abnahme der Spermienkonzentration von im Mittel $89 \times 10^6/\text{ml}$ 1973 auf $60 \times 10^6/\text{ml}$ 1992 fest. Eine jüngst publizierte Analyse der Daten von 577 freiwilligen Samenspendern mit ungeklärtem Fertilitätsstatus in Schottland ergab signifikant höhere Konzentrationen von Spermien bei Männern die vor 1959 geboren waren (Median: $98 \times 10^6/\text{ml}$) als bei solchen, die zwischen 1970 und 1974 geboren waren (Median: $78 \times 10^6/\text{ml}$) (Irvine et al., 1996).

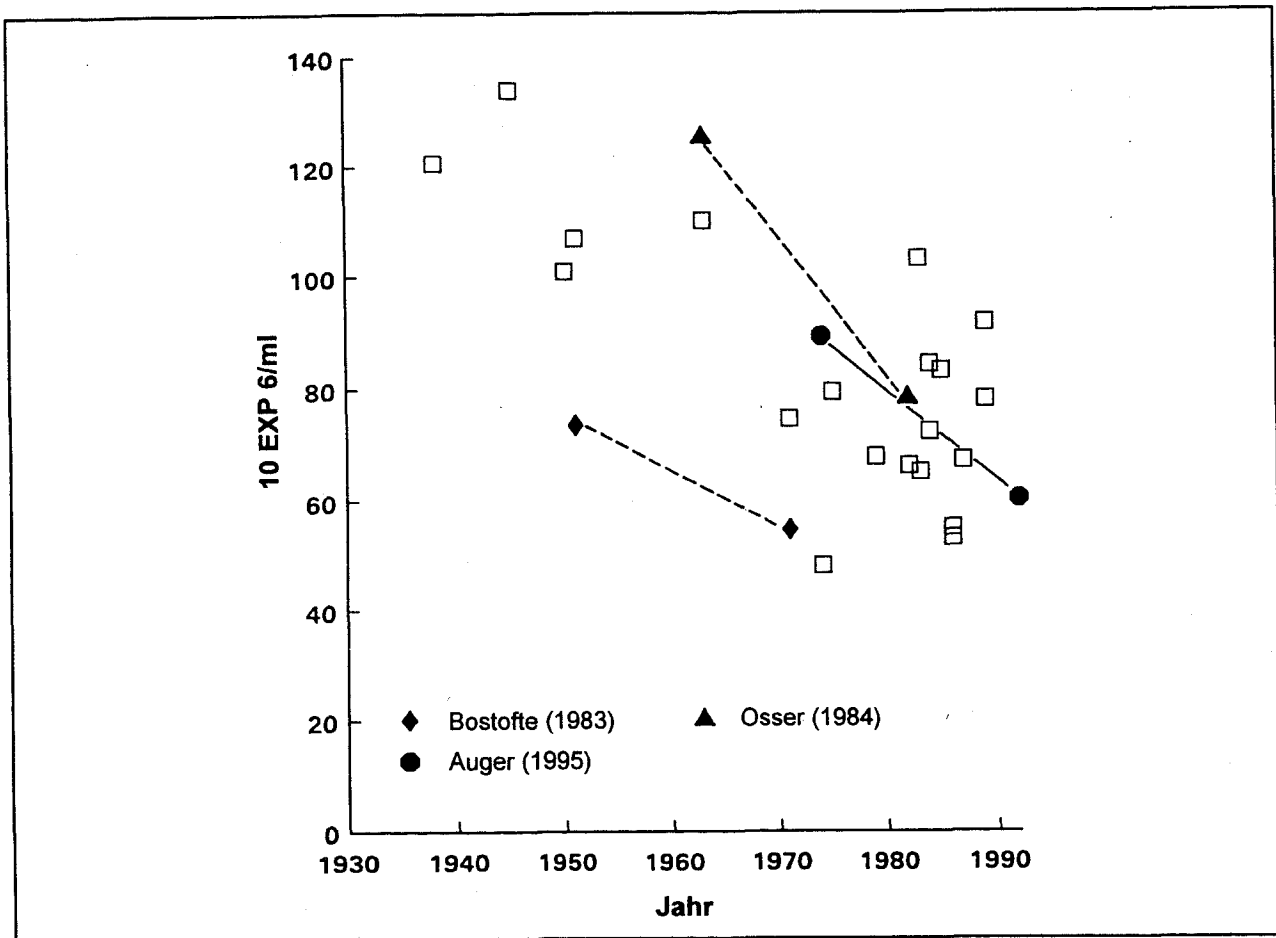


Abb. 1: Spermienkonzentrationen in Ejakulaten von Männern zwischen 1938 und 1992. Aus den von Carlsen et al. (1992) verwendeten Daten sind nur diejenigen dargestellt, die auf Werten von mehr als 100 Probanden basieren. Mit Ausnahme der Werte von Bostofte et al. (Mediane) sind arithmetische Mittelwerte angegeben.

Die Gründe dafür, daß die Frage, ob die Spermienkonzentrationen im Verlauf der letzten Jahrzehnte abgenommen haben oder nicht, so schwer eindeutig zu beantworten ist, sind mannigfaltig:

1. In den bisher durchgeführten retrospektiven Studien besteht stets die Gefahr eines "selection bias", weil unterschiedliche Kollektive von Männern untersucht wurden (erwiesenermaßen fertile Männer, Männer mit ungeklärtem Fertilitätsstatus, Prävasektomie-Patienten, Männer aus infertilen Paaren, freiwillige Spender für Samenbanken u. s. w.). D. h., es stellt sich stets die Frage nach der Repräsentativität der Daten.
2. Es ist anzunehmen, daß nennenswerte geographische und regionale Variationen vorkommen.

3. Spermienkonzentrationen unterliegen einer erheblichen interindividuellen Variabilität. Dies wird gut veranschaulicht in einer Originalabbildung aus der schon zitierten Arbeit von Auger et al. (1995), in der die Einzelwerte dargestellt sind (s. Abb. 2). Diese Variabilität erfordert die Untersuchung großer Zahlen von Probanden. Auch wenn dies der Fall ist, ist es schwierig, geringe, langsam verlaufende Änderungen eindeutig festzustellen.
4. Unter den zur Charakterisierung von Ejakulaten bestimmten Parametern weisen gerade Spermienkonzentration und Gesamtzahl der Spermien die höchsten intraindividuellen Variationskoeffizienten auf (Noack-Füller et al., 1993).

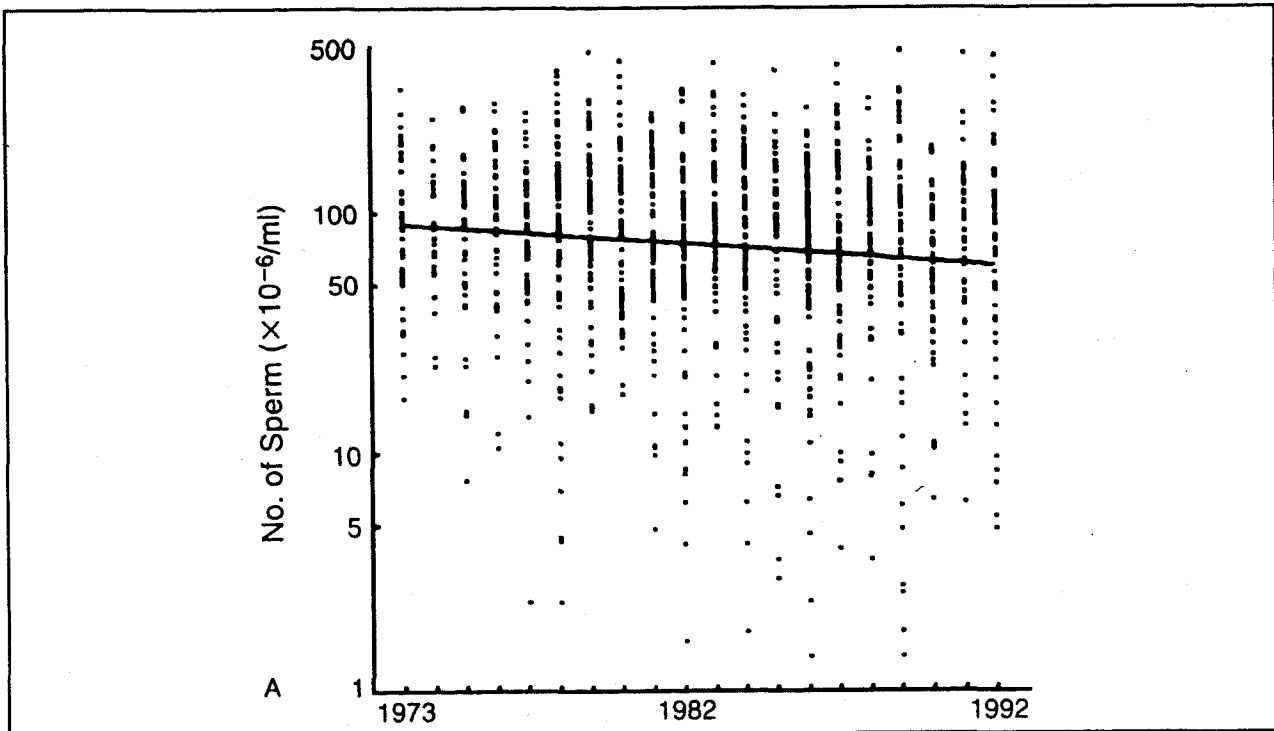


Abb. 2: Veränderung der Spermienkonzentration bei fertilen Männern. Originalabb. aus Auger et al. (1995): *N. Engl. J. Med.* 332, 281-285.

Abschließend sei noch darauf hingewiesen, daß die Spermienkonzentration kein eindeutiges Maß für die Fertilität eines Mannes darstellt. D. h., der Befund abnehmender Spermiedichten ist keinesfalls identisch mit der Annahme einer Verminderung der männlichen Fertilität. Nach Kenntnis des Autors existieren zurzeit keinerlei Untersuchungen, die Aussagen zu letzterem zuließen. Es ist aber davon auszugehen, daß sich eine deutliche Zunahme des Anteils oligozoospermer ($< 20 \times 10^6$ Spermien/ml) Männer in einer steigenden Zahl ungewollt kinderloser Paare manifestieren würde.

2.2 Hodenkrebs

Im Gegensatz zu den Diskussionen um sinkende Spermienkonzentrationen besteht keine Kontroverse um das häufigere Auftreten von Hodenkrebs. Schon in den 80er Jahren haben Untersuchungen in mehreren Ländern einen deutlichen Anstieg der Inzidenz von Hodentumoren gezeigt. In Dänemark beispielsweise hat sich die alters-standardisierte Inzidenz in den Jahren 1943-1982 mehr als verdoppelt, wobei sie sich in der Altersgruppe von 15-24 Jahren vervierfacht hat (Österlind, 1986). Diese Ergebnisse sind durch eine jüngst veröffentlichte Studie an Männern aus 9 europäischen Staaten einschließlich der neuen Bundesländer und des Saarlands bestätigt worden (s. Abb. 3). Für die deutliche geographische Variation der Inzidenzen gibt es zurzeit keine Erklärung (Adami et al., 1994).

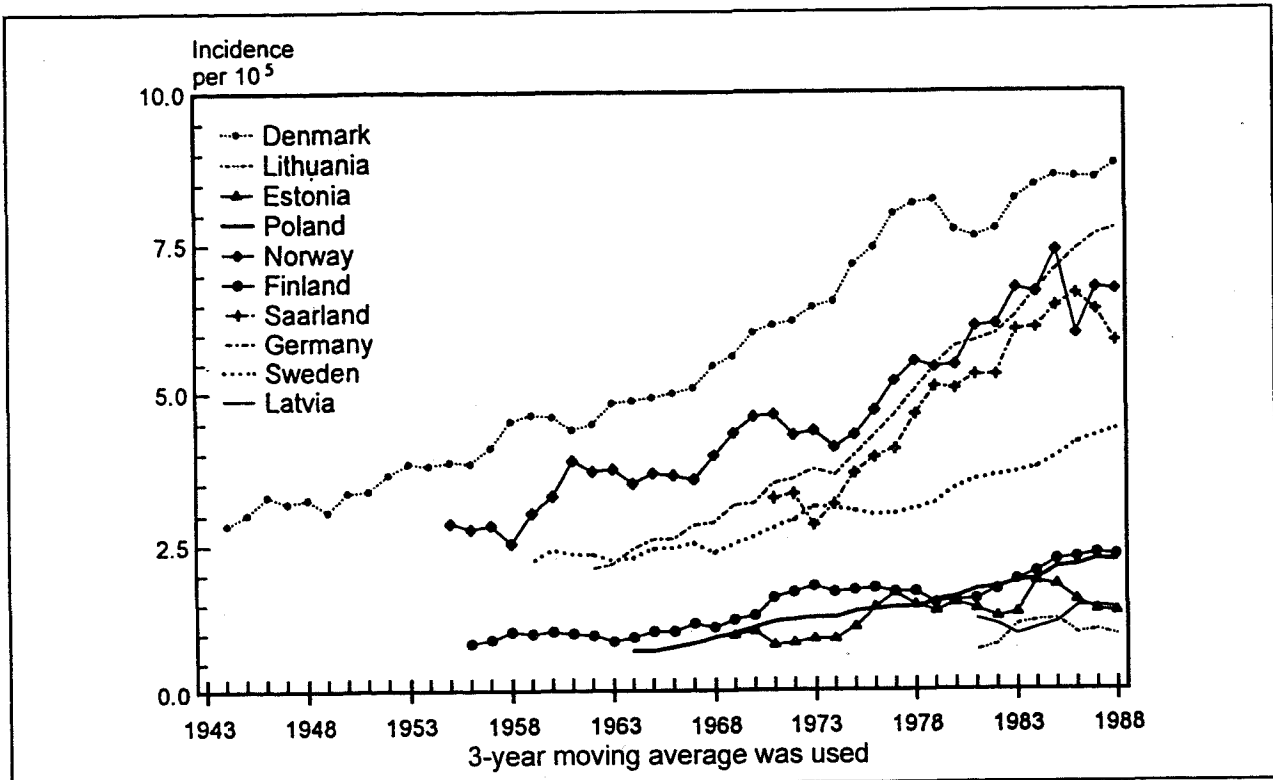


Abb. 3: Trends der alters-standardisierten Inzidenz von Hodenkrebs. Originalabb. aus Adami et al. (1994); *Int. J. Cancer* 59, 33-38.

2.3 Kryptorchismus und Hypospadien

Es gibt eine Reihe von Untersuchungen, die auf einen Anstieg der Häufigkeit von Kryptorchismus und Hypospadien bei Neugeborenen hindeuten (Übersicht s. Toppaari et al., 1995). Beispielsweise soll sich die Häufigkeit von Kryptorchismus bei 3 Monate alten Säuglingen in England zwischen den 50er und 80er Jahren knapp verdoppelt haben (Ansell et al., 1992). Insgesamt sind die Daten zur zeitlichen Veränderung der Häufigkeiten von Kryptorchismus und Hypospadien aber relativ dürrig und möglicherweise durch Änderungen der Diagnosekriterien beeinflusst (WHO, 1991; Giwercman, 1995).

3 ÖSTROGENHYPOTHESE

1993 ist von Sharpe & Skakkebaek die Hypothese formuliert worden, daß die oben beschriebenen Störungen der Entwicklung und Funktion männlicher Geschlechtsorgane eine gemeinsame Ursache haben könnten und daß diese in einer erhöhten pränatalen Exposition gegenüber Östrogenen bestehen könnte. Grundlage hierfür waren Erfahrungen mit dem synthetischen Östrogen Diethylstilbestrol (DES) bei Menschen sowie die Ergebnisse zahlreicher Tierversuche zur Wirkung prä- bzw. perinataler Behandlung mit Östrogenen (Arai et al., 1983). DES ist in der falschen Annahme, daß dadurch Fehlgeburten verhindert werden könnten, in den USA und Europa von den 40er bis zu den 70er Jahren in hohen Dosierungen an eine große Zahl schwangerer Frauen verabreicht worden. Es stellte sich dann heraus, daß bei den Töchtern der so behandelten Mütter in jungen Jahren mit erhöhter Häufigkeit Adenokarzinome der Vagina auftraten. Bei den Söhnen ergaben Untersuchungen dann statistisch erhöhte Häufigkeiten u. a. von Kryptorchismus, Hypospadien und verminderten Spermienkonzentra-

tionen bzw. Gesamtzahlen von Spermien pro Ejakulat (Stillman, 1982). Nach jüngsten Untersuchungen ist die Fertilität von erwachsenen Männern, die in utero DES-exponiert waren, aber nicht vermindert (Wilcox et al., 1995). Zusätzlich liegen Hinweise für eine erhöhte Inzidenz von Hodentumoren vor, die allerdings weiterer Abklärung bedürfen (Toppari et al., 1995).

Soll die Eingangshypothese richtig sein, so müßte es im Verlauf der letzten 50 Jahre zu einer erhöhten Exposition gegenüber Östrogenen gekommen sein. Grundsätzlich möglich wäre eine erhöhte Exposition sowohl gegenüber endogenen als auch exogenen Östrogenen. Von Bedeutung für die Konzentration endogener Östrogene können Änderungen der Ernährungsgewohnheiten sein. So ist die Aufnahme ballastoffarmer/fettreicher Kost ("Western diet") beispielsweise assoziiert mit erhöhten Konzentrationen von Sexualhormonen im Blut, verminderter Exkretion von Östrogenen über den Darm (erhöhte enterohepatische Rezirkulation) sowie erniedrigten Konzentrationen von Sexual-Hormon-bindendem Globulin (Adlerkreutz, 1990).

Bei den exogenen Östrogenen kommen synthetische Östrogene, Phyto- und Mykoöstrogene sowie Umweltchemikalien mit östrogener Wirkung in Frage.

3.1 Synthetische Östrogene

Zu den synthetischen Östrogenen gehört das schon erwähnte Diethylstilbestrol. Es gibt Schätzungen, nach denen in den 50er Jahren in den USA 1-10 % aller schwangeren Frauen mit DES behandelt wurden (Page, 1991). Als sich dann die Berichte über unerwünschte Wirkungen dieser Behandlung hinreichend verdichtet hatten, wurde in den 70er Jahren auf die weitere Verabreichung während der Schwangerschaft verzichtet. Da sich DES jedoch billig synthetisch herstellen ließ und da es auch anabole Wirkung besitzt, wurde es zusätzlich für völlig andere Zwecke benutzt, nämlich als Futterzusatz in der Rindermast und zur hormonellen Kastration von Geflügel. Erst als sich Berichte über nicht zu akzeptierende Rückstandsmengen im Fleisch so behandelter Tiere häuften, wurde in den USA zunächst die Anwendung in der Geflügelproduktion (1959) und zwanzig Jahre später in der Rindermast verboten. In der Europäischen Gemeinschaft wurde die Vermarktung von DES zur Anwendung in der Tierproduktion 1981 untersagt (Page, 1991).

Synthetische Östrogene finden sich weiterhin als Bestandteile oraler Kontrazeptiva. Hauptsächlich werden hier die oral wirksamen Abkömmlinge des 17 β -Östradiols, Ethinylöstradiol und Mestranol, verwendet. Eine Konsequenz der (erwünschten) Erhöhung der chemischen Stabilität von Ethinylöstradiol verglichen mit 17 β -Östradiol besteht darin, daß diese Verbindung bis zu 80 % unverändert in konjugierter Form ausgeschieden wird (Turan, 1995). Seit ihrer Einführung ist die Anwendung oraler Kontrazeptiva enorm angestiegen. Damit ergibt sich die durchaus berechtigte Frage, ob die ausgeschiedenen Mengen von Ethinylöstradiol bzw. seiner Metabolite groß genug sein können, um biologische Wirkungen auf Ökosysteme oder den Menschen auszuüben. Geht man von stark vereinfachenden Annahmen aus, so läßt sich die im Abwasser mögliche Konzentration an Ethinylöstradiol rechnerisch abschätzen. Für eine Stadt wie Kiel mit 325 000 an das Klärwerk angeschlossenen Einwohnern und einem täglichen Abwasservolumen von 70 000 m³ ergäbe sich beispielsweise eine Gesamtausscheidung von 1500 mg/Tag und damit eine Konzentration von 20 ng/l im Abwasser, wenn man von einer Tagesdosis von 30 μ g ausgeht, die vollständig ausgeschieden wird, und weiterhin annimmt, daß 30 % aller Frauen Kontrazeptiva benutzen. Es muß noch einmal betont werden, daß eine derartige Abschätzung natürlich nur Anhaltswerte hinsichtlich der möglichen Größenordnung liefern kann. Würde Ethinylöstradiol nun durch die biologische Reinigungsstufe im Klärwerk abgebaut werden, so wäre die abgeschätzte Konzentration kaum weiter bedenkenswert. Die wenigen bisher vorliegenden Untersuchungen mit Belebtschlamm-Modellen deuten aber darauf hin, daß Ethinylöstradiol entweder gar nicht oder nur sehr langsam abgebaut wird (Turan, 1995). D. h., daß die ins Abwasser gelangenden Mengen zum

Teil im Klärschlamm verbleiben und zum Teil mit dem geklärten Abwasser in die als Vorfluter dienenden Oberflächengewässern gelangen. Daß die in Oberflächengewässern eingeleiteten Mengen zumindest lokal von ökotoxikologischer Bedeutung sein könnten, wird daraus deutlich, daß im Laborversuch schon 0,5 ng/l Ethinylöstradiol ausreichen, um bei männlichen Forellen einen signifikanten Anstieg von Vitellogenin im Plasma auszulösen, einem Protein, das normalerweise nur von weiblichen Fischen während der Eireifung gebildet wird (Purdom et al., 1994). Von Bedeutung für den Menschen könnte Ethinylöstradiol dann sein, wenn es in nennenswerten Konzentrationen ins Trinkwasser gelänge. Dies wäre dort möglich, wo Trinkwasser aus Oberflächenwasser gewonnen wird, oder, wenn es zu einem Transfer ins Grundwasser käme. Tatsächlich ergaben wenig beachtete Messungen in Trinkwasserproben aus Quellen und Brunnen in nicht sehr dicht besiedelten ländlichen Bezirken in Süddeutschland schon 1977 Ethinylöstradiolkonzentrationen bis zu 22,5 ng/l (Rurainsky et al., 1977).

Vor diesem Hintergrund erscheint es dringend notwendig, endlich systematische Untersuchungen zum Vorkommen von Ethinylöstradiol und seinen Konjugaten in geklärtem Abwasser, Klärschlamm, Vorflutern sowie Grund- und Trinkwasser durchzuführen. In diesem Zusammenhang sollte auch das Umweltverhalten natürlicher Östrogene berücksichtigt werden, die zwar chemisch weniger stabil sind als die synthetischen Derivate, dafür aber in wesentlich größeren Mengen von Mensch und Tier ausgeschieden werden. Dies könnte beispielsweise in Regionen mit konzentrierter Massentierhaltung durchaus von Bedeutung sein.

3.2 Phyto- und Mykoöstrogene

Bei der Diskussion der toxikologischen Relevanz von Östrogenen in der Umwelt dürfen Phyto- und Mykoöstrogene nicht unberücksichtigt bleiben. Chemisch gesehen handelt es sich dabei um nicht-steroidale Verbindungen aus den Gruppen der Isoflavone, Coumestane und Resorcyssäure-Laktone. Inzwischen sind mehr als 300 Arten von Pflanzen bekannt, die derartige Substanzen synthetisieren (Hughes, 1988). Aufmerksamkeit erregten Phytoöstrogene erstmals in den 40er Jahren, als sich herausstellte, daß weibliche Schafe, die auf Weiden mit bestimmten Varietäten des Erdklees gehalten wurden, gehäuft Fertilitätsstörungen aufwiesen (Müller et al., 1989). Intensive Untersuchungen führten dann in der Folgezeit zur Isolierung und Identifizierung einer ganzen Reihe von östrogen wirksamen Isoflavonen und Coumestanen. Eine Übersicht über inzwischen bekannte Wirkungen von Phytoöstrogenen insbesondere bei Haustieren geben Müller et al., 1989.

Phytoöstrogene kommen aber nicht nur in Pflanzen vor, die als Futter für Haustiere dienen, sondern auch in solchen, die Bestandteil von Nahrungsmitteln des Menschen sind. Ein Beispiel von besonderer Bedeutung stellen Sojabohnen dar, da Sojaprodukte hohe Konzentrationen an Isoflavonen (u. a. Daidzein u. Genistein) enthalten (Setchell, 1985) und in ostasiatischen Ländern sowie von Vegetariern in westlichen Ländern in relativ großen Mengen aufgenommen werden. Versuche mit Personen, die 5 Tage lang jeweils eine Mahlzeit aus gekochtem Sojaprotein (40 g Trockengewicht) zu sich nahmen, haben gezeigt, daß die im Urin exkretierte Menge an Equol anschließend auf bis zu 7000 µg/Tag anstieg. Equol entsteht im Darm durch die Umwandlung von Isoflavonen durch Bakterien (Setchell, 1984). Hinweise dafür, daß mit Sojaprodukten aufgenommene Menge an Phytoöstrogenen beim Menschen endokrin wirksam sein können, liefern jüngere Untersuchungen an prämenopausalen Frauen, bei denen der tägliche Verzehr von 60 g Sojaprotein über 4 Wochen u. a. zu Veränderungen der Zykluslänge führte (Cassidy et al., 1994).

Zearalenon ist ein Beispiel für ein Mykoöstrogen, das von Pilzen der Gattung *Fusarium* gebildet wird. Diese Pilze siedeln sich, z. B. auf Mais und Weizen an und können – vorwiegend bei unsachgemäßer Lagerung – zur Kontamination daraus hergestellter Nahrungsmittel führen (Verdeal & Ryan, 1977; Kuiper-Goodman et al., 1987).

Als letztes Beispiel dafür, wie es zu einer Exposition gegenüber Phytoöstrogenen kommen kann, seien alkoholische Getränke genannt. Bourbon-Whisky, Bier sowie insbesondere Rotwein enthalten nachweisbare Konzentrationen an Phytoöstrogenen, die als mögliche Ursache für Femininisierungssymptome, die bei Alkoholikern beobachtet werden, diskutiert werden (Gavaler et al., 1995).

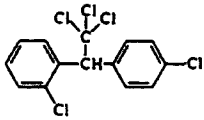
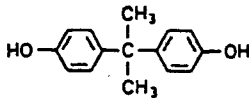
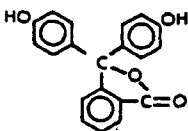
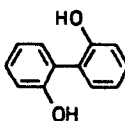
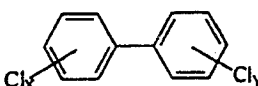
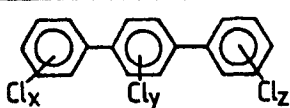
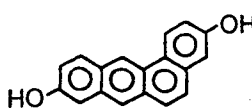
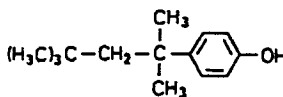
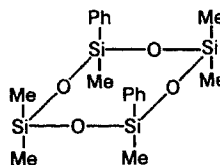
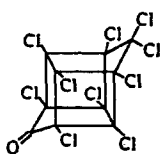
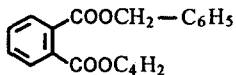
3.3 Chemikalien mit östrogenen Wirkung

Nachdem, wie schon erwähnt, in den 60er Jahren die östrogene Aktivität der Insektizide o,p'-DDT und Methoxychlor entdeckt worden war, sind in der Folgezeit eine ganze Reihe weiterer Verbindungen mit derartigem Wirkpotential gefunden worden, nicht immer jedoch als Ergebnis systematischer Suche, sondern häufig mehr oder minder zufällig. Die östrogene Wirkung von p-Nonylphenol hat sich beispielsweise dadurch herausgestellt, daß Extrakte aus in biochemischen Labors verwendeten Polystyrolröhrchen die Proliferation von östrogensensitiven humanen Brustkrebszellen (MCF7-Zellen) stimulierten (Soto et al., 1991). Alkylphenole werden bei der Produktion von Kunststoffen als Antioxidans verwendet.

Zurzeit wird in unserem Institut an einer Studie gearbeitet, die u. a. zum Ziel hat, die bisher in der Literatur beschriebenen Chemikalien mit östrogenen Aktivität zu erfassen. Die vollständige Liste mit den zugehörigen Quellenangaben wird im Herbst dieses Jahres vorliegen. Bis jetzt sind jedoch schon weit mehr als 100 Substanzen registriert worden, von denen aber nicht alle umweltrelevant sind. Tab.1 zeigt eine Übersicht über chemische Gruppen, aus denen Vertreter als östrogen wirksam beschrieben worden sind, sowie jeweils eine Beispielsubstanz bzw. ein Substanzgemisch (Aroclor 1221, Aroclor 5442).

Die Übersicht macht deutlich, wie unterschiedlich die Struktur der in dieser Weise endokrin wirksamen Verbindungen ist, wenn man beispielsweise o,p'-DDT mit dem Insektizid Kepon oder Diphenylhexamethylcyclotetrasiloxan, einem Monomer bestimmter Polysiloxane (Silikone), vergleicht. Diese Diversität macht es unmöglich, aus der chemischen Struktur einer Substanz auf ihre östrogene Aktivität zu schließen. Diese schon lange bekannte Tatsache bedeutet, daß biologische Testmethoden herangezogen werden müssen, um die Aktivität einer chemischen Verbindung zu untersuchen. Zu diesem Zweck sind zahlreiche Methoden verwendet worden, die von Rezeptorbindungsstudien in vitro über Untersuchungen an kultivierten Zellen bis zu Tierversuchen reichen (Übersicht s. Gülden, 1995). Dadurch, daß die bisher als östrogen wirksam bekannten Substanzen mit sehr unterschiedlichen, nicht standardisierten Testmethoden untersucht wurden, ergibt sich ein Problem, das von wesentlicher Bedeutung ist, wenn die toxikologische Relevanz derartiger Chemikalien beurteilt werden soll. Neben der qualitativen Kenntnis des östrogenen Potentials einer Substanz sind dazu zuverlässige Daten zu ihrer östrogenen Potenz, d. h. zur Dosisabhängigkeit ihrer Wirkung nötig. Derartige Informationen fehlen aber für den größten Teil der bisher bekannten Verbindungen. Dort wo vergleichbare Daten für kleinere Gruppen von Chemikalien vorliegen, z. B. aus Uterusgewicht-Tests mit juvenilen Ratten, hat sich gezeigt, daß die Aktivitäten z. B. von o,p'-DDT und Kepon um 4 Zehnerpotenzen geringer als die von 17 β -Östradiol sind (Cecil et al., 1971; Hammond et al., 1979). Zu ähnlichen Ergebnissen, bzw. noch schwächerer östrogenen Potenz, verglichen mit 17 β -Östradiol, ist man aufgrund von In vitro-Versuchen mit kultivierten MCF7-Zellen beispielsweise für Alkylphenole, Benzylbutylphthalat und PCB-Kongenere gekommen (Soto et al., 1995). Anzumerken ist hier aber, daß bei den in den letzten Jahren vorwiegend durchgeführten In vitro-Tests zusätzliche Interpretationsprobleme dadurch auftreten, daß die östrogene Potenz einer Substanz in vivo wesentlich von pharmakokinetischen Faktoren (Resorption/Exkretion, Verteilung, Metabolismus, Proteinbindung) abhängt, die in vitro entweder gar nicht oder nur zum Teil erfaßt werden können.

Tab. 1: Chemikalien mit östrogener Aktivität: Chemische Gruppen und Beispiele.

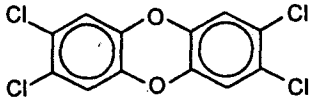
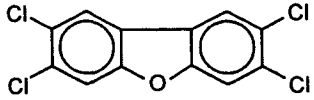
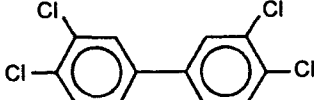
Diphenylmethan-Derivate (chloriert)	o,p'-DDT	
Diphenylmethan-Derivate (nicht chloriert)	Bisphenol A	
Triphenylmethan-Derivate	Phenolphthalein	
Biphenyle (nicht chloriert)	2,2'-Dihydroxybiphenyl	
Biphenyle (chloriert)	Aroclor 1221	
Chlorierte Triphenyle	PCT Aroclor 5442	
PAKs	3,9-Dihydroxybenz (a)-anthracen	
Naphtole	1-Naphthol	
Alkylphenole	4-tert. Oktylphenol	
Phenylsiloxane	Dipehnylhexamethyl-cyclotetrasiloxan	
Chlorierte Cyclodiene	Kepon	
Phatsäureester	Benzylbutylphthalat	

4 CHEMIKALIEN MIT ANTIÖSTROGENER WIRKUNG

Neben Chemikalien mit östrogenen Aktivität kommen in der Umwelt auch strukturell unterschiedliche Gruppen von Chemikalien mit antiöstrogener Wirkung vor. Damit sind Substanzen gemeint, die die Wirkung von Östrogenen unterdrücken bzw. hemmen können. Wie Tab. 2 zeigt, gehören hierzu u. a. ubiquitär verbreitete Substanzen aus den Gruppen der polychlorierten Dibenzodioxine (PCDD), Dibenzofurane (PCDF) und Biphenyle (PCB). Gemeinsam ist diesen Verbindungen, daß sich nicht an den Östrogenrezeptor binden sondern ihre Wirkung über Bindung an den cytosolischen Ah-Rezeptor (Arylhydrocarbon-Rezeptor) entfalten. Zum Wirkmechanismus gibt es bisher nur ansatzweise Modellvorstellungen (Safe et al., 1991). Wesentlich erscheint aber, daß die antiöstrogene Potenz dieser Substanzen relativ hoch sein kann. In *In vitro*-Experimenten mit MCF7-Zellen reichen beispielsweise Konzentrationen von 10^{-9} - 10^{-8} M 2,3,7,8-Tetrachlordibenzo-p-dioxin (TCDD) aus, um die Wirkung von 10^{-9} M 17 β -Östradiol zu hemmen (Krishnan & Safe, 1993; Safe, 1995). Vergleicht man damit die Konzentrationen von Substanzen mit östrogenen Aktivität, die nötig sind, um im gleichen Testsystem maximale östrogene Wirkungen auszulösen, so sind diese mit Werten von 10^{-6} - 10^{-5} M um 3-4 Zehnerpotenzen höher (Soto et al., 1995).

Zum Schluß muß noch ein Umstand hinzugefügt werden, der bisher nicht erwähnt wurde. Für viele der hier behandelten Substanzen ist eine völlig eindeutige Zuordnung zu Xenoöstrogenen bzw. Xenoantiöstrogenen nicht möglich, da sie sowohl östrogene als auch antiöstrogene Wirkungen auslösen können. Welche Wirkqualität im Tierversuch dominiert, kann abhängig sein von der Höhe der eingesetzten Dosis, der Art der Applikation, der Tierspezies (Müller et al., 1989) sowie dem endokrinen Status der Versuchstiere.

Tab. 2: Chemikalien mit antiöstrogener Aktivität: chemische Gruppen und Beispiele.

Chlorierte Dibenzodioxine	2,3,7,8-Tetrachlor-dibenzo-p-dioxin	
Chlorierte Dibenzofurane	2,3,7,8-Tetrachlor-dibenzofuran	
Chlorierte Biphenyle	3,3',4,4'-Tetrachlorbiphenyl	

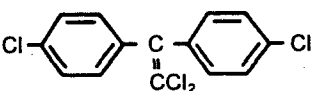
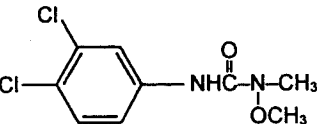
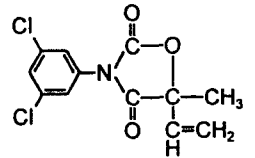
5 CHEMIKALIEN MIT ANTIANDROGENER WIRKUNG

Erst in allerjüngster Zeit hat sich herausgestellt, daß vom Menschen in die Umwelt eingebrachte Chemikalien nicht nur östrogene bzw. antiöstrogene sondern auch antiandrogene Wirkung haben können. Einen besonders interessanten Fall stellt p,p'-DDE dar. Diese Verbindung tritt im Körper von Mensch und Tier als schlecht abbaubarer Hauptmetabolit von DDT auf, das als technisches Produkt zu 63-77 % aus p,p'-DDT und nur zu 8-23 % aus dem östrogen wirksamen o,p'-DDT besteht. Untersuchungen von Kelce et al. (1995) haben nun gezeigt, daß p,p'-DDE an Androgenrezeptoren bindet, *in vitro* die androgen-induzierte Transkription in genetisch veränderten Zelllinien hemmt und *in vivo* bei Exposition von fötalen, pubertären und adulten männlichen Ratten zu Veränderungen führt, die auf eine Hemmung der Wirkung

von Androgenen hindeuten. Zusammengenommen bedeutet dies, daß p,p'-DDE als kompetitiver Androgenrezeptor-Antagonist wirkt. Diese Ergebnisse veranlassen die Autoren zu der Annahme, daß „the reported increased incidence of developmental male reproductive system abnormalities in wildlife and humans may reflect antiandrogenic activity of the persistent DDT metabolite p,p'-DDE, acting at the level of the androgen receptor.“

Zu den wenigen weiteren bisher bekannten Umweltchemikalien mit antiandrogenen Aktivität gehören das Herbizid Linuron und das Fungizid Vinclozolin (s. Tab. 3). Für beide Substanzen liegen sowohl Rezeptorbindungsstudien in vitro als auch Ergebnisse von Versuchen mit Ratten vor, die auf demaskulinisierende Wirkungen hindeuten (Cook et al., 1993; Gray et al., 1994). Bei Vinclozolin ist die antiandrogene Aktivität offensichtlich auf zwei durch Hydrolyse entstehende Metabolite zurückzuführen (Kelce et al., 1994).

Tab. 3: Chemikalien mit antiandrogenen Aktivität.

p,p'-DDE	
Linuron	
Vinclozolin	

6 SCHLUSSFOLGERUNGEN

Es kann kein Zweifel daran bestehen, daß eine ganze Reihe von Industrie- und Umweltchemikalien sowie natürlich vorkommende Substanzen das Potential besitzen, Prozesse der endokrinen Regulation im Körper von Mensch und Tier zu beeinflussen. Die Ergebnisse zahlreicher Tierversuche sowie die Erfahrungen mit DES beim Menschen sprechen weiterhin dafür, daß eine prä- bzw. perinatale Exposition gegenüber Substanzen, die die Regulation durch Sexualhormone beeinflussen, sei es durch rezeptorvermittelte agonistische oder antagonistische Wirkungen oder durch indirekte Mechanismen, zu Störungen der Entwicklung und Funktion der Geschlechtsorgane führen können.

Was ist nun von der „Östrogen-Hypothese“ zu halten? Genau genommen besteht sie aus zwei Teilen, nämlich erstens der Annahme, daß verminderte Spermienproduktion, erhöhte Inzidenzen von Hodentumoren, Kryptorchismus und Hypospadien eine gemeinsame Ursache haben und zweitens, daß diese Ursache in einer erhöhten pränatalen Exposition gegenüber Östrogenen besteht. In Erweiterung dieser Hypothese werden auch einige der bei wildlebenden Tieren beobachteten Störungen der Reproduktion auf Xenoöstrogene zurückgeführt. Geht man einen Schritt weiter zurück, so macht die Beschäftigung mit dieser Hypothese überhaupt erst einen Sinn, wenn man die zugrunde liegenden statistischen Analysen über die zeitlichen Veränderungen der Häufigkeit von Störungen des männlichen Reproduktionssystems als valide akzeptiert und damit als Problem anerkennt. Hier ist versucht worden darzustellen, daß dies nicht einheitlich der Fall ist. Während kaum Zweifel an einem Anstieg der Inzidenz von Hodentumoren

besteht, haben insbesondere die Untersuchungen, die aufgrund retrospektiver Analysen einen Rückgang der Spermienkonzentration im Ejakulat von Männern postulieren, zu gegensätzlichen Positionen geführt. Während ein Teil der Wissenschaftler diese Studien als aussagekräftig beurteilt, bemühen sich andere, durch den Nachweis methodischer Unzulänglichkeiten die Aussage generell in Frage zu stellen. Dafür, daß tatsächlich ein Rückgang der Spermienkonzentrationen stattgefunden hat und daß dieser bis heute anhält, spricht allerdings, daß neben der Metaanalyse von Carlsen et al. (1992) unabhängige Untersuchungen aus Dänemark, Schweden, Frankreich und Schottland zu ähnlichen Resultaten gekommen sind. Geht man – und dies müßte aus Vorsorgegründen getan werden – davon aus, daß es tatsächlich zu einem Anstieg der Häufigkeiten von Störungen der Entwicklung und Funktion des männlichen Reproduktionssystems gekommen ist, so stellt sich die Frage nach den möglichen Ursachen. Hier bietet die „Östrogen-Hypothese“ einen (produktiven) Ansatzpunkt. Mehr nicht! Die meisten Fragen, die zur Annahme oder Ablehnung dieser Hypothese beantwortet werden müßten, sind zurzeit noch völlig offen oder erst in Ansätzen geklärt, dies sind u. a.:

1. Über welche Mechanismen ist die Entwicklung der männlichen Geschlechtsorgane mit der Entstehung von Hodenkrebs und Störungen der Spermatogenese verknüpft?
2. Welche Rolle können dabei exogene, endokrin wirksame Substanzen (Östrogene, Antiöstrogene, Androgene, Antiandrogene) spielen?
3. Welche exogenen Substanzen (natürliche und synthetische) sind überhaupt endokrin wirksam? Die meisten aller chemischen Verbindungen, die zurzeit produziert und angewendet werden, sind nie auf derartige Wirkungen geprüft worden.
4. Wie hoch muß die Exposition gegenüber derartigen Substanzen sein, damit es zu signifikanten Effekten kommt?
5. In Bezug auf exogene Östrogene: Wie hoch ist die Exposition des Menschen (und wildlebender Tiere) gegenüber synthetischen Östrogenen und Umweltchemikalien mit östrogenen Wirkung im Vergleich zu natürlichen Östrogenen?
6. Welche Daten sind notwendig, um eine derartige Expositionsabschätzung überhaupt durchzuführen zu können? Die Verwendung von Äquivalenzfaktoren, die allein aufgrund von In vitro-Experimenten mit kultivierten Zellen gebildet werden (Safe, 1995) erscheint dafür äußerst zweifelhaft.
7. Welche Bedeutung hat die gleichzeitige Exposition gegenüber Substanzen mit antiöstrogenen Wirkung, von denen bis jetzt einige, ubiquitär vorkommende bekannt sind?
8. Welche Bedeutung haben Substanzen mit androgener bzw. antiandrogener Wirkung, Wirkpotentiale, auf die Chemikalien mit wenigen Ausnahmen bisher nicht untersucht worden sind?

Eine wissenschaftlich wirklich fundierte Bearbeitung all dieser Fragen würde viele Jahre intensiver Forschung erfordern, wenn sie denn überhaupt möglich ist. Dies ist deshalb zweifelhaft, weil es eines erheblichen Aufwands an Zeit und Arbeit bedürfte, allein für eine einzelne, als endokrin wirksam erkannte Substanz die notwendigen experimentellen Daten in Tierversuchen (hierfür dürften die Standard-Versuche mit Labornagern nicht ausreichen) zu erheben, die notwendig wären, um eine Basis für eine haltbare Risikoabschätzung zu liefern. Damit hätte man sich aber dem Problem der gleichzeitigen Exposition gegenüber einer Vielzahl von Substanzen mit gleichem (r) bzw. unterschiedlichem (r) endokrinen (r) Wirkpotential und -potenz nur einen kleinen Schritt genähert.

Vordringlich und in überschaubarer Zeit bewältigbar erscheint im Moment die Bearbeitung folgender Teilaspekte:

1. Theoretisch

- a) Kritische Bestandsaufnahme der bisher als östrogen, antiöstrogen, androgen bzw. antiandrogen wirksam beschriebenen Substanzen.

- b) Prüfung der vorliegenden Daten zur Exposition des Menschen und wildlebender Tiere gegenüber Substanzen, die als relevant betrachtet werden müssen.

2. Experimentell

- a) Entwicklung zuverlässiger und reproduzierbarer Teststrategien (sinnvolle Kombinationen aus In vitro- und In vivo-Tests) zur Prüfung von Chemikalien und Umweltproben auf endokrine Aktivität (Potential und Potenz)
- b) Prüfung der ökotoxikologischen Relevanz endokrin wirksamer Substanzen an ausgewählten aquatischen Spezies.

3. Umweltanalytisch

- a) Bioassays: Prüfung von Proben aus Rohabwasser, geklärtem Abwasser und Klärschlamm auf das Vorkommen von „endokriner“ Aktivität.
- b) Chemische Analytik: Bearbeitung spezifischer Fragestellungen wie z. B. Vorkommen und Verhalten natürlicher und synthetischer Östrogene in Abwasser, Klärschlamm und geklärtem Abwasser.

Darüber hinaus wäre es notwendig, epidemiologische Untersuchungen zu initiieren, die gesicherte Aussagen über zeitliche Trends bei Spermienkonzentrationen (und anderen Spermacharakteristika) und der Häufigkeit von Kryptorchismus und Hypospadien erlauben.

7 LITERATUR

- ADAMI, H. O.; BERGSTRÖM, R.; MÖHNER, M.; ZATONSKI, W.; STORM, H.; EKBOM, A.; TRETLI, S.; TEPPPO, L.; ZIEGLER, H.; RAHU, M.; GUREVICIUS, R.; STENGREVICIUS, A. (1994): Testicular cancer in nine northern european countries. *Int. J. Cancer* 59, 33-38.
- ADLERKREUTZ, H. (1990): Diet, breast cancer and sex hormone metabolism. *Ann. New York Acad. Sci.* 595, 281-290.
- ANSELL, P. E.; BENNETT, V.; BULL, D.; JACKSON, M. B.; PIKE, L. A.; PIKE, M. C. (1992): Cryptorchidism: a prospective study of 7500 consecutive male birth. 1984-88. *Arch. Dis. Child.* 67, 892-899.
- ARAI, Y.; MORI, T.; SUZUKI, Y.; BERNS, H. A. (1983) Long-term effects of perinatal exposure to sex steroids and diethylstilbestrol on the reproductive system of male mammals. *Int. Rev. Cytology* 84, 235-268.
- AUGER, J.; KUNSTMANN, J. M.; CZYGLIK, F.; JOUANNET, P. (1995): Decline in semen quality among fertile men in paris during the past 20 years. *The New England J. Med.* 332: 5, 281-285.
- BITMAN, J. & CECIL, H. C. (1970): Estrogenic activity of DDT analogs and polychlorinated biphenyls. *J. Agric. Food, Chem.* 18, 1.108-1.112.
- BITMAN, J.; CECIL, H. C.; HARRIS, S. J.; FRIES, G. F. (1968): Estrogenic activity of o,p'-DDT in the mammalian uterus and avian oviduct. *Science* 162, 371-372.
- BOSTOFTE, E.; SERUP, J.; REBBE, H. (1983): Has the fertility of danish men declined through the years in terms of semen quality? A comparison of semen quality between 1952 and 1972. *Int. J. Fertil.* 28: 2, 91-95.
- CARLSEN, E.; GIWERCMAN, A.; KEIDING, N.; SKAKKEBAEK, N. E. (1992): Evidence for decreasing quality of semen during past 50 years. *Brit. Med. J.* 305, 609-613.
- CASSIDY, A.; BINGHAM, S.; SETCHELL, K. D. R. (1994): Biological effects of a diet of soy protein rich in isoflavones on the menstrual cycle of premenopausal woman. *Am. J. Clin. Nutr.* 60, 333-340.
- CECIL, H. C.; BITMAN, J.; HARRIS, S. J. (1971): Estrogenicity of o,p'-DDT in rats. *J. Agr. Food Chem.* 19, 61-65.
- COLBORN, T. & CLEMENT, C. (1992): Chemically-induced alterations in sexual and functional development: The wildlife/human connection. Princeton Scientific Publishing Co, Princeton, New Jersey.

- COOK, J. C.; MULLIN, L. S.; FRAME, S. R. & BIEGEL, L. S. (1993): Investigation of a mechanism for Leydig cell tumorigenesis by Linuron in rats. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 119, 195-204.
- EARL GRAY, L.; OSTBY, J. S.; KELCE, W. R. (1994): Developmental effects of an environmental anti-androgen: The fungicide Vinclozolin alters sex differentiation of the male rat. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 129, 46-52.
- FACEMIRE, C. F.; GROSS, T. S.; GUILLETTE, L. J. (1995): Reproductive impairment in the florida panther: nature or nurture? *Environm. Health Perspect.* 103: 4, 79-86.
- GAVALER, J. S.; ROSENBLUM, E. R.; DEAL, S. R.; BOWIE, B. T. (1995): The phytoestrogen congeners of alcoholic beverages : Current status. *P.S.E.B.M.* 208, 98-102.
- GIWERCMAN A. (1995) Declining semen quality and increasing incidence of abnormalities in male reproductive organs – fact or fiction? *Hum. Reprod.* 10: 1, 158-164.
- GÜLDEN, M. (1995): In vivo- und In vitro-Verfahren zur Bestimmung der östrogenen Potenz von Umweltchemikalien. *UBA-Texte* 65/95, 86-95.
- GUILLETTE, L. J.; GROSS, T.; MASSON, G. R.; MATTER, J. 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. *Environm. Health. Perspect.* 102: 8, 680-688.
- HAMMOND, B.; KATZENELLENBOGEN, B. S.; KRAUTHAMMER, N.; MCCONNELL, J. (1979): Estrogenic activity of the insecticide chlordecon (Kepone) and interaction with uterine estrogen receptors. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 76, 6.641-6.645.
- HUGHES, C. L. (1988): Phytochemical mimicry of reproductive hormones and modulation of herbivore fertility by phytoestrogens. *Environm. Hlth. Persp.* 78, 171-175.
- IRVINE, S.; CAWOOD, E.; RICHARDSON, D.; MACDONALD, E.; AITKEN, J. (1996): Evidence of deteriorating semen quality in the united kingdom: birth cohort study in 577 men in scotland over 11 years. *BMJ* 312, 467-471.
- KELCE, W. R.; MONOSSON, E.; GAMCSIK, M. P.; LAWS, S. C.; EARL GRAY, L. (1994): Environmental hormone disruptors: Evidence that Vinclozolin developmental toxicity is mediated by antiandrogenic metabolites. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 126, 276-285.
- KELCE, W. R.; STONE, C. R.; LAWS, S. C.; EARL GRAY, L.; KEMPPAINEN, J. A.; WILSON, E. M. (1995): Persistent DDT metabolite p,p'-DDE is a potent androgen receptor antagonist. *Nature* 375, 581-585.
- KRISHNAN, V. & SAFE, S. (1993): Polychlorinated biphenyls (PCBs), Dibenzo-p-dioxins (PCDDs), and Dibenzofurans (PCDFs) as antiestrogens in MCF-7 human breast cancer cells: Quantitative structure-activity relationships. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 120, 55 -61.
- KUIPER-GOODMAN, T.; SCOTT, P.; WATANABE, H. (1987): Risk assessment of the mycotoxin zearalenon. *Reg. Toxicol. Pharmacol.* 7, 253-306.
- LI, M. H.; ZHAO, Y. D.; HANSEN, L. G. (1994): Multiple dose toxicokinetic influence on the estrogenicity of 2,2',4,4',5,5'-hexachlorobiphenyl. *Bull. Environm. Contam. Toxicol.* 53: 583-590.
- MAC LEOD, J. & GOLD, R. Z. (1951): The male factor in fertility and infertility, II. Spermatozoan counts in 1000 men of known fertility and in 1000 cases of infertile marriage. *J. Urol.* 66, 436-449.
- MAC LEOD, J. & WANG, Y. (1979): Male fertility potential in terms of semen quality: a review of the past, a study of the present. *Fertil. Steril.* 31:2, 103-116.
- MÜLLER, H.-M.; HOFMANN, J.; MAYR, U. (1989): Stoffwechsel und Wirkung von Phytoöstrogenen beim Tier. *Übers. Tierernährg.* 17, 47-84.
- NELSON, C. M. K. & BUNGE, R. (1974): Semen analysis: evidence for changing parameters of male fertility potential. *Fertil. Steril.* 25, 503-507.
- NOACK-FÜLLER, G.; DE BEER, C.; SEIBERT, H. (1993): Cadmium, lead, selenium, and zinc in semen of occupationally unexposed men. *Anrologia* 25, 7-12.
- OLSEN, G. W.; BODNER, K. M.; RAMLOW, J. M.; ROSS, C. E.; LIPSHULTZ, L. I. (1995): Have sperm counts been reduced 50 percent in 50 years? A statistical model revisited. *Fertil. Steril.* 63: 4, 887-893.

- OSSER, S.; LIEDHOLM, P.; RANSTAM, J. (1984): Depressed semen quality: a study over two decades. *Arch. Androl.* 12: 113-116.
- ÖSTERLIND, A. (1986): Diverging trends in incidence and mortality of testicular cancer in Denmark, 1.943-1.982. *Br. J. Cancer* 53, 501-505.
- PAGE, S. W. (1991) : Diethylstilbestrol – historical background and current regulatory status. *Austr. Vet. J.* 68, 224 -225.
- 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.
- RURAINSKI, R. D.; THEISS, H. J.; ZIMMERMANN, W. (1977): Über das Vorkommen von natürlichen und synthetischen Östrogenen im Trinkwasser. *GWf-Wasser/Abwasser* 118: H6, 288-291.
- SAFE, S.; ASTROFF, B.; HARRIS, M.; ZACHAREWSKI, T.; DICKERSON, R.; ROMKES, M.; BIEGEL, L. (1991): 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) and related compounds as antioestrogens: Characterization and mechanism of action. *Pharmacol. Toxicol.* 69, 400-409.
- SAFE, S. (1995): Environmental and dietary estrogens and human health: is there a problem? *Environm. Hlth. Persp.* 103, 346-351.
- SETCHELL, K. D. R.; BORIELLO, S. P.; HULME, P.; KIRK, D. N.; AXELSON, M. (1984): Non-steroidal oestrogens of dietary origin: possible roles in hormone dependent disease. *Am. J. Clin. Nutr.* 40, 569-578.
- SETCHELL, K. D. R. (1985): Naturally occurring non-steroidal estrogens of dietary origin. In: MC LACHLAN (Ed): *Estrogens in the environment II. Influences on development*. Elsevier, New York, 69-83.
- SHARPE, R. M. & SKAKKEBAEK, N. E. (1993): Are oestrogens involved in falling sperm counts and disorders of the male reproductive tract? *Lancet* 341, 1.392 -1.395.
- SOONTORNCHAAT, S.; LI, M. H.; COOKE, P. S.; HANSEN, L. G. (1994): Toxicokinetic and toxicodynamic influences on endocrine disruption by polychlorinated biphenyls. *Environm. Hlth. Persp.* 102, 568-571.
- SOTO, A. M.; JUSTICIA, H.; WRAY, J. W.; SONNENSCHNEIN, C. (1991): p-Nonyl-phenol: an estrogenic xenobiotic released from „modified“ polystyrene. *Environm. Hlth. Persp.* 92, 167-173.
- SOTO, A. M.; SONNENSCHNEIN, C.; CHUNG, K. L.; FERNANDEZ, M. F.; OLEA, N.; SERRANO, F. O. (1995): The E-screen assay as a tool to identify estrogens: An update on estrogenic environmental pollutants. *Environm. Hlth. Persp.* 103 (Suppl. 7), 113-122.
- STILLMAN, R. J. (1982): In utero exposure to diethylstilbestrol: Adverse effects on the reproductive tract and reproductive performance in male and female offspring. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 142: 7, 905-921.
- TOPPARI, J.; LARSEN J.; CHRISTIANSEN, P.; GIWERCMAN, A.; GRANDJEAN, P.; GUILLETTE, L. J.; JEGOU, B.; JENSEN, T.K.; JOUANNET, P.; KEIDING, N.; LEFFERS, H.; MCLACHLAN, J. A.; MEYER, O.; MÜLLER, J.; RAJPERT-DE MEYTS, E.; SCHEIKE, T.; SHARPE, R.; SKAKKEBAEK, E. (1995): Male reproductive health and environmental chemicals with estrogenic effects. Danish Environmental Protection Agency, Miljöprojekt Nr. 290.
- TULLNER, W. W. (1961): Uterotrophic action of the insecticide methoxychlor. *Science* 133, 647-648.
- TURAN, A. (1995): Exkretion natürlicher und synthetischer Östrogene und ihrer Metabolite: Vorkommen und Verhalten im Wasser. *UBA-Texte* 65/95, 16-21.
- VERDEAL, K. & RYAN, D. S. (1979): Naturally-occurring estrogens in plant foodstuffs – a review. *J. Food Protection* 42, 577 -583.
- WHO (1991): Congenital malformations worldwide : a report from the international clearinghouse for birth defects monitoring systems. Elsevier, Oxford, pp. 113-118.
- WHORTON, M. D. & MEYER, C. R. (1984): Sperm count results from 861 american chemical/agricultural workers from 14 separate studies. *Fertil. Steril.* 42: 1, 82-86.
- WILCOX, A. J.; BAIRD, D. D.; WEINBERG, C. R.; HORNSBY, P. P.; HERBST, A. L. (1995): Fertility in men exposed prenatally to diethylstilbestrol. *New England J. Med.* 332: 1.411-1.416.

UMWELTEINFLÜSSE AUF DIE MÄNNLICHE FERTILITÄT

H. Pusch

Ambulatorium für Andrologie, Graz

1 EINLEITUNG

Die weltweit zunehmende Beachtung von Umweltproblemen hat dazu geführt, daß der Problembereich „Umwelt und Reproduktion“ vermehrt in die Forschung einbezogen wurde. Dabei kamen zum Teil erstaunliche, oft auch alarmierende Resultate ans Tageslicht, wie zum Beispiel die kontinuierliche Abnahme der Anzahl der Spermatozoen im Ejakulat während der letzten 6 Jahrzehnte (Tabelle1).

Tab. 1: Langzeitbeobachtungen zur Spermatozoendichte (SHARPE, R. M. & SKAKKEBAEK, N. E., 1993).

Analyse der gesamten Weltliteratur (1930-1990; 14.947 Personen)			
1940	113 Mil./ml	Ej Vol.:	3,40 ml
1990	66 Mill./ml	Ej Vol.:	2,75 ml

2 DEFINITIONEN

Nach MORIARTY (1988) bedeutet „Umwelt“ die gesamte Umgebung eines individuellen Organismus, sowohl unbelebte Komponenten (Habitat) wie Luft, Boden, Wasser als auch Pflanzen sowie Angehörige der eigenen Spezies. Schwieriger ist die Definition des Begriffes „Fertilität“: Die einschlägigen Lehrbücher führen diesen Begriff nicht im Register, erst das Konversationslexikon bezeichnet damit die „Vermehrungsstärke von Lebewesen“. TRUHAUT (1977) prägt den Begriff Ökotoxikologie. Damit werden toxikologische Einwirkungen auf ganze Ökosysteme näher definiert und untersucht. Die Ökotoxikologie verfügt über ein spezielles statistisches Instrumentarium, und zwar das Wahrscheinlichkeitsraster- oder Gittermodell, da nach WOOD et al. (1992) die konventionellen statistischen Methoden zur Erfassung komplexer Umweltprobleme oder zur Gefahrenanalyse völlig ungeeignet sind.

3 PROBLEMERFASSUNG UND METHODIK

Global gesehen hat die Spezies Homo sapiens keine Fertilitätsprobleme – territorial gesehen jedoch sehr wohl. Betrug 1953 der geschätzte Anteil kinderloser Paare noch 7-8 % der Bevölkerung, so wurden 1993 bereits 15-20 % ungewollt kinderlose Partnerschaften registriert. Dies gilt für die westeuropäischen Industrienationen. Die Tendenz ist unübersehbar steigend!

Wie bei allen sehr komplexen Vorgängen ist auch die objektive Erfassung eines „Rückganges der Fertilität“ sehr schwierig. Die Auswirkungen bestimmter chemischer Substanzen auf die Spermaqualität zu untersuchen, macht an sich schon genug Probleme, ganz zu schweigen von dem Versuch, Umweltfaktoren wie Lärm, Luftgüte, Wohnqualität, Streß oder Feuchtigkeit und Kälte im Wohnbereich oder am Arbeitsplatz erfassen zu wollen.

LIVEMORE (1993) hat einen Literaturüberblick durchgeführt, wobei 132 wissenschaftliche Publikationen über 89 verschiedene Chemikalien näher beleuchtet wurden. Dabei hat man die Samenfadendichte in 87 Fällen, die Motilität in 59 Fällen und die morphologische Spermaqualität in nur 44 Fällen untersucht. Dennoch vertritt der Autor die Meinung, daß Spermatests zwar nützlich seien, aber nichts aussagen hinsichtlich der Mutagenität, Kanzerogenität und den Langzeitfolgen der untersuchten Substanzen. Die Durchführung einer Dosis-Wirkungs-Erfassung, die Prüfung der Reversibilität der Veränderungen am Keimepithel, die Analyse des Wirkmechanismus, die genetischen Auswirkungen und die Testung an verschiedenen Spezies werden zwar vehement gefordert, unterbleiben jedoch häufig aus Zeit- oder Kostengründen oder wegen fehlender methodischer Grundlagen. Daher erstaunt es nicht weiter, daß der Großteil der Untersuchungen und Studien keine schlüssigen Beweise für die Schädlichkeit einer Substanz liefert, sondern allenfalls Hinweise auf die negativen Einflüsse auf die Fertilität anführen kann. Interessanterweise nimmt die Wissenschaft ein Phänomen wie die Abnahme der Spermatozoendichte eher hin, indem sie die Normwerte ändert, anstatt die Ursachen zu erfassen (Tabelle 2).

Tab. 2: Normwerte für Spermatozoendichte.

1951	(Mc Leod u. Gold)	120 Mill.Sp./ml
1961	(Schirren)	60 Mill.Sp./ml
1970	(Eliasson et al.)	40 Mill.Sp./ml
1989	WHO (Belsey et al.)	20 Mill.Sp./ml

Ein weiteres Problem ist, daß die Expositionsdauer und -intensität bei verschiedenen Chemikalien sehr unterschiedlich sein kann, wie z. B. bei den chlorierten Kohlenwasserstoffen in Pflanzenschutzmitteln: Der Landwirt, der seine Kulturen spritzt, hat direkten Kontakt über die Haut und das Einatmen des Spritznebel, der Konsument nimmt diese Stoffe über die Nahrungskette zu sich, dies allerdings oft jahrelang. Auch hier gelingt der Beweis für die Toxizität oft nur bei extremer Exposition.

Entscheidend ist auch die biologische Halbwertszeit von Noxen. Alleine aus dem Tabakrauch hat man bisher ca. 1.000 verschiedene chemisch definierte Verbindungen isoliert, der Großteil davon schädlicher Natur. Ein rauchender Arbeiter in einem Gießereibetrieb oder beim Straßenbau ist nicht nur den Metaldämpfen oder Asphaltdämpfen ausgesetzt, sondern oft auch einer Belastung durch Hitze, Lärm, Vibrationen etc.. Die Beispiele illustrieren die Schwierigkeit, einzelne Noxen in ihrer Bedeutung richtig einzuschätzen. DOBBINS (1987) hat in der Abteilung für Vorsorgemedizin und öffentliche Gesundheit in Texas fünf Studien über Äthylendibromid, einer hochtoxischen Substanz, analysiert, die alle zu dem Schluß kamen, daß die Substanz unschädlich sei. Erst die Anwendung eines verfeinerten Untersuchungsrasters in einer sechsten Studie ergab das wahre Ausmaß der Gefährdung. Auch hier zeigte sich deutlich, daß Tierversuche nur Hinweisscharakter haben können und statistische Aussagen oft grenzwertig sind.

4 ÜBERSICHT DER WICHTIGSTEN NOXEN UND UMWELTEIN-FLÜSSE

Tabelle 3 stellt einen Ausschnitt der wesentlichsten Schadstoff- und Umwelteinflüsse dar. Daneben gibt es noch eine Reihe wichtiger Störfaktoren, die in Tabelle 4 zusammen gefaßt sind. Tabelle 5 stellt einige besonders gefährdete Berufsgruppen (ohne Anspruch auf Vollständigkeit) vor.

Tab. 3: Noxenübersicht.

Physikalische Einflüsse:
Trauma
Temperatur
Strahlung
Mikrowellen
Chemische Einflüsse:
Metallsalze
Mineralöle
Hormone
Pestizide
Neurotoxine
Medikamente
Andere Einflüsse:
Streß, Wasserverschmutzung, Phytoöstrogene
Freizeitgewohnheiten (Extremsport, Sauna)

Tab. 4: Störfaktoren.

Wohnung	Arbeitsplatz
Lärm	Lärm
Gerüche	Gerüche
Staub/Ruß	Witterungseinflüsse
Kälte	Staub, Schmutz
Feuchtigkeit	Klimaanlagen
	künstliches Licht
	geschlossene Fenster

Tab. 5: Betroffene Berufsgruppen.

Raffinerie- und Tankstellenpersonal
Arbeiter in Chemie- und Metallbetrieben
Bergleute
Kraftfahrer, Baggerfahrer
Landwirte insbesondere im Obst-, Weinbau
Schweißer
Personal in chemischer Reinigung
Med. Techn. Personal
Polizeibeamte
Anstreicher, Spritzlackierer
Nacht- und Schichtarbeiter
Berufsfeuerwehrleute

Berufsbezogene Studien an genügend großen Kollektiven sind schwierig durchzuführen und daher rar. AGNEW (1991) führte an der John-Hopkins-Universität eine Studie an Berufsfeuerwehrleuten durch und fand sowohl eine Einschränkung der Zeugungsfähigkeit als auch eine erhöhte Abortursrate bei den Frauen der Feuerwehrleute. Er erklärte dies mit den besonderen Belastungen, denen diese Berufsgruppe ausgesetzt ist: Hitze, Rauch, giftige Dämpfe und Gase, Lärm, Streß, psychische Anstrengungen und Schichtdienst. Untersuchungen an dänischen Elektroschweißern ergaben eine Gefährdung durch Metaldämpfe, Hitze, niederfrequente Felder und ionisierende Strahlung. Bei den Schweißern, die rostfreien Stahl verarbeiteten, zeigt sich ein deutlicheres Absinken der Spermaqualität als bei ihren Kollegen, die Baustähle schweißten. GERHARD und RUNNEBAUM (1992) konnten Zusammenhänge von Blei, Cadmium und Quecksilber im menschlichen Körper bei Zyklus- und Schwangerschaftsproblemen feststellen.

Angriffspunkte der Noxen:

- Speicherung im Fettgewebe
- Anreicherung in Sekreten des Genitaltraktes
- Anreicherung in der Follikelflüssigkeit.

Die Speicherung von Schadstoffen im Fettgewebe ist gut dokumentiert. Besonders die Pflanzenschutzmittel auf der Basis chlorierter Kohlenwasserstoffe wie DDT, HCH, HCB und PCB werden im Fettgewebe abgelagert und nur ganz langsam abgebaut. Im Ejakulat lassen sich diese Stoffe ebenfalls nachweisen. WAGNER et al. (1989) fanden höhere Konzentrationen dieser Stoffe in der Samenflüssigkeit von Männern mit sogenannter idiopathischer Sterilität als in gesunden Vergleichsgruppen. BAUKLOH et al. und FEICHTINGER (1991) et al. wiesen diese Substanzen in der Follikelflüssigkeit nach und fanden höhere Konzentrationen bei Frauen mit erfolglosen in Vitro Fertilisierungs-Behandlungszyklen.

Der Pestizidwirkstoff Lindan enthält PCP und ist in der Lage, die Östradiolproduktion in den Kuluszellen herabzusetzen. Andere Pestizide wiederum bremsen die Progesteronsynthese.

4.1 Pestizide

Pflanzenschutzmittel stellen einen besonderen Problemkreis dar. Weltweit werden jährlich für 50 Milliarden DM Pflanzenschutzmittel verkauft. Jährlich sind 750.000 Menschen in die Produktion und Anwendung von Pflanzenschutzmitteln involviert und damit gefährdet – vor allem in den Entwicklungsländern. Erschwerend kommt hinzu, daß in Ländern der Dritten Welt noch Substanzen verwendet werden, die in Europa und Nordamerika aufgrund ihrer Toxizität bereits verboten sind. Ein Beispiel dafür ist DCP (Dibromochlorpropan), welches den Kohlenwasserstoffwechsel in der Elektronentransportkette der Mitochondrien und damit die Energieversorgung der Samenfäden blockiert (GREENWELL et al. 1987). Bei Kontakt mit dieser Noxe sind schwere Störungen der Spermatozoenbeweglichkeit die Folge. Daher mußte die Produktion dieses Mittels gegen Fadenwürmer in Israel und Kalifornien eingestellt werden nachdem Arbeiter in der DCP-Produktion steril geworden waren. In diesem Fall ist es gelungen, sowohl die Ursache als auch die Wirkung exakt zu dokumentieren und daraus Konsequenzen zu ziehen.

4.2 Nikotinabusus

Infolge der Anreicherung des Nikotins im Zervikalkanal und im Endometrium kann sich die Konzeptionschance bis zu 72 % reduzieren. Gleichzeitig steigt das Abortusrisiko und, wie allgemein bekannt, die perinatale Mortalität. Erwiesen ist auch, daß bei starken Raucherinnen die Menopause früher einsetzt, daß die Östradiolspiegel insgesamt geringer sind, wobei eine

Herabsetzung der Aktivität der Granulosazellaromatase dafür verantwortlich ist (BARBIERI et al. 1986). Bei Männern sinkt bei einem Nikotinkonsum von bis zu 20 Zigaretten täglich das Ejakulatvolumen, bei mehr als 20 Zigaretten täglich werden die Samenfädendichte und die Motilität negativ beeinflusst, gleichzeitig steigt das Malformationsrisiko.

4.3 Koffein

Kaffeeconsum von mehr als 4 Tassen Kaffee am Tag hat bei Nichtrauchern sogar eine Verbesserung der Samenfadenbeweglichkeit zur Folge, dieser Effekt wird jedoch bei kaffeetrinkenden Rauchern zunichte gemacht, die insgesamt eine schlechtere Motilität aufweisen.

4.4 Alkohol

Chronischer massiver Alkoholabusus mit Leberschaden, Vitamin- und Spurenelementmangel führt zu einer Herabsetzung der Spermaqualität und auch zu einer Verminderung der Potentia coeundi. Die chronische Zufuhr von ca. 40 g reinen Alkohol täglich hat nach MARSHBURN et al. (1989) keine gesicherten Nebenwirkungen und negative Auswirkungen auf die Fertilität bei beiden Geschlechtern.

4.5 Streß und Fertilität

Man unterscheidet zwischen Eustreß als stimulierenden, eher angenehmen Form des Stresses, und dem Distreß, der entnervenden, krankmachenden Form. In einer eigenen Untersuchung des Autors an 74 andrologischen Patienten wurde ein strukturiertes Interview zum Arbeitsleben und das ILE (Inventar zur Erfassung lebensverändernder Ereignisse) angewendet. Die statistische Auswertung ergab, daß der Langzeitstreß, die belastenden Lebensereignisse bzw. unlösbare Probleme sich weitaus negativer auf die Samenqualität auswirkten als kurzfristige Belastungen (GREIMEL 1992). HARRISON et al. (1987) berichteten über die Erfahrungen mit 500 Paaren, die sich einer in Vitro Fertilisierung unterzogen. Dabei fiel auf, daß die Samenqualität, die während des streßbeladenen in vitro Fertilisierung-Durchganges erzielt werden konnte, wesentlich schlechter war als bei der Voruntersuchung. Dies legt den Schluß nahe, daß die in Vitro Fertilisierung ein insgesamt für beide Partner streßbehaftetes Verfahren darstellt, und daß die Ejakulation unter Akutstreß zu einer schlechteren Spermaqualität führt als im streßfreien Intervall.

5 LITERATUR

- AGNEW, J.; et al. (1991): Reproductive hazards of fire fighting. I. Non chemical hazards. Am. J. Ind. Med. 19. 4: 433-445.
- BARBIERI, R. L. et al. (1986): Constituents of cigarette smoke inhibit granulosa aromatase. Fertil. Steril. 46: 274-280.
- BAUKLOH, V.; BOHNET, H. G.; TRAPP, M.; HOESCHEN, W.; FEICHTIGER, W.; KEMETER, P. (1991): Biocides in human follicular fluid. In Seppälä, M. and Edwards, R. G. (eds). In Vitro Fertilization and Embryo Transfer. Ann. N. A. Acad. Sci. 442: 240-245.
- DOBBINS, J. G. (1987): Regulation and the use of "negative" results from human reproductive studies: the case of ethylene-dibromide. Am. J. Ind. Med. 12. 1: 33-45.
- FEICHTINGER, W. (1991): Environmental factors and fertility. Hum. repro. 6. 8: 1.170-1.175.

- GERHARD, I.; RUNNEBAUM, B. (1992): Schadstoffe und Fertilitätsstörungen. Schwermetalle und Mineralstoffe. Geburtsh. Frauenheilk. 52. 7: 383-396.
- GREENWELL, A. et al. (1987): A biochemical basis for 1,2-dibromo-3-chloropropane-induced male infertility. Inhibitions of sperm mitochondrial electron transport activity. Toxiol. Appl. Pharmacol. 91. 2: 274-280.
- GREIMEL, E. & PUSCH, H. H. (1992): Auswirkungen von belastenden Ereignissen und Streßfaktoren auf die männliche Fertilität. Fertilität 8: 171-174.
- HARRISON, K. L. et al. (1987): Stress and semen quality in an in vitro fertilization programme. Fertil. Steril. 48. 4.: 633-636.
- LIVERMORE, C. A. (1993): An evaluation of human sperm as indicators of chemically induced alternatives of spermatogenic function. Mutab Res. 115. 1: 73-148.
- MARSHBURN, P. B.; SLOAN, C. S.; HAMMOND, M. G. (1989): Semen quality and association with coffee drinking. Cigarette smoking. And ethanol concomption. Fertil. Steril. 52: 162-165.
- MORIARTY, F. (1988): Ecotoxicology. second edition. Academic Press.
- SHARPE, R. M. & SKAKKEBAEK, N. E. (1993): Are oestrogens involved in falling sperm counts and disorders of the male reproductive tract? Lancet 341, 1.392-1.395.
- TRUHAUT, R. (1977): Ecotoxicology. Objectives, principles and perspectives. Ecotoxicology and Safety 1: 151-173.
- WOOD, J. W. et al. (1992): Hazard models for human-population biology. Yearbook of physical anthropology 35: 43-87.
- WAGNER, U.; SCHLEBUSCH, H.; van der VEN, H.; KREBS, D. (1989): Pestizide in Follikelflüssigkeit und Seminalplasma. Arch. Gynecol. Obstet. 245: 1.039-1.040.

UMWELTVERHALTEN UND AQUATISCHE TOXIZITÄT VON ETHINYLESTRADIOL

Schweinfurth, H.; Länge, R.; Miklantz, H. & Schauer, G.

Research Laboratories, Schering AG, Berlin

ABSTRACT

17 α -Ethinylestradiol (EE₂) besitzt eine geringe Wasserlöslichkeit und einen relativ hohen Verteilungskoeffizienten Oktanol/Wasser. Diese Daten weisen auf eine mögliche Adsorption an Sedimentpartikel und – soweit keine Metabolisierung erfolgt – ein Potential zur Bioakkumulation hin. Die Beurteilung der Verteilung von EE₂ z. B. in Kläranlagen wird dadurch erschwert, daß es vom Menschen hauptsächlich in Form von Konjugaten (Glucuroniden mit geringer estrogenen Aktivität) ausgeschieden wird, die besser wasserlöslich sind. Allerdings ist anzunehmen, daß diese unter Umweltbedingungen von Mikroorganismen zumindest teilweise hydrolytisch gespalten werden können. In einem Laborversuch auf biologische Abbaubarkeit (modifizierter CO₂-Entwicklungstest nach FDA-Richtlinie) wurde innerhalb von 4 Wochen keine wesentliche Mineralisierung von EE₂ festgestellt. Andere Autoren haben bei Inkubation mit Mikroorganismen aus Klärschlamm einen mehr als 90 %igen Primärabbau von EE₂ nach 4 Wochen beobachtet. In einer Feldstudie betrug die Elimination von EE₂ in Kläranlagen der USA ca. 20-40 %. Nach den uns vorliegenden Informationen schätzen wir die Konzentration von unverändertem EE₂ am Ablauf von Kläranlagen auf $\leq 0,1$ ng/l.

EE₂ zeigte als gesättigte Lösung (ca. 10 mg/l) keine Hemmwirkung auf fünf verschiedene Mikrobenspezies (Bakterien, Pilze, Blaualgen). In der Prüfung auf akute Immobilisierung am Wasserfloh *Daphnia magna* wurde eine EC₅₀ nach 48 h von 6,4 mg/l ermittelt. Die LC₅₀ bei 96 h Exposition von Regenbogenforellen betrug 1,6 mg/l. Demzufolge scheinen Fische von den genannten Spezies am empfindlichsten auf die akuten Wirkungen von EE₂ zu reagieren.

In einem Reproduktionsversuch über 21 Tage an *Daphnia magna* wurde bis zur höchsten geprüften Konzentration von 0,4 mg/l EE₂ keine erhöhte Mortalität bei den Muttertieren und keine Verminderung der Anzahl von Jungtieren beobachtet.

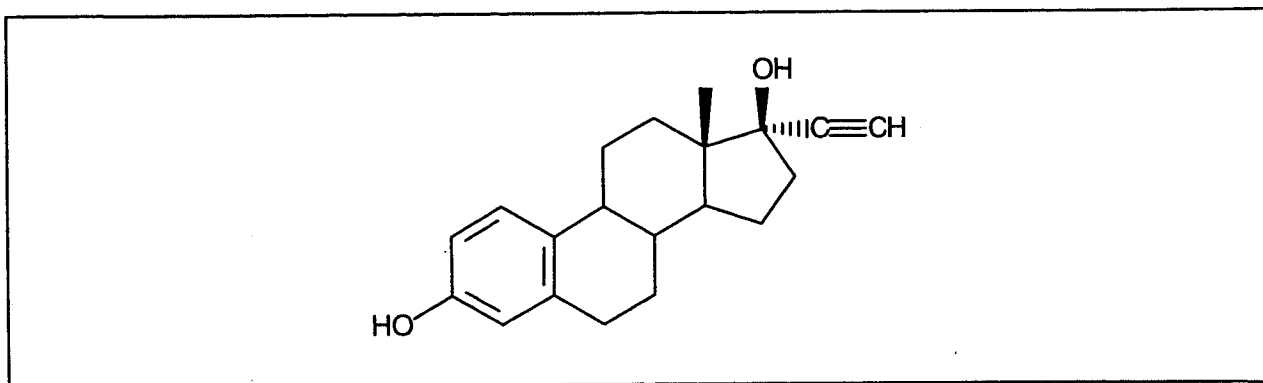
Bei der Dosisfindung für einen Life-cycle-Test mit EE₂ an der Fettkopfbresse (*Pimephales promelas*) wurden nach jeweils 4 Wochen Exposition verschiedener Lebensstadien Effekte auf das Wachstum von Jungtieren sowie auf die Eiablage erwachsener Tiere festgestellt. Außerdem traten bei Jungtieren histopathologische Veränderungen der Leber und Niere auf. Die Konzentrationsabhängigkeit dieser Befunde wird zurzeit im Rahmen der Hauptstudie untersucht.

1 EINLEITUNG

Das synthetische Steroid 17 α -Ethinylestradiol (EE₂) ist – neben seinem 3-Methylether Mestranol – die wichtigste Estrogen-Komponente in oralen Kontrazeptiva (siehe Abb. 1). Durch Einführung der Ethinylgruppe in der 17 α -Position zeigt die Verbindung verglichen mit dem endogenen Hormon 17 β -Estradiol eine höhere metabolische Stabilität und besitzt eine höhere Bioverfügbarkeit [1, 2]. Erste Diskussionen über das Auftreten synthetischer Estrogene in der Umwelt als Folge ihrer breiten Anwendung zur Empfängnisverhütung wurden in den 70er Jahren geführt [3, 4, 5]. Dabei stand die Sorge im Vordergrund, daß sie in das Trinkwasser gelangen und möglicherweise die menschliche Fertilität beeinträchtigen könnten. Im Zusam-

menhang mit einer estrogenen Wirkung von Abflüssen englischer Kläranlagen auf Fische wurde EE₂ kürzlich als möglicher auslösender Faktor erörtert [6]. Außerdem ist EE₂ von Interesse in der allgemeinen Debatte über die möglichen Risiken von Arzneimitteln in der Umwelt, da es sich dabei um eine Substanz mit hoher Wirksamkeit und anscheinend relativ langsamer Abbaubarkeit handelt [7].

Abb. 1: Strukturformel von 17 α -Ethinylestradiol (EE₂).



In dieser Arbeit wollen wir eine Übersicht über den Kenntnisstand zum Umweltverhalten und zur Ökotoxikologie von EE₂ geben. Da die Literatur keine Angaben zur Toxizität der Substanz gegenüber Wasserorganismen enthielt, haben wir hierzu umfangreichere Untersuchungen eingeleitet. Daraus werden die ersten Ergebnisse vorgestellt. Außerdem wird eine vorläufige Abschätzung der mit dem Auftreten von EE₂ in der Umwelt verbundenen Risiken vorgestellt.

2 ANGABEN ZUM UMWELTVERHALTEN

Das Vorkommen und Verhalten von EE₂ in der Umwelt läßt sich beurteilen anhand von Informationen zu Metabolismus und Ausscheidung beim Menschen, zu physikalisch-chemischen Parametern sowie zu biotischen und abiotischen Mechanismen der Elimination aus der Umwelt.

2.1 Pharmakokinetik beim Menschen

Wenn Betrachtungen zu den Risiken für die Umwelt angestellt werden, die als Folge der Anwendung eines Arzneimittelwirkstoffes auftreten können, muß berücksichtigt werden, in welcher Form er vom Menschen ausgeschieden wird. Untersuchungen zur Pharmakokinetik von EE₂ beim Menschen zeigen, daß nur ein kleiner Teil der aufgenommenen Dosis (in der Größenordnung von 1 %) unverändert eliminiert wird [1, 2]. Der Hauptteil wird metabolisiert – entweder in oxidativen Phase I-Reaktionen (hauptsächlich durch 2-Hydroxylierung unter Bildung eines Katechols) oder in Phase II-Reaktionen (Konjugation unter Entstehung des 3-Sulfats oder von Glukuroniden). Nach heutiger Kenntnis ist die biologische Aktivität dieser Metaboliten vergleichsweise gering [6, 8]. Allerdings muß zumindest mit einer partiellen Rückspaltung der Konjugate durch Mikroorganismen gerechnet werden. Aus diesen Gründen halten wir es für sinnvoll, trotz relativ geringer Ausscheidung von freiem EE₂ die Abschätzung möglicher Umweltrisiken zunächst für diese Substanz durchzuführen.

2.2 Physikalisch-chemische Daten

Bereits in der eingangs zitierten Arbeit von Norpoth et al. [3] findet sich mit 4,7 mg/l eine Angabe zur Löslichkeit von EE₂ in destilliertem Wasser. Diese steht in guter Übereinstimmung mit dem Wert 4,8 mg/l von Tabak et al. [9]. Für die Dissoziationskonstante wurde mit photometrischer Titration ein pK_a von 10,46 bei 23 °C ermittelt [10].

In unseren Laboratorien wurde eine Reihe von physikalisch-chemischen Prüfungen mit der genannten Verbindung nach den Technical Assistance Documents (TAD) der U.S. FDA [11] durchgeführt, die weitgehend den jeweiligen OECD Guidelines for Testing Chemicals entsprechen (siehe Tab. 1).

Mit der Kolbenmethode wurde bei einem pH von 7 in gepufferter Lösung eine Wasserlöslichkeit von 18,6 mg/l ermittelt. Der Verteilungskoeffizient Oktanol/Wasser log P_{ow} beim gleichen pH betrug 4,2 nach der Kolbenschüttelmethode. Für den Dampfdruck bei 25°C wurde mit der Dampfdruckwaage ein Wert von 6×10^{-9} Pa bestimmt. Mit diesem und der obigen Angabe für die Wasserlöslichkeit ergibt sich für die dimensionslose Henry'sche Konstante ein Wert von 4×10^{-11} .

Tab. 1: Physikalisch-chemische Kenndaten von Ethinylestradiol.

Parameter	Wert	Methode ¹⁾
Molekulargewicht	296,4 g/mol	--
Schmelzpunkt	180,3° C	Differential Scanning Calorimetry (TAD 3.06)
Wasserlöslichkeit (25°C)	16,9 mg/l (pH = 5) 18,6 mg/l (pH = 7) 18,2 mg/l (pH = 9)	Kolbenmethode (TAD 3.01)
Verteilungskoeffizient (log P _{ow})	4,17 (pH = 5) 4,20 (pH = 7) 4,15 (pH = 9)	Kolbenschüttelmethode (TAD 3.02)
Dampfdruck (25°C)	6×10^{-9} Pa	Dampfdruckwaage (TAD 3.03)
Henry Konstante (25°C)	4×10^{-11}	Berechnet

¹⁾ TAD: FDA Environmental Assessment Technical Handbook [11], Technical Assistance Document no.

EE₂ besitzt also eine recht geringe Wasserlöslichkeit, auch wenn diese – wohl wegen der Phenol-Teilstruktur – noch etwas höher liegt als bei einigen anderen synthetischen Steroidhormonen. Entsprechend dem o. g. pK_a liegt es im umweltrelevanten pH-Bereich praktisch undissoziiert vor. Der hohe Oktanol/Wasser-Verteilungskoeffizient weist darauf hin, daß die Substanz an Partikel adsorbiert oder in biologischem Material angereichert werden könnte. Ihre Flüchtigkeit ist gering, so daß ihr Vorkommen in der Atmosphäre als vernachlässigbar betrachtet werden kann.

2.3 Mechanismen der Elimination aus der Umwelt

Bei Inkubation von EE₂ – wie auch Mestranol – mit Belebtschlamm unter aeroben Bedingungen über 5 Tage wurde von Norpoth und Mitarbeitern [3] keine Abnahme der Konzentration festgestellt. Dagegen beobachteten Tabak und Bunch [12], daß EE₂ (20 mg/l) bei kontinuierlicher Inkubation mit Belebtschlamm innerhalb von 4 Wochen bis zu 95 % abgebaut wurde, während bei Anreicherung adaptierter Mikroorganismen durch wöchentliche Subkultur bereits innerhalb von 3 Wochen ein 97 %iger und nach 4 Wochen ein vollständiger Primärab-

bau erreicht waren. Dabei schien zunächst eine Adsorption der Substanz an die Schlamm-partikel zu erfolgen. Wie aufgrund der Daten zum Metabolismus beim Säuger zu erwarten, war EE₂ unter diesen Bedingungen stabiler als die endogenen Estrogene Estradiol, Estron und Estriol.

Um Informationen aus einem standardisierten Testverfahren mit dem Endpunkt Totalabbau (Mineralisation) zu erhalten, haben wir einen aeroben Abbautest nach der Prüfrichtlinie der FDA [11] durchgeführt. Dieser beinhaltet zunächst eine Präadaption von Mikroorganismen aus Belebtschlamm und Gartenerde über 14 Tage. Bei anschließender Inkubation mit 10 mg/l EE₂ über 28 Tage wurde eine CO₂-Bildung von 3 % der theoretisch möglichen Menge festgestellt, also keine wesentliche Mineralisierung. Die zur Kontrolle der Aktivität der Mikroorganismen eingesetzte Glucose wurde im gleichen Zeitraum zu 91 % abgebaut.

Weiterhin führten Tabak und Mitarbeiter [9] eine Feldstudie in mehreren (n = 12-14) Kläran-lagen der USA durch, in der sie den Abbau verschiedener Steroidhormone untersuchten. Sie berichten, daß ca. 20-40 % der Beladung des ungeklärten Abwassers mit EE₂ durch die Be-handlung entfernt wurden. Aufgrund der verwendeten analytischen Verfahren (Extraktion und Hydrolyse, gefolgt von Dünnschichtchromatographie und Quantifizierung durch Gas-chromato-graphie) kann angenommen werden, daß die gemessenen Konzentrationen auch die konju-gierten Metaboliten von EE₂ beinhalten, so daß die tatsächliche Elimination der freien Ver-bindung höher liegen dürfte. Dabei dürfte Adsorption an Klärschlamm-Partikel eine Rolle spielen (s. o.).

EE₂ bietet von der Struktur her keinen Anhalt für mögliche Hydrolyse-Prozesse und zeigt im UV/sichtbaren Spektralbereich nur geringe Absorption bei Wellenlängen von $\lambda > 320$ nm. Daher dürften Hydrolyse und Photolyse dieser Verbindung unter Umweltbedingungen nicht wesentlich zur Elimination beitragen.

2.4 Vorkommen in Wasser

Eine erste grobe Abschätzung der Konzentration von EE₂ in Oberflächengewässern kann mit Hilfe einer Formel erhalten werden, die im Zusammenhang mit der Risikoabschätzung neuer Chemikalien in der EU entwickelt und inzwischen auch für die Anwendung auf Arzneimittel vorgeschlagen wurde (siehe Abb. 2). Damit wird praktisch die gleichmäßige Verteilung von EE₂ vorausgesetzt, die mittlere Konzentration in allen deutschen Abwässen innerhalb eines Jahres berechnet und mit einem Faktor für die Elimination bei der Klärung korrigiert. Zusätzlich wird durch den Divisor D die Verdünnung beim Eintritt in ein Fließgewässer berücksichtigt. Setzt man die für die Situation in Deutschland zutreffenden Daten ein, so erhält man einen Schätzwert für die Konzentration in Fließgewässern ("Predicted Environmental Concentration", PEC) von 0,5 ng/l. Dabei ist allerdings zu berücksichtigen, daß in die Ableitung dieses Schätzwertes der gesamte Verbrauch an EE₂ einging, also EE₂ sowie die Gesamtheit seiner Metaboliten. Der Anteil von freiem EE₂ an den in den Ausscheidungen gefundenen Steroiden wird mit 1-7 % angegeben [2]; jedoch kann dieser bei der Abwasserbehandlung durch Esterspaltung von Sulfaten und Glukuroniden wieder steigen. Wenn diese Gesichtspunkte berücksichtigt werden, erscheint uns $\leq 0,1$ ng/l als eine zuverlässigere Abschätzung der Konzentration an unverändertem EE₂ in der Nähe des Ablaufs von Kläranlagen.

Abb. 2: Geschätzte Konzentration von Ethinylestradiol (EE₂) einschließlich Metaboliten in der Umwelt.

Abschätzung der Konzentration in Oberflächengewässern
(Predicted Environmental Concentration, PEC) nach Draft Note for Guidance der EU¹⁾:

- A (kg): Geschätzter Verbrauch von EE₂ in D (ca. 50 kg)
 R (%): Eliminationsrate (ca. 50 %)
 P: Einwohnerzahl von D (ca. 80 Mio.)
 V (m³): Abwassermenge pro Kopf und Tag (0,15 m³)
 D: Verdünnung des Abwassers durch Fließgewässer (ca. 10)

$$PEC_{EE_2} = \frac{50 \text{ kg} \cdot (100 - 50)}{365 \cdot 80 \cdot 10^6 \cdot 0,15 \text{ m}^3 \cdot 10 \cdot 100}$$

$$PEC_{EE_2} = 5 \times 10^{-10} \text{ kg/m}^3 = 0,5 \text{ ng/l}$$

¹⁾ Note for Guidance III 5504/94 Draft 7, 10.1.1995

Die so erhaltene Schätzung kann verglichen werden mit publizierten Meßwerten zum Vorkommen von EE₂ in Wasserproben verschiedener Art und Herkunft, die in Tabelle 2 zusammengefaßt sind. Insgesamt ergibt sich aus diesen Werten kein stimmiges Bild, was zumindest teilweise in Unterschieden hinsichtlich der verwendeten Methoden begründet sein dürfte. Zu den Daten, die mit Radioimmunoassay ermittelt wurden, sei kritisch angemerkt, daß bei der Vielzahl der in Abwasser und Oberflächenwasser sowie auch im Trinkwasser im Spurenbereich enthaltenen Substanzen Kreuzreaktionen möglich sind, die Angaben also eher als oberer Schätzwert der tatsächlichen Konzentration von EE₂ zu verstehen sind.

Tab. 2: Vorkommen von Ethinylestradiol in Wasserproben (in ng/l); $\bar{x}$ = Mittelwert.

Probenart	USA ¹⁾	Deutschland	Niederlande ⁴⁾	Großbritannien
Abwasser (vor Klärung)	(0,5-2,3) • 10 ³	--	--	--
Klarwasser	(0,3-1,8) • 10 ³	< 0,2-0,5 ²⁾	--	< 1-7 ⁵⁾ ca. ≤ 1 ⁶⁾
Oberflächenwasser	--	< 0,2 ²⁾	0,3	< 5 ⁷⁾ 2-15 ⁵⁾
Trinkwasser	--	0-23 ($\bar{x}$ = 2) ³⁾ < 0,2 ²⁾ < 0,02 ⁴⁾	0,06	< 5 ⁷⁾ < 1-4 ⁵⁾

¹⁾ TABAK et al. [9], Methode: Hydrolyse, Extraktion, Dünnschicht-/Gaschromatographie

²⁾ KALBFUS [16], Methode: Extraktion, Silylierung, Gaschromatographie/Massenspektrometrie (GC/MS)

³⁾ RURAISKI et al. [4], Methode: "Radiorezeptorligandenassay"

⁴⁾ RATHNER UND SONNENBORN [5], Methode: Extraktion, GC/MS

⁵⁾ AHERNE UND BRIGGS [13], Methode: Radioimmunoassay

⁶⁾ MAFF/WRC [15], Methode: GC/MS

⁷⁾ AHERNE et al. [14], Methode: Radioimmunoassay

Verglichen mit der o.a. PEC erscheinen die von Tabak et al. [9] in Kläranlagen der USA gefundenen Werte um ca. drei Größenordnungen zu hoch. Demgegenüber wurde bei einer Feldstudie in englischen Kläranlagen mit GC/MS nur in zwei von neun Proben eine mögliche Anwesenheit von EE₂ im Bereich der Nachweisgrenze festgestellt, wobei die Konzentration auf 0,5 bzw. 1,1 ng/l geschätzt wurde [15]. Dies stimmt mit der o. g. Schätzung recht gut

überein. Aufgrund der erwähnten Schwächen der vorliegenden Daten dürfte der kürzlich veröffentlichten Untersuchung von Kalbfus [16], der in Proben von Oberflächen- und Trinkwasser aus Bayern mit GC/MS kein Ethinylestradiol nachweisen konnte (Bestimmungsgrenze 0,2 ng/l), besondere Bedeutung zukommen.

3 ANGABEN ZUR ÖKOTOXIKOLOGIE

3.1 KURZZEIT-PRÜFUNGEN

3.1.1 Material und Methoden

Alle hier berichteten Untersuchungen zur Ökotoxikologie von EE₂ wurden mit EE₂ einer Reinheit von 99,3 % (Hersteller: Schering AG) durchgeführt. Als Verdünnungswasser wurde stets Berliner Leitungswasser eingesetzt. In sämtlichen Tests wurden die eingesetzten Konzentrationen von EE₂ analytisch überprüft mittels HPLC oder Radioimmunoassay. Die Konzentrationsangaben beziehen sich auf die so gemessenen Konzentrationen. Weitere methodische Angaben finden sich in Tabelle 3. Die statistische Auswertung erfolgte mittels Probit-Analyse.

Tab. 3: Methodische Angaben zu den Kurzzeit-Tests zur Ökotoxizität von Ethinylestradiol (EE₂).

Spezies	Expositions- dauer	Anzahl/ Gruppe	Konzentration EE ₂ (mg/l)	T (°C)	pH	O ₂ (rel.)	Guideline ¹⁾
<i>Pseudomonas putida</i> (DSM 50198)	16 h		0,02-20	24			TAD 4.02
<i>Azotobacter Beijerincki</i> (DSM 378T)	72 h		"	30			
<i>Aspergillus niger</i> (DSM 1988)	96 h	--	"	22	--	--	
<i>Chaetomium globosum</i> (DSM 1962)	96 h		"	22			
<i>Nostoc ellipsosporum</i> (SAG-B 1453-7)	14 d		"	25			
<i>Daphnia magna</i> STRAUSS	48 h (statisch)	20	0,7-7,3	20	8 ± 0,5	> 60%	TAD 4.08
Regenbogenforelle (<i>Oncorhynchus mykiss</i> RICHARDSON)	96 h (statisch)	10	0,2-3,2	13	8 ± 0,5	> 60%	TAD 4.11

¹⁾ TAD: FDA Environmental Assessment Technical Handbook [11], Technical Assistance Document no.

3.1.2 Ergebnisse

Der Test auf Hemmung des mikrobiellen Wachstums nach FDA-Richtlinie 4.02 [11] beinhaltet die Untersuchung an Bakterien, Pilzen und Blaualgen (siehe Tab. 3). Bei den fünf eingesetzten Stämmen zeigte sich bis zur höchsten geprüften Konzentration von 20 mg/l EE₂ (entspricht der Löslichkeit unter Prüfbedingungen) keine hemmende Wirkung.

In der Prüfung auf akute Toxizität an *Daphnia magna* wurde bis zu einer Konzentration von 3,0 mg/l keine Immobilisierung festgestellt. Die $EC_{50}/48\text{ h}$ für diesen Endpunkt betrug 6,4 mg/l EE_2 .

Bei der Regenbogenforelle traten bereits ab der niedrigsten geprüften Konzentration von 0,2 mg/l EE_2 Störungen des Verhaltens sowie Mortalität auf. Die $LC_{50}/96\text{ h}$ betrug 1,6 mg/l EE_2 .

3.2 LANGZEIT-PRÜFUNGEN

3.2.1 Reproduktionsversuch an *Daphnia magna* (Großer Wasserfloh)

Die Untersuchung wurde mit semi-statischer Exposition über 21 Tage (Wasserwechsel 3mal wöchentlich) nach FDA-Richtlinie 4.09 [11] durchgeführt. Die Elterntiere wurden dabei über 21 Tage einzeln gehalten, jeweils 10 Tiere pro Konzentration. Die Temperatur betrug 20°C, der pH Wert lag zwischen 7,7 und 9,1, die relative Sättigung von O_2 war > 60 %. Die eingesetzten Konzentrationen von EE_2 betrugen 0 (Leitungswasser als Kontrolle), 19, 38, 88, 167 und 387 µg/l gemäß Analyse durch HPLC. Die zur Beurteilung der Wirkung erfaßten Parameter waren die Anzahl der Jungtiere und die Immobilisierung der Muttertiere.

Die Ergebnisse dieses Versuchs sind in Tabelle 4 zusammengefaßt. Im gesamten geprüften Konzentrationsbereich wurde keine eindeutig substanzbedingte Immobilisierung in der Elterngeneration festgestellt. Ebenso ergab sich bis zur Konzentration von 387 µg/l keine Verringerung der Anzahl der Nachkommen pro Muttertier. Allerdings zeigte sich in der höchsten Konzentration eine Tendenz zu einer leichten Verkürzung der Brutdauer (entsprechend einer höheren Wurfrate)¹.

Tab. 4: Ergebnisse des Reproduktionsversuchs mit Ethinylestradiol an *Daphnia magna*.

Konzentration ¹⁾ (µg/l)	Zahl der Würfe ($\bar{x}$)	Zahl der Nachkommen ($\bar{x} \pm s$)
0	4,1	67 ± 21
19	4,3	72 ± 18
38	4,4	72 ± 14
88	3,9	81 ± 16
163	4,3	89 ± 6
387	4,7	78 ± 25

¹⁾ gemessen mit Radioimmunoassay; $\bar{x}$ = Mittelwert; s = Standardabweichung

3.2.2 Langzeit-Toxizität an der Fettkopfbrasse

Die Untersuchung wurde zur Ermittlung geeigneter Konzentrationen für eine geplante Life-cycle-Studie an der Fettkopfbrasse (*Pimephales promelas*) durchgeführt. Drei verschiedene Lebensstadien (Embryo-Larven, juvenile sowie adulte Fische) wurden jeweils vier Wochen im Durchfluß exponiert (siehe Tab. 5). Die eingesetzten Konzentrationen von EE_2 betrugen 0,00 (Kontrolle); 0,01; 0,10; 1,00 sowie 10,0 µg/l. Sie wurden mittels Radioimmunoassay überprüft.

¹ Diese Tendenz wurde jedoch in einer weiteren, kürzlich von uns durchgeführten Reproduktionsstudie an *Daphnia magna* über zwei Generationen nicht bestätigt (Veröffentlichung der Ergebnisse wird vorbereitet).

Die beobachteten Endpunkte waren Mortalität, Wachstum (Länge und Gewicht), Morphologie und Histopathologie (lichtmikroskopische Untersuchung ausgewählter Organe) sowie bei adulten Tieren die Eiablage.

Tab. 5: Subchronische Toxizitätsstudie mit Ethinylestradiol (EE₂) an der Fettkopfbresse: Expositionsbedingungen.

	Embryo-Larven-Stadium	Juvenil-Stadium	Adulte
Zahl der exponierten Individuen	Eier: 30/Konz. Larven: 20/Konz.	20/Konz.	9/Konz. (3 männl./6 weibl.)
Konzentration EE ₂	0,01-10,0 µg/l		
Test-Dauer	4 Wochen		
pH	7,3-7,9		
T	23,6-25,7 °C		
O ₂	6,2-8,4 mg/l		
Wasserqualität	Entchlortes Leitungswasser, Härte 43,5 mg/l (als CaCO ₃)		

In den einzelnen Lebensstadien wurden folgende Befunde erhoben:

- Die Schlupfrate der **Eier** war nicht beeinflusst.
- **Larven** zeigten nur bei der höchsten Konzentration von 10,0 µg/l eine erhöhte Mortalität. Ihr Wachstum war bereits ab 0,1 µg/l vermindert. Die histopathologische Untersuchung ergab Veränderungen der Niere und der Leber. Die Leber zeigte ab 0,1 µg/l eine Hypoplasie/Atrophie des Parenchyms bei gleichzeitig erweiterten Sinusoiden (Teleangiektasie). In den Nieren traten ab 0,01 µg/l degenerative Veränderungen der Nephronen auf, vergesellschaftet mit Eiweißablagerungen in den Tubuli (Nephrose). Über die Einflüsse auf die Reproduktionsorgane wird an anderer Stelle berichtet.
- Bei **juvenilen** Tieren war die Sterblichkeit bereits bei 1,0 µg/l erhöht, während ein deutlicher Effekt auf das Wachstum erst bei 10,0 µg/l auftrat. Histopathologische Veränderungen wurden wiederum in der Leber und den Nieren ab 0,01 µg/l festgestellt. In der Leber konnte eine vermehrte Speicherung von Lipiden (Vakuolisierung, Lipidose) beobachtet werden, während in den Nieren gleichartige Veränderungen wie im Larvenstadium auftraten.
- **Adulte** Tiere wiesen ab 1,0 µg/l eine gesteigerte Mortalität auf. In allen geprüften Konzentrationen ab 0,01 µg/l wurde keine Eiablage beobachtet, wohl aber bei den Kontrolltieren.

4 DISKUSSION UND VORLÄUFIGE RISIKOBEWERTUNG

Anwenderinnen von oralen Kontrazeptiva oder Hormonpräparaten scheiden EE₂ hauptsächlich in Form von Konjugaten (Glukuroniden, Sulfaten) und Hydroxy-Metaboliten aus und nur zu einem geringen Teil als unveränderte Substanz. Es ist allerdings damit zu rechnen, daß in der Umwelt aus den konjugierten Verbindungen durch Esterasen von Mikroorganismen teilweise freies EE₂ entstehen kann. Laboruntersuchungen und Feldstudien zeigen, daß EE₂ in Kläranlagen in begrenztem Umfang durch Primärabbau und Adsorption eliminiert werden kann. Die bei landwirtschaftlicher Nutzung von Klärschlamm entstehenden Konzentrationen im Boden dürften sehr gering sein, zumal auch dort mikrobieller Abbau stattfinden wird. Damit bestehen keine Anhaltspunkte für eine Besorgnis hinsichtlich des Auftretens von EE₂ im Boden.

Für die Konzentration von freiem EE₂ in Fließgewässern haben wir einen Schätzwert (= PEC) von $\leq 0,1$ ng/l ermittelt. Dieser ist vor allem hinsichtlich der o. g. Rückbildung des Wirkstoffs aus seinen Konjugaten mit Unsicherheit behaftet. Leider stehen bisher nur ungenügende Informationen aus Feldstudien zur Verfügung, mit denen diese Schätzung der PEC verglichen werden könnte. Diese Lücke wird teilweise durch die bei dieser Fachtagung vorgestellte Untersuchung von Kalbfus [16] geschlossen. Die analytische Problematik der bereits vorliegenden Arbeiten haben wir oben zumindest im Ansatz diskutiert. Falls weitere Projekte dieser Art durchgeführt werden sollten, wäre es wünschenswert, daß dabei spezifische Detektionsmethoden angewandt und sowohl freies EE₂ als auch Konjugate erfaßt werden. Außerdem sollten für die vergleichende Risikoabschätzung sowie die Betrachtung evtl. Kombinationseffekte auch die Konzentrationen endogener Estrogene (Estradiol, Estron und Estriol) ermittelt werden.

In den von uns durchgeführten Kurzzeit-Tests zur aquatischen Ökotoxikologie erwies sich die Regenbogenforelle mit einer LC₅₀/96 h von 1,6 mg/l als die empfindlichste Spezies. Wenn man die in der EU bei der Chemikalienbewertung üblichen Regeln [17] anwendet, läßt sich hieraus mit einem Sicherheitsfaktor von 1000 ein Schätzwert für die Konzentration ohne beeinträchtigende Wirkung auf die Umwelt ("Predicted no-effect concentration", PNEC) von 1,6 µg/l ableiten. Das Verhältnis PEC : PNEC, das ein Maß für die möglichen Umweltrisiken darstellt, beträgt hier $< 0,0001$. Dies scheint einen beträchtlichen Sicherheitsabstand anzudeuten. Es muß jedoch berücksichtigt werden, daß Purdom und Mitarbeiter [6] bereits im Konzentrationsbereich von 0,1-0,5 ng/l EE₂ einen Anstieg von Vitellogenin bei männlichen Regenbogenforellen beobachteten. Vitellogenin ist ein Vorläufer von Dotterprotein, dessen Bildung physiologischerweise in der Leber weiblicher Fische durch Estradiol induziert wird. Der genannte Befund ist somit als Hinweis darauf anzusehen, daß EE₂ noch bei Konzentrationen deutlich unterhalb des o. g. Schätzwertes der PNEC eine endokrinpharmakologische Wirkung bei Fischen besitzt, die zu einer Störung der Fortpflanzung führen kann. Dies wird durch die Befunde aus der orientierenden Langzeitstudie an der Fettkopfbresse bestätigt. Die Ergebnisse einer z.Z. laufenden Life-cycle Studie mit EE₂ an derselben Spezies werden eine verlässlichere Basis für die Risikoabschätzung bieten. Allerdings ist aufgrund der sehr niedrigen erwarteten Konzentration von EE₂ in Oberflächengewässern zurzeit kein Anhalt für eine Beeinträchtigung der Umwelt gegeben.

Hinsichtlich einer Risikoabschätzung für den Menschen kann die in oralen Kontrazeptiva übliche Tagesdosis von 30 µg EE₂ als Referenz dienen. Im Trinkwasser dürften generell noch niedrigere Konzentrationen als in Fließgewässern zu erwarten sein. In Anbetracht der o. g. Schätzung der PEC haben wir daher Zweifel an den von Rurainiski et al. [4] mitgeteilten EE₂-Konzentrationen süd- bzw. südwestdeutscher Trinkwasserproben (siehe Tab. 2), die bei einzelnen Brunnen mit bis zu 22,5 ng/l angegeben wurden. Allerdings wären selbst derartige Werte bei täglicher Aufnahme von 1-2 l Trinkwasser hinsichtlich möglicher pharmakologisch-toxikologischer Effekte noch als unbedenklich zu betrachten, da die Belastung des Menschen nur ca. ein Tausendstel der o. g. zur Empfängnisverhütung angewandten Dosis entspräche. Die aus Untersuchungen in Berlin und den Niederlanden [5] mitgeteilten Gehalte von $< 0,02$ ng/l bzw. 0,06 ng/l EE₂ bestätigen jedoch unsere Annahme einer weit geringeren Verbraucherbelastung.

5 DANKSAGUNG

Die Autoren danken Frau Hoon-Woo Lee-Noffz und Herrn Michael Schmidt für die sorgfältige Durchführung der ökotoxikologischen Kurzzeit-Tests sowie Herrn Dr. Hampe für die begleitenden Analysen. Der orientierende Langzeitversuch am Fisch wurde am Brixham Environmental Laboratory der Firma Zeneca durchgeführt.

Besonders danken wir Herrn Dr. Günzel für die anregenden Diskussionen, die uns in der Bearbeitung dieses Projekts vorangebracht haben.

6 LITERATURVERZEICHNIS

- [1] GUENGERICH, F. P. (1990): Minireview, Metabolism of 17 α -ethinylestradiol in humans. *Life Sciences* 47, 1981-8.
- [2] TAUBERT, H. D. & KUHLE, H. (1995): Kontrazeption mit Hormonen: Ein Leitfaden für die Praxis. 2nd ed. Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 71-2.
- [3] NORPOTH, K. et al. (1973): Investigations on the problem of solubility and stability of steroid ovulation inhibitors in water, waste water and activated sludge. *Zbl. Bakt. Hyg. I. Abt. Orig. B* 156, 500-11.
- [4] RURAŃSKI, R. D.; THEISS, H. J. & ZIMMERMANN, W. (1977): Über das Vorkommen von natürlichen und synthetischen Östrogenen im Trinkwasser. *GWf-Wasser/Abwasser* 118, H. 6, 288-91.
- [5] RATHNER, M. & SONNEBORN, M. (1979): Biologisch wirksame Östrogene in Trink- und Abwasser. *Forum Städte-Hygiene* 30, 45-9.
- [6] 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. *Chemistry and Ecology* 8, 275-285.
- [7] SCHWEINFURTH, H.; LÄNGE, R.; SCHNEIDER, P. W. (1996): Environmental risk assessment in the pharmaceutical industry. 3rd EUROLAB Symp., Berlin, 5.-7. Jun. 1996.
- [8] SCHILLINGER, E.: Persönliche Mitteilung.
- [9] TABAK, H. H. et al. (1981): Steroid hormones as water pollutants. II. Studies on the persistence and stability of natural urinary and synthetic ovulation-inhibiting hormones in untreated and treated wastewaters. In: *Developments in Industrial Microbiology* (22), Proc. 37, General Meeting of the Soc. Industr. Microbiol., Aug. 1980, Flagstaff, Garamond/Pridemark Press Baltimore 497-519, 1981.
- [10] HURWITZ, A. R. & LIU, S. T. (1977): Determination of aqueous solubility and pKa values of estrogens. *J. Pharma. Sci.* 66, 624-627.
- [11] U.S. FOOD AND DRUG ADMINISTRATION (1987): Environmental Assessment Technical Assistance Handbook, U.S. Department of Commerce, National Technical Information Service, Springfield Va.
- [12] TABAK, H. H. & BUNCH, R. L. (1970): Steroid hormones as water pollutants. I. Metabolism of natural and synthetic ovulation inhibiting hormones by microorganisms of activated sludge and primary settled sewage. In: *Developments in Industrial Microbiology* (11) Proc. 26, General Meeting of the Soc. Industr. Microbiol., Aug. 1969, Burlington, Garamond/Pridemark Press Baltimore 367-376.
- [13] AHERNE, G. W. & BRIGGS, R. (1989): The relevance of the presence of certain synthetic steroids in the aquatic environment. *J. Pharm. Pharmacol.* 41, 735-6, 1989.
- [14] AHERNE, G. W.; ENGLISH, J.; MARKS, V. (1985): The role of immunoassay in the analysis of microcontaminants and water samples. *Ecotoxicol. and Environ. Safety* 9, 79-83.
- [15] THE DIRECTORATE OF FISHERIES RESEARCH OF THE MAFF, BRUNEL UNIVERSITY AND THE WATER RESEARCH CENTRE (1992): Final Report prepared for the Department of the Environment, Effects on trace organics on fish, Report no. FR/D 0008, Foundation of Water Research, London.
- [16] KALBFUS, W. (1995): Belastung bayerischer Gewässer durch synthetische Östrogene. 50. Fachtagung, Bayerisches Landesamt für Wasserwirtschaft, Institut für Wasserforschung, München, 7./8. Nov. 1995.
- [17] EU: Risk assessment of notified new substances. Technical Guidance Document.

FERTILITÄT BEI WEIN- UND OBSTBAUERN EXPONIERT GEGENÜBER PFLANZENSCHUTZ- UND SCHÄDLINGSBEKÄMPFUNGSMITTELN IN ÖSTERREICH

G. H. Schultes und H-G. Sainz

*Karolina Klinik Wien, Institut für Andrologie und interdisziplinäre Reproduktionsmedizin und
Abteilung für Geburtshilfe und Gynäkologie, aö. KH Hollabrunn*

ZUSAMMENFASSUNG

Gegenstand dieser prospektiven Studie war der Einfluß von Insektiziden und Pestiziden auf die männliche Fertilität von Obst- und Weinbauern. 164 Paare einer Infertilitätsklinik wurden untersucht, wobei der männliche Partner regelmäßig über mindestens 5 Jahre Pflanzenschutzmittel angewandt hatte. Die Kontrollgruppe bildeten ebenfalls Kinderwunschaare der entsprechenden ländlichen Regionen ohne spezifische Exposition. Alle weiblichen Partner in beiden Gruppen zeigten normale Ergebnisse im Hormonstatus, Follikelmonitoring und in der Laparoskopie. Es wurden 2 Spermioogramme an allen Probanden mittels computerisierter Imageanalyse durchgeführt (Motion Analysis, Santa Rosa, USA). Die Morphologie wurde nach Kruger Strict Criteria (Tygerberg, SA) beurteilt. Zwischen beiden Gruppen gab es bezüglich der Gesamtmotilität, der Morphologie, der Dichte, der Linearität, der Wegstrecke und der Weggeschwindigkeit keine signifikanten Unterschiede. Das Ejakulatvolumen, die Progression und die Seitenbewegung des Spermienkopfes zeigten Signifikanz. Da alle sonstigen Lebensgewohnheiten und Einflüsse zwischen beiden Gruppen keine Unterschiede zeigten, dürfte die spezifische Exposition der Obst- und Weinbauern gegenüber Insektiziden und Pestiziden der alleinige Grund für die Einschränkung der Fertilität sein.

Korrespondenzadresse: Prim. Dr. Gunter, H. Schultes
Karolina Klinik Wien, A-1040 Wien, Karolinengasse 5/8
Tel. +43-(1)-(222)-504 69 17
Fax +43-(1)-(222)-504 69 17-18

FERTILITY IN FARM WORKERS EXPOSED TO HERBICIDES AND PESTICIDES IN AUSTRIA

The purpose of this study was to assess exposure of agricultural workers to herbicides and pesticides. A prospective study was undertaken of male patients referred for the investigation of infertility between May 1992 and September 1995. The relationship between the regular use of pesticides and herbicides and fertility was studied in 164 couples attending an infertility clinic. The male patients reported long-term exposure to herbicides and pesticides. 171 infertile couples of the same rural area served as a control. All female partners in both groups had regular spontaneous ovulation and were investigated by laparoscopy. Assessment of male infertility was based on concentration, motility and morphology of sperm. Semen analyses were performed in both groups by a computer system (Motion Analysis, Santa Rosa, USA) and according to Kruger Strict Criteria (Tygerberg, SA). No correlation was found between the two groups in spermogram parameters such as total motility, morphology, density, linearity, path speed and average path, but there was significant association between both groups concerning volume, progression and lateral head movement. Our results suggest that chemicals that are known as occupational toxicants may have an adverse effect on the reproductive capacity. Herbicides and pesticides probably have a detrimental effect on male fertility and we, therefore, suggest more caution in the way they are handled.

1 EINLEITUNG

In Europa und Nordamerika lag die ungewollte Kinderlosigkeit 1953 bei 7-8 %. 1993 hat sich die Rate mit 15-20 % verdoppelt (12). In 40 % der Fälle liegt die Ursache beim Mann, in ca. 20 % kann ein andrologischer Zusatzfaktor gefunden werden.

Fertilitätsstörungen des Mannes können auf mannigfaltige Ursachen zurückgeführt werden. Neben angeborenen Einschränkungen können Verletzungen, Infektionen, Stress, Medikamente u. v. m. eine Rolle bei der Kinderlosigkeit spielen. Weiters beeinflussen neben Klima, Ernährung und Lebensgewohnheiten möglicherweise auch Alkohol- oder Nikotinabusus die Fortpflanzungsfähigkeit. Die wahrscheinliche Beeinträchtigung der menschliche Reproduktion durch Umweltgifte unterliegt einer ständigen Diskussion. Der Nachweis, ob Schadstoffe aus der Umwelt die Fertilität reduzieren können, ist aber bisher nur in wenigen Studien gelungen. Das Nematizid DBCP konnte durch die Untersuchung der herstellenden Fabriksarbeiter als schwer gonadotoxisch erkannt werden (6,11,14).

Ziel dieser Studie war die Untersuchung von Einflüssen bestimmter Pestizide auf die Fertilität von Obst- und Weinbauern. Viele Substanzen, die in der Landwirtschaft eingesetzt werden, gehören zur Gruppe der chlorierten cyclischen Kohlenwasserstoffe, chlorierte Phenoxy-carbonsäuren sowie zu den Alkylphosphaten. Alle chlororganischen Insektizide sind gut fett-, aber nur minimal wasserlöslich. Sie werden entweder als verstäubte Trockenpulver, als wässrige Verdünnungen mit Emulgatoren oder in organischer Lösung als Spray angewendet. Gemeinsames Merkmal ist die hohe Resistenz gegenüber physikalischen und chemischen Einflüssen. Chlorierte Kohlenwasserstoffe können inhalativ, enteral, aber vor allem dermal rasch und komplett resorbiert werden. Aufgenommene Substanzen verteilen sich überwiegend in Fettdepots. Teilweise sind sie durch recht lange Halbwertszeiten charakterisiert. Der Abbau erfolgt zur entsprechenden Essigsäure und ist dann leicht nierengängig.

Insektizide Organochlorverbindungen sind Nervengifte. Sie erzeugen an den Nervenmembranen in geringeren Konzentrationen Übererregbarkeit, in höheren Lähmung. Insektizide sind recht beständig, sie widerstehen weitgehend sowohl meteorologischen als auch metabolischen Einflüssen.

Im Rahmen dieser Arbeit sollten die besondere Exposition von Obst- und Weinbauern zu Pflanzenschutz- und Schädlingsbekämpfungsmitteln in Hinblick auf die Fertilität untersucht werden.

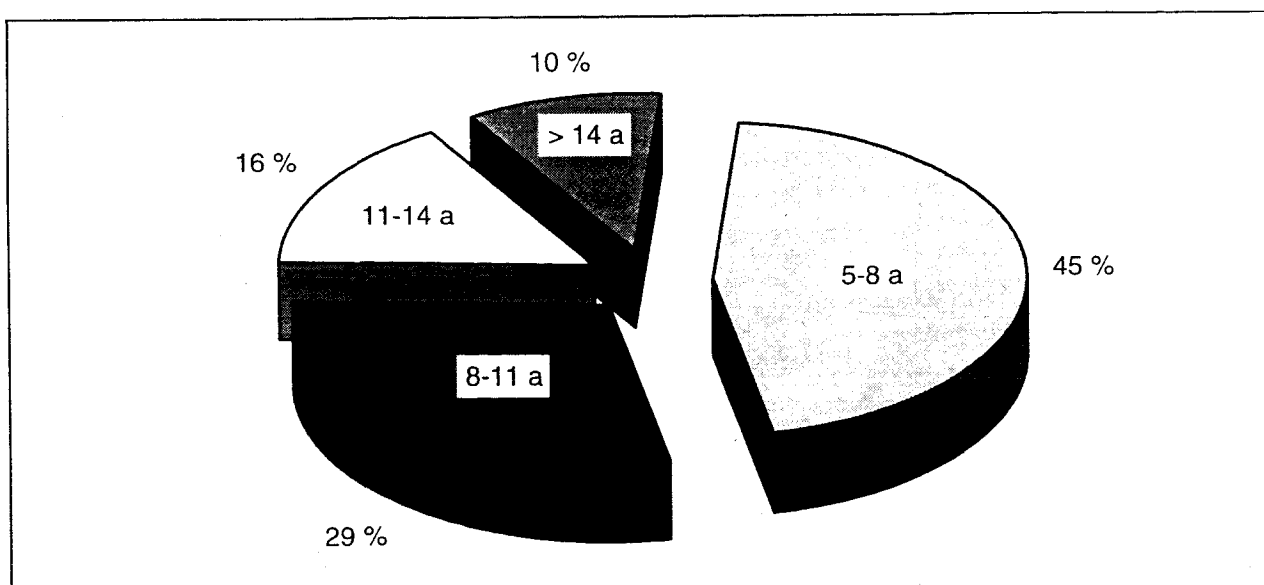


Abb. 1: Prozentuelle Verteilung der Expositionsdauer der Wein- und Obstbauern gegenüber Pflanzenschutzmitteln.

2 MATERIAL UND METHODEN

164 Wein- und Obstbauern, die unser Institut wegen unerfülltem Kinderwunsch aufsuchten, wurden in die Studie aufgenommen. Ein wesentliches Einschlusskriterium war die herkömmliche Bewirtschaftung der Kulturen und eine mindestens 5jährige regelmäßige Exposition zu Pestiziden (Abbildung 1). Gleichzeitig wurde eine Kontrollgruppe von 171 Männern der gleichen ländlichen Region untersucht (in dieser Gruppe sind 34 biologisch wirtschaftende Obst- und Weinbauern enthalten – keine Exposition zu Pestiziden mindestens 5 Jahre). Das Durchschnittsalter der Probanden betrug 30,4 (22-44) Jahre, das in der Kontrollgruppe 33,0 (24-56) Jahre. Die ausführliche Anamnese in beiden Gruppen ergab keine Signifikanzen in den erhobenen Befunden. Insbesondere konnten keine Unterschiede im Alkoholgenuß und Nikotinabusus festgestellt werden. Die Lebensgewohnheiten und das Freizeitverhalten waren vergleichbar.

Die spezifische Anamnese ergab die übliche Exposition gegenüber Pflanzenschutz- und Schädlingsbekämpfungsmitteln. Die Substanzen umfaßten Fungizide, Insektizide, Akarizide, Rodentizide und Herbizide. Bis auf wenige Ausnahmen wurden Mittel entsprechend dem Amtlichen Pflanzenschutzmittelverzeichnis (Bundesamt und Forschungszentrum für Landwirtschaft, Wien) verwendet. In 78 % erfolgte kein besonderer Schutz vor Inhalation und vor allem bezüglich Hautkontamination (Abbildung 2).

In beiden Gruppen wurden jeweils zwei Spermiogramme im Abstand von 6 Wochen durchgeführt. Die Karenzzeit betrug 4,2 (4-7) Tage. Die Ermittlung der Dichte und der Motilität erfolgte mit einem computerunterstütztem Imageanalysesystem (Motion Analysis, Santa Rosa, CA. USA), die Morphologie nach Tygerberg Strict Criteria (Kruger, SA) und Cell Form (Motion Analysis, Santa Rosa, CA. USA).

Ausschlußgründe in beiden Gruppen waren Anzeichen akuter oder chronischer genitaler Infektionen sowie rezente fieberhafte oder allgemeine Erkrankungen (letzten 3 Monate vor der Erstuntersuchung).

Ein weiteres Ausschlußkriterium war ein ausgeprägter weiblicher Faktor der Partnerin (schwere ovarielle Insuffizienz, tubarer Faktor) sowie eine Exposition zu Pflanzenschutz- und Schädlingsbekämpfungsmitteln.

Für die statistische Auswertung wurde der t-Test für Paardifferenzen verwendet. Als Signifikanzniveau galt generell $p < 0,05$.

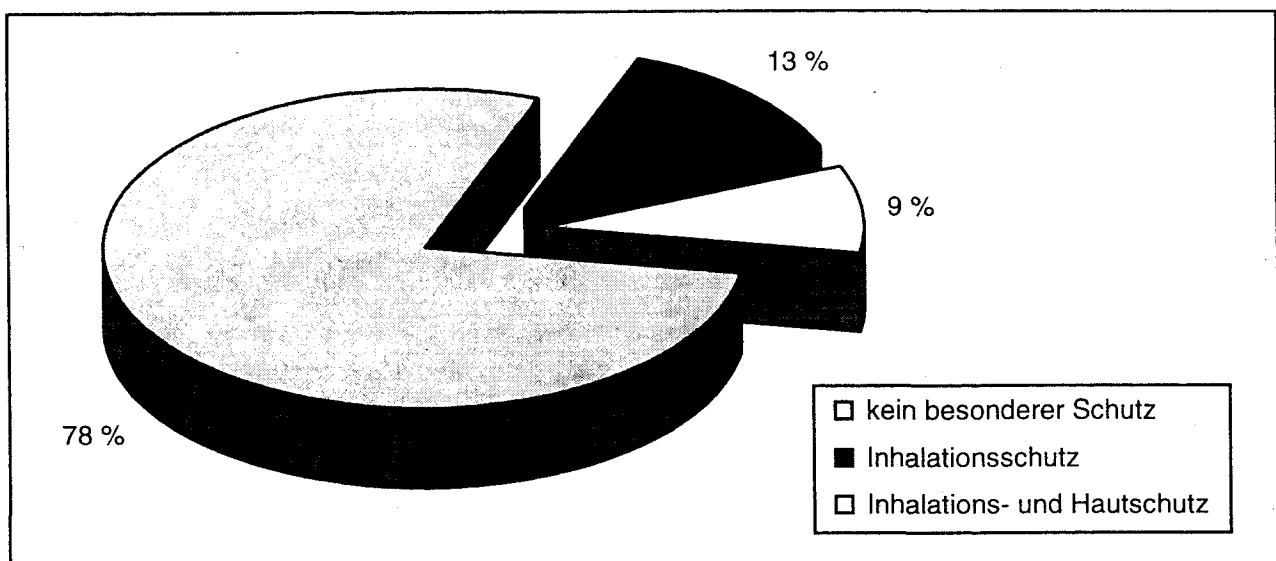


Abb.2: Schutz vor Inhalation und Hautkontamination durch Pflanzenschutzmittel bei der Ausbringung im Wein- oder Obstgarten.

3 ERGEBNISSE

Die Dichte und die Morphologie der Spermien ergaben in der Probandengruppe ein Reduktion, aber keine Signifikanz gegenüber der Kontrollgruppe. Die aufgeschlüsselten Motilitätsparameter zeigten signifikante Unterschiede im Volumen, in der Lateral Head Bewegung und in der Progression. Weggeschwindigkeit, Linearität und durchschnittliche Wegstrecke zeigten keinen signifikanten Unterschied (Abbildung 3, Tabelle 1).

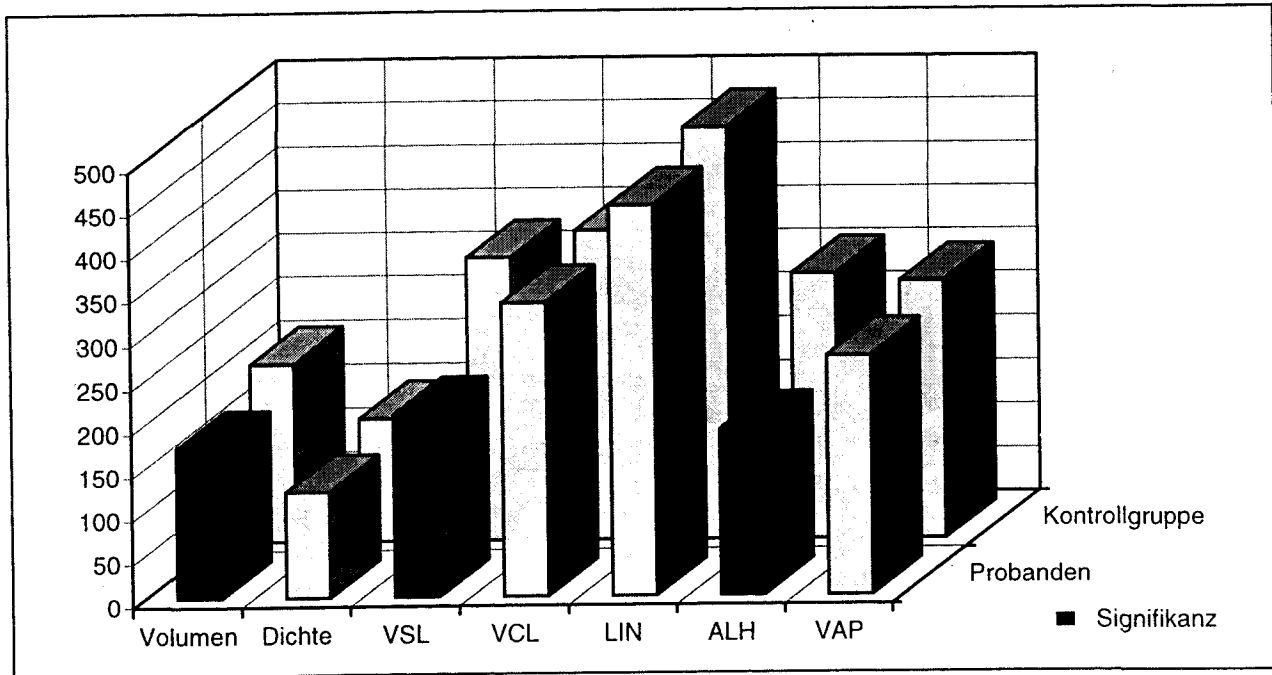


Abb. 3: Vergleich der Spermioigrammergebnisse erhoben mittels computerisierter Imageanalyse (Motion Analysis, Santa Rosa, CA., USA).

Tab. 1: Spermioigrammdaten erhoben mittels computerisierter Imageanalyse (Motion Analysis, Santa Rosa, CA., USA).

SPERMIOGRAMM	Probanden	Kontrollgruppe	Normalwerte	Signifikanz
Testvariable	N=164	N=171		
Volumen	1,73 ml	2,04 ml	> 0,5 ml	P=0,0001
Dichte	12,2 Mill./ml	14,1 Mill./ml	> 25 Mill./ml	n.s.
VSL (Progression)	21,0 mic/s	32,4 mic/s	> 25,0 mic/s	P=0,0001
VCL (Weggeschwindigkeit)	33,6 mic/s	35,4 mic/s	> 40 mic/s	n. s.
LIN (Linearität)	44,8	47,2	> 40	n. s.
ALH (Kopfseitenbewegung)	1,91 mic	3,03 mic	> 3,0 mic	P=0,0001
VAP (durchschn. Wegstrecke)	27,4 mic/s	29,4 mic/s	> 35,0 mic/s	n.s.

4 DISKUSSION

Die Menge der Umweltschadstoffe, die normalerweise auf Männer einwirkt, ist im allgemeinen klein, so daß ihre Wirkung auf die Fertilität möglicherweise zu vernachlässigen ist. Berufsbedingte Anwendungen von bestimmten Substanzen können zu weit höheren Expositionen führen. Jedoch konnte ein direkter Zusammenhang zwischen Art des Stoffes und der Fertilitätsstörung selten erbracht werden. Erschwert wird die Durchführung von Studien durch die wahrscheinlich multifaktorielle Beeinträchtigung der Fortpflanzungsfähigkeit, obwohl Arbeiten nach der Life Table Methode zum Beispiel bei infertilen Paaren keinen Einfluß von Alkohol und Nikotin auf die zu erwartende Fertilität zeigen (3,4). Selbst der direkte Nachweis erhöhter Mengen chlorierter Kohlenwasserstoffe in Follikelflüssigkeit und Seminalplasma ergab keine Korrelation mit den Spermogrammen und der Fertilität (5). In zahlreichen Tierversuchen konnte jedoch bei höherer Exposition die gonadotoxische und allgemein toxische Wirkung vieler Pestizide nachgewiesen werden (8,9,13). Genaue Wirkmechanismen der Schädigung können nur selten nachgewiesen werden (7).

Neben der Dauer (biologische Halbwertszeit) und der Dosis der einwirkenden Noxe scheint auch die spezifische Toxizität eine Rolle zu spielen (10).

Erhebliche Belastungen an Arbeitsplätzen werden durch Blei, Quecksilber, Cadmium und Zink, Schweißrauche sowie Lösungsmittel aus den Gruppen der aromatischen und aliphatischen Kohlenwasserstoffe hervorgerufen, da sie häufig in hohen Konzentrationen auftreten.

Obwohl wir keine Untersuchungen von Schadstoffen und Metabolitengehalten in biologischen Materialien, wie Blut, Harn, Fettgewebe und Ejakulaten durchgeführt haben, lassen unsere erhobenen Daten zwischen beiden Gruppen vermuten, daß bezüglich der Einwirkung allgemeiner Noxen kein Unterschied besteht.

Die spezifische Exposition der Obst- und Weinbauern gegenüber Pflanzenschutz- und Schädlingsbekämpfungsmitteln dürfte der alleinige Grund für die Einschränkung der Fertilität sein. Ergebnisse anderer Arbeitsgruppen führen zu ähnlichen Schlüssen (1,2). In einem zweiten Teil der Studie werden die Paare zur Zeit einer Therapie zugeführt, so daß die Beeinträchtigung der Fortpflanzung mit der notwendigen Therapie korreliert werden kann.

5 LITERATUR

- (1) DONAT, H.; SCHWARZ, I.; MATTHIES, J. (1989): Untersuchungen über den Einfluß von Kohlenwasserstoffverbindungen am Arbeitsplatz auf die männliche Fertilität. *Fertilität* 5, 167-172.
- (2) DONAT, H.; MATTHIES, J.; SCHWARZ, I. (1990): Fertilität bei Exponierten gegenüber Pflanzenschutz- und Schädlingsbekämpfungsmitteln. *Andrologia* 22, 401-407.
- (3) DUNPHY, C.; BARRATT, C. L. R.; COOKE, I. D. (1990): Male alcohol consumption and fecundity in couples attending an infertility clinic. *Andrologia* 23, 219-221.
- (4) DUNPHY, B. C.; BARRATT, C. L. R.; Von TONGELEN, B. P.; COOKE, I. D. (1990): Male cigarette smoking and fecundity in couples attending an infertility clinic. *Andrologia* 23, 223-225.
- (5) ENSSLEN, S. Ch.; RIEDEL, H.-H.; BLÜTHGEN, H.; HEESCHEN, W.; GRILLO, M.; JUNG, H. (1990): Chlorkohlenwasserstoffe in Follikelflüssigkeit und Sperma. *Fertilität* 6, 119-122.
- (6) GLASS, R. I.; LYNESS, R. N.; MENGLE, D. C.; POWELL, K. E.; KAHN, E. (1979): Sperm counts depression in pesticide exposed to dibromochloropropane. *Am J Epidemiol* 109, 346-351.
- (7) GREENWELL, A.; TOMASZEWSKI, K. E.; MELNICK, R. L. (1987): A biochemical basis for 1,2-dibromo-3-chloropropane-induced male infertility: inhibition of sperm mitochondrial electron transport activity. *Toxicol Appl Pharmacol* 91(2), 274-280.

- (8) KAPLANSKI, J.; SHEMI, D.; WAKSMAN, J.; POTASHNIK, G.; SOD-MORIAH, U. A. (1991): The effects of 1,2-dibromo-3-chloropropane (DBCP) on general toxicity and gonadotoxicity in rats. *Andrologia* 23, 363-366.
- (9) LAKKAD, B. C.; NIGAM, S. K.; KARNIK, A. B.; THAKORE, K. N.; ARAVINDU BABU, K.; BHATT, D. K.; KASHYAP, S. K. (1982): Dominant-lethal study of technical-grade hexachlorocyclohexane in Swiss mice. *Mutat Res* 101(4), 315-320.
- (10) OLSEN, G. W., LANHAM, J. M.; BODNER, K. M.; HYLTON, D. B.; BOND, G. G. (1990): Determinants of spermatogenesis recovery among workers exposed to 1,2-dibromo-3-chloropropane. *J Occup Med* 32(10), 979-984.
- (11) POTASHNIK, G.; BEN-ADERET, N.; INSLER, R.; YANAI-INBAR, I.; SOBER, I. (1978): Suppressive effect of 1,2-dibromo-3-chloropropane on human spermatogenesis. *Fertil Steril* 30, 444-447.
- (12) PUSCH, H. (1995): Einflüsse von Noxen, Umwelt und Stress auf die männliche Fertilität. *J Fertil Reprod*, 18-21.
- (13) SHEMI, D.; MARX, Z.; KAPLANSKI, J.; POTASHNIK, G.; SOD-MORIAH, U. A. (1988): Testicular damage development in rats injected with dibromochloropropane (DBCP). *Andrologia* 20, 331-337.
- (14) WHORTON, D.; KRAUSS, R. M.; MARSHAL, S.; MILBY, T. H. (1977): Infertility in male pesticide workers. *Lancet* 2, 1.259-1.261.

UNTERSUCHUNGEN ZUR KONZENTRATION VON ETHINYLÖSTRADIOL UND ÖSTRADIOL IM ABWASSER DER STADT WIEN

Peter Frigo, Christine Lang, J. Huber

Universitätsklinik für Frauenheilkunde, Universität Wien

1 EINLEITUNG

Weltweit wird eine Verminderung der männlichen Zeugungskraft sowie eine Zunahme von hormonabhängigen Tumoren (Brustkrebs, Hodenkrebs) beobachtet: Möglicherweise ist eine der Ursachen für diese Trends die "Verschmutzung" der Umwelt mit Hormonen, respektive hormonähnlichen Substanzen. Grund zu dieser Annahme geben Erscheinungen aus der Tierwelt: So zeigen Alligatoren in der Nähe von Kunststoffabriken (Florida) eine erhöhte Prävalenz von Kryptorchismus (Hodenatrophie) oder männliche Fische in der Nordsee weibliche Laichzeichen.

Wasser als Urquell des Lebens, vor allem aber das Abwasser, war schon immer das Hauptverbreitungsmedium für sehr viele Krankheiten und Seuchen. Ohne reines Wasser gibt es kein gesundes Leben; der Mensch ist praktisch zu hundert Prozent von sauberem Wasser abhängig.

Laut WHO wird das Trinkwasserproblem schon kurz nach der Jahrtausendwende ein großes Problem: Wir Österreicher sind mit reichlichen Trinkwasservorräten gesegnet; doch was geschieht, wenn unser Trinkwasser durch Verunreinigungen untrinkbar wird?

Die Verunreinigungen bestehen nicht nur aus anorganischen Substanzen; organische Substanzen, wie Hormone, dürften ebenfalls eine immer größere Rolle spielen.

2 METHODE

Ziel unserer Studie war die Erfassung von Ethinylöstradiol- sowie Östradiolkonzentrationen im Abwasser der Stadt Wien.

Hypothese: ca. 70 % des in der Pille enthaltenen Ethinylöstradiols werden vom weiblichen Organismus nicht resorbiert und durch Harn und Faeces ausgeschieden. Da sich die höchsten Konzentrationen im Morgenharn finden wurden Abwasserproben morgens entnommen.

Die Probenentnahme erfolgte an 3 aufeinanderfolgenden Tagen in der Hauptkläranlage der Stadt Wien (EBS-Entsorgungsbetriebe Simmering, Haideggerstraße 6, 1110 Wien) sowohl vom Zu- wie vom Ablauf. Die Abwasserproben wurden jeweils 9 und 10.00 Uhr vormittags entnommen und sofort tiefgefroren. Um diese Zeit erreicht der Morgenharn von 7.00 bis 7.30 die Kläranlage.

Die Konzentrationsmessungen von Östradiol wurde mittels Enymun-Test, Boehringer Mannheim, Intra Assay Variance 5,2 %, Inter Assay Variance 6,8 % (116 pg/ml) durchgeführt.

Die Konzentrationen von Ethinylestradiol wurden in Berlin von der Fa. Schering mittels Radioimmunoassay bestimmt. An dieser Stelle möchten wir der Firma Schering für die Unterstützung danken.

3 ERGEBNISSE

Die Analyse zeigte eine durchschnittliche Konzentration von $24,33 + 2,15$ pg/ml Ethinylöstradiol (22,2-26,5), sowie $81,89 + 2,99$ pg/ml Östradiol (79,2-86,2) im Zulauf, während nach Klärung (Ablauf) keine Hormonkonzentrationen mehr meßbar waren.

Unsere Ergebnisse zeigen die Belastung des Abwassers mit Hormonen: in wieweit hier hormonähnliche Substanzen mitbestimmt wurden läßt sich auf analytischem Weg kaum nachweisen. Substanzen wie Endosulfan, Nonylphenol, Bisphenol-A oder DDE haben östrogenähnliche Wirkungen.

4 DISKUSSION

Die Belastung der Umwelt mit Östrogenen und Östrogenähnlichen i. e. Östrogenaktiven Substanzen wurde durch unsere Studie unterstrichen. Abnehmende Fertilitätsraten und Zunahme von hormonabhängigen Tumoren könnten darin eine ihrer Ursachen haben.

Die Belastung unserer Umwelt mit diesen Substanzen, in Wien, wie überhaupt in ganz Österreich, wurde bis dato nicht untersucht. Zwar wird die Wasserqualität auf anorganische Verunreinigungen untersucht; daß das Wasser mit Hormonen ebenfalls belastet ist, ist ein relativ neues Wissen.

Hauptdiskussionspunkt unserer Studie ist deren Bedeutung für den Menschen: Dies ist einfach erklärt: Natürlich handelt es sich bei dem untersuchten Wasser um Abwasser und dieses wird sicher nicht getrunken; Werte über Trinkwasser liegen bis jetzt nicht vor: Doch gibt es jetzt schon einige Donaubrunnen, die das Uferfiltrat der Donau direkt in das Trinkwassersystem leiten. Weiters stellt sich die Frage, wieviel des österreichischen Abwassers tatsächlich geklärt wird, respektiv wieviel ungeklärtes Abwasser jetzt schon in die Flüsse kommt. Von der Belastung durch die Nachbarländer, speziell des ehemaligen Ostblockes, liegen ebenfalls nur mangelnde bis gar keine Werte vor.

Ob Östrogene bereits in der Nahrungskette vorhanden sind und welche Auswirkungen dies zur Folge haben könnte, ist Gegenstand internationaler Forschung.

5 LITERATUR

- FIELD, B.; SELUB, M.; HUGHES, C. L. (1990): Reproductive effects of environmental agents, *Semin Reprod Endocrinol*; 8:44-54.
- COLBORN, T. & CLEMENT, C. (eds) (1992): Chemically-induced alterations in sexual and functional development: the wildlife/human connection. Princeton: Princeton Scientific Publishing.
- McLACHLAN, J. A. (ed.) (1985): Estrogens in the environment II. Amsterdam: Elsevier.
- GINSBURG, S.; OKOLO, G.; PRELEVIC, P. (1994): Residence in the London area and sperm density J. Hardiman Division of Clinical Pharmacology, Royal Free Hospital School of Medicine. London NW 3 2QG, UK Vol 343. January 22, 1994.
- SHARPE, R. M. & SKAKKEBAEK, N. E. (1993): Are oestrogens involved in falling sperm counts and disorders of the male reproductive tract? Vol. 341: May 29, 1993.

ENDOKRINWIRKSAME SUBSTANZEN IN DER AQUATISCHEN UMWELT

P. Stahlschmidt-Allner*, B. Allner*, J. Römbke**, T. Knacker**

*Hessische Landesanstalt für Umwelt, Wiesbaden

**ECT Oekotoxikologie, Flörsheim

1 EINLEITUNG

In jüngster Zeit wird zunehmend die Sorge geäußert, daß Umweltchemikalien die hormonelle Kontrolle der Fortpflanzung von Mensch und Tier beeinträchtigen. Insbesondere die verminderte Fertilität von Männern und Mißbildungen und Erkrankungen der männlichen Geschlechtsorgane werden mit endokrin wirksamen Xenobiotika in Zusammenhang gebracht (THIERFELDER et al., 1995). Als weitere Indizien für die Präsenz von Umweltgiften, die selektiv auf das Hormonsystem wirken, gelten Fehlentwicklungen der Geschlechtsorgane und Verschiebungen des Geschlechterverhältnisses bei wildlebenden Tieren. Freilandbeobachtungen von toxischen Wirkungen auf die endokrine Kontrolle der Fortpflanzung von Tieren verschiedener Taxa zeigen, daß vornehmlich die aquatischen Lebensräume betroffen sind. Aber auch Organismen, die in erster Linie via Nahrungskette den Schadstoffbelastungen des Wassers ausgesetzt sind (Flußseeschwalben, Seehunde), weisen Beeinträchtigungen des endokrinen Systems auf (LEISEWITZ, 1996).

2 DAS ENDOKRINE SYSTEM DER WIRBELTIERE

Um die Auswirkungen endokrintoxischer Substanzen richtig einschätzen zu können, ist es wichtig, sich die Besonderheiten des endokrinen Systems der Wirbeltiere zu vergegenwärtigen.

Exogene Reize wie Tageslänge, Licht, Temperatur, Pheromone, Verhalten von Artgenossen aber auch endogene Stimuli, gemeinhin "innere Uhr" genannt, werden zentralnervös verarbeitet und lösen eine Kaskade verschiedener, voneinander abhängige physiologische Prozesse aus. Definierte Reize bewirken im Hypothalamus die Ausschüttung von Releasing Hormonen. Diese wiederum wirken auf die Hypophyse und lösen die Freisetzung von Peptiden, den sogenannten glandotropen Hormonen (z. B. schilddrüsenstimulierendes Hormon, TSH; gonadotrope Hormone, GTH) aus. Diese hypophysären Hormone steuern unter anderem die Hormonproduktion der Gonaden, der Schilddrüse oder der Nebennieren. Erst die Botenstoffe, die von den genannten inneren Drüsen, (z. B. Testosteron von den Hoden oder Thyroxin von der Schilddrüse) sezerniert werden, wirken dann auf die Zielorgane (z. B. Testosteron: Ausbildung sekundärer männlicher Geschlechtsorgane; Thyroxin: Rückbildung des Kaulquappenschwanzes der Anuren) (REINBOTH, 1980).

Die wesentliche Funktion des endokrinen Systems ist, eine Vielzahl von Reizen unterschiedlicher Natur in chemische Botschaften, die Hormone, umzuwandeln. Am Ende der hormonellen Wirkkette steht oft die Expression der jeweils adäquaten Gene. Das endokrine System ist ein wesentliches Instrument der zeitlichen Koordination der Genaktivierung (z. B. Induktion von Laichzyklen oder Geschlechtsreife). Neuerdings werden aber auch von Steroidhormonen sogenannte nichtgenomische Hormonwirkungen beschrieben (De BOLD & FREYE, 1994).

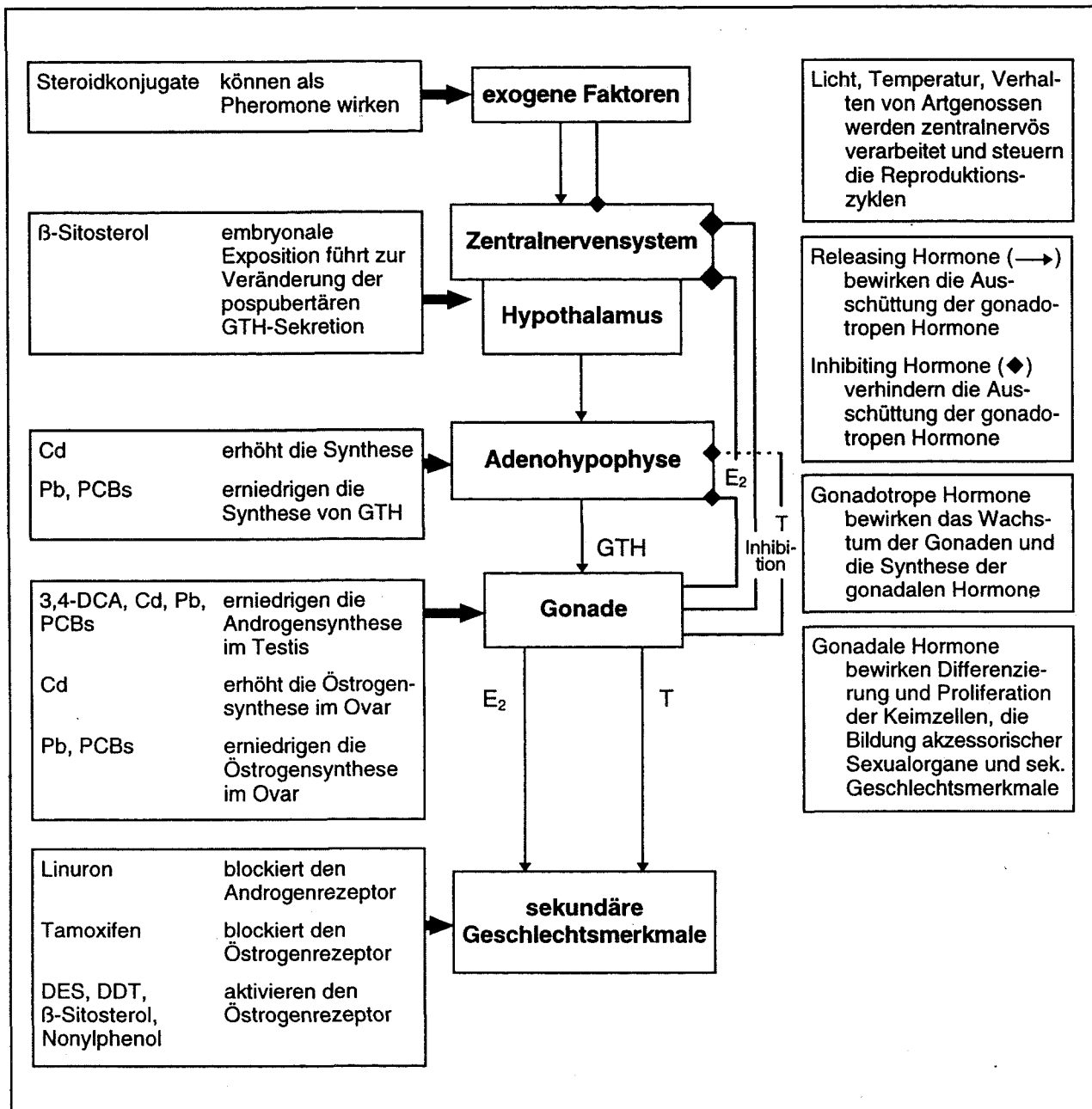


Abb. 1: Fremdstoffwirkungen auf das endokrine System der Wirbeltiere; E₂: Östradiol, T: Testosteron.

Hormonell gesteuerte Prozesse sind meist langfristig, tiefgreifend und irreversibel (z. B. Metamorphose, Geschlechtsdifferenzierung). Hormone wirken in sehr geringen Konzentrationen.

Bei der Mehrzahl der sogenannten endokrinen Effekte von Fremdstoffen, die bisher beschrieben wurden, handelt es sich um Wirkungen auf die Reproduktion. Die endokrine Kontrolle der Fortpflanzung ist in Abb. 1 schematisch dargestellt. Die Abbildung zeigt, daß Fremdstoffe prinzipiell auf allen Ebenen des hierarchisch organisierten endokrinen Systems Beeinträchtigungen der hormonellen Koordination hervorrufen können.

2.1 Endokrinotoxische Substanzen bei Wirbeltieren, Eintragspfade und Wirkmechanismen

2.1.1 Arzneimittelrückstände

Eine Reihe endokrinwirksamer Ausscheidungsprodukte von Pharmaka wird in Kläranlagen nicht abgebaut und gelangt in die Oberflächengewässer (STUMPF et al., 1996, RÖMBKE et al., 1996). Beim bestimmungsgemäßen Gebrauch von Pharmaka sind nur definierte Personengruppen (z. B. Patienten) temporär exponiert. Im Oberflächengewässer sind alle Entwicklungsstadien, insbesondere auch Embryonen und Larven von Nichtzielorganismen permanent mit ihrer gesamten Körperoberfläche dem Wirkstoff ausgesetzt.

2.1.1.1 Ethinylöstradiol

Die Wirkung von Pharmaka auf aquatische Nichtzielorganismen soll am Beispiel des synthetischen Steroids Ethinylöstradiol (EE_2), das als östrogene Komponente von oralen Kontrazeptiva eingesetzt wird, aufgezeigt werden (Abb. 2).

Natürliche Östrogene wie z. B. Östradiol eignen sich nicht zur oralen Kontrazeption, da diese Substanzen im Körper sehr schnell zum Östron bzw. Östriol metabolisiert und damit inaktiviert werden. Die Ethinylierung am C_{17} des Steroidgrundgerüsts unterbindet die Metabolisierung und verlängert damit die Hormonwirkung. Ethinylöstradiol wird im Wirbeltierkörper vornehmlich glucuronidiert (MUTSCHLER, 1991). EE_2 -Glucuronid wird nur zum Teil ausgeschieden. Je nach Zusammensetzung und Zustand der Darmflora wird das EE_2 -Glucuronid im Darm in unterschiedlichem Ausmaß hydrolysiert. Das freie EE_2 wird erneut über den enterohepatischen Kreislauf aufgenommen (ADLERCREUTZ et al., 1984).

Die Ethinylierung des Östradiolmoleküls verhindert aber nicht nur die Metabolisierung und damit vermutlich auch einen raschen Bioabbau, sie vermindert auch die Affinität des Hormons zu steroidbindenden Proteinen (KATZENELLENBOGEN et al., 1980). Den steroidbindenden Enzymen kommt aber eine besondere Funktion bei der sexuellen Prägung des Gehirns zu (Abb. 3).

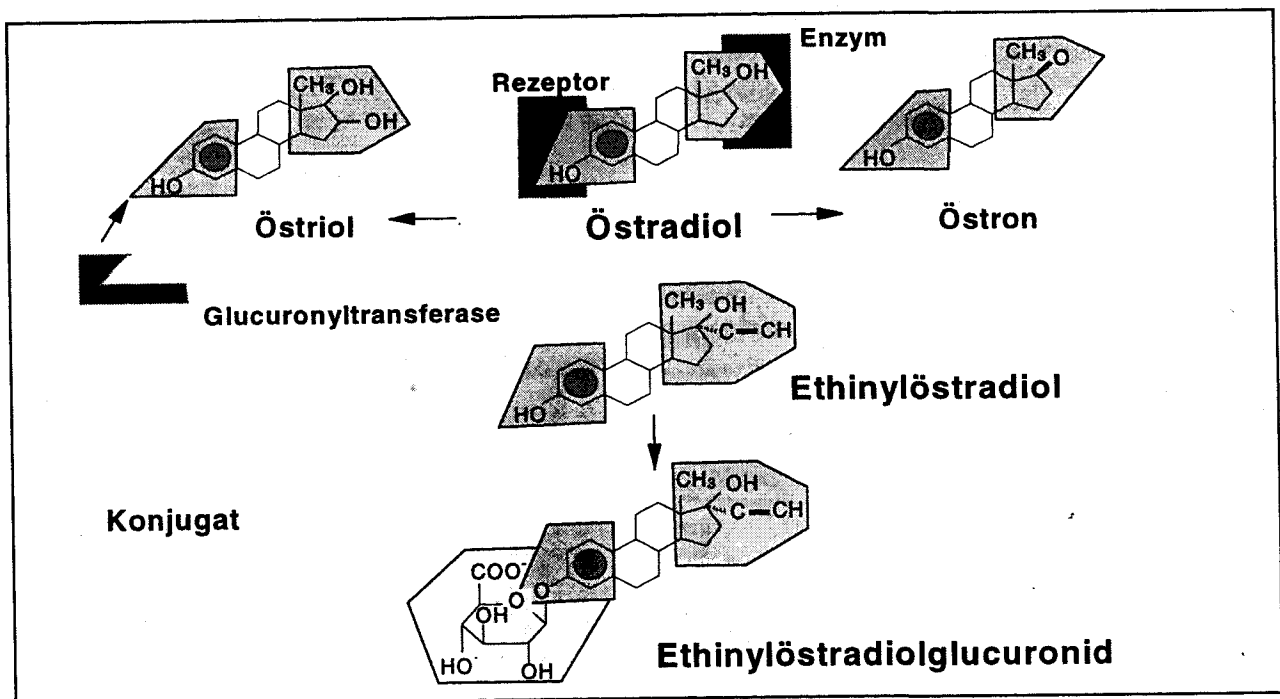


Abb. 2: 17β -Östradiol wird durch Hydroxylierung am C_{16} oder Oxidation an der Hydroxygruppe an C_{17} inaktiviert. Die C_{17} -Ethinylgruppe behindert sowohl die Anlagerung metabolisierender als auch steroidbindender Enzyme.

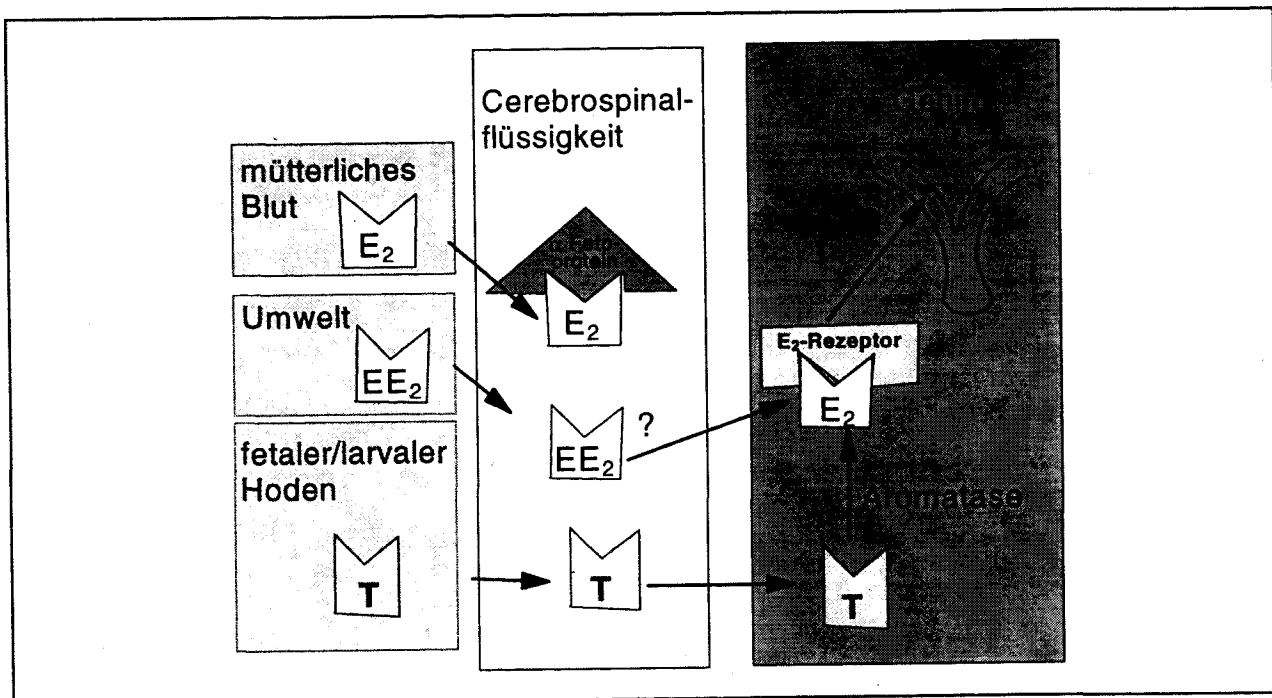


Abb.3: Imprinting bei Wirbeltieren, Erläuterungen siehe Text. E₂: 17β-Östradiol, T: Testosteron, EE₂: Ethinylöstradiol, α-Fetoprotein als Beispiel für ein steroidbindendes Protein bei Säugern.

Während der Fötalentwicklung der Wirbeltiere bewirkt Testosteron, das vom fötalen Testis gebildet wird, die sexuelle (männliche) Prägung des Gehirns. Testosteron gelangt über das Blut zum Zentralnervensystem. Im Gehirn wird Testosteron von der neuronalen Aromatase, einem P450 Enzym, zu Östradiol konvertiert. Östradiol ist dann die eigentlich wirksame Substanz, die das "Imprinting" also die geschlechtsspezifische Determination bestimmter neuronaler Zentren auslöst. In der Zerebrospinalflüssigkeit sind östradiolbindende Proteine in sehr hohen Konzentrationen vorhanden. Diese Proteine verhindern, daß exogenes Östradiol, das z. B. vom fötalen/larvalen Ovar gebildet wird oder materneller Herkunft ist, die Hirnschranke passiert. So ist gewährleistet, daß diese prägende Wirkung auf das Zentralnervensystem einzig vom fötalen/larvalen Testis ausgeht (REINBOTH, 1980; McEWEN, 1975). Es ist denkbar, daß synthetische Östrogene wegen ihrer stark verminderten Affinität zu steroidbindenden Proteinen nicht in der Zerebrospinalflüssigkeit abgefangen werden und ins Gehirn gelangen. Es besteht also das Risiko, daß synthetische Östrogene in weiblichen Föten/Larven eine sexuell männliche neuronale Prägung auslösen. Bei Säugern ist dieser Determinationsvorgang auf bestimmte Phasen der Fötalentwicklung beschränkt.

Bei Knochenfischen sind viele ambisexuelle Spezies bekannt, deren Individuen sich zunächst als Männchen fortpflanzen, und die dann einen Geschlechtswechsel zum Weibchen erfahren oder umgekehrt (REINBOTH, 1980; STAHLSCHEIDT-ALLNER & REINBOTH, 1991). Aufgrund dieser Plastizität der Sexualdetermination ist es denkbar, daß die männliche Prägung des Teleostergehirns eine andauernde neuronale Testosteronkonversion zu Östradiol erfordert. Die Aktivität der neuronalen Aromatase der Knochenfische ist in der Tat zeitlebens sehr hoch. Es ist davon auszugehen, daß der neuronalen Östrogensynthese darüber hinaus noch weitere Funktionen bei der Kontrolle der Fortpflanzung der Teleostee zukommt (CALLARD & GELINAS, 1991). Xenoöstrogene können bei Fischen also erhebliche, subletale, neuroendokrine Wirkungen verursachen, die experimentell nur schwer faßbar sind.

Auch im adulten, funktionell männlichen Nichtzielorganismus kann Ethinylöstradiol in sehr niedrigen Dosen die Fertilität beeinflussen. Unter physiologischen Bedingungen sezerniert der Wirbeltierhoden Testosteron, das nach dem Transport über die Blutbahn an Androgenrezeptoren der Zielorgane bindet. Freies Testosteron wird in den Leydigzellen des Hodens zu Östradiol aromatisiert. Im Zentralnervensystem induziert Östradiol einen Testosteronüberschuß und

bewirkt über Rückkopplungsmechanismen eine verminderte Androgensynthese. Exogene Östrogene können also einen Testosteronüberschuß vortäuschen. Eine derartige antiandrogene Wirkung kann theoretisch auch von exogenem Östradiol ausgelöst werden. Da natürliche Sexualhormone in der aquatischen Umwelt sehr rasch biologisch abgebaut werden (NORPORTH et al., 1973; TABAK et al., 1981), ist eine antiandrogene Wirkung in erster Linie von dem wesentlich stabileren synthetischen Ethinylöstradiol zu erwarten.

Eine weitere Gruppe von synthetischen meist ethinylierten Steroiden, die Gestagene, gelangt gleichfalls durch den Gebrauch von Hormonpräparaten in die Umwelt. Die bisher durchgeführten Versuche zum Bioabbau dieser Hormone lassen eine relativ gute biologische Abbaubarkeit erwarten (NORPORTH et al., 1973; TABAK et al. 1981).

Eine abschließende Bewertung des Umweltrisikos von synthetischen Steroiden ist derzeit noch nicht möglich, da die bisher vorliegenden Analysenwerte stark divergieren. In einer schon länger zurückliegenden Untersuchung von TABAK et al. (1981) wurden im Abfluß von Kläranlagen Ethinylöstradiolwerte von ca. 800 ng/l ermittelt. Bei dieser Untersuchung wurden die organischen Wasserinhaltsstoffe vor der Analyse einer sauren Hydrolyse unterworfen. Auf diese Weise werden eventuell vorhandene Steroidglucuronide in freie Steroide überführt und bei der Bestimmung berücksichtigt. Bei den anderen bislang vorliegenden Messungen wurden lediglich freie Steroide erfaßt. Freies Ethinylöstradiol wurde in Konzentrationen unter 20 ng/l nachgewiesen (AHERENE & BRIGGS; 1989, KALBFUSS a/b, 1995).

Es sei hier darauf hingewiesen, daß neuere Untersuchungen zum Steroidtiter von Kindern ergaben, daß der Östradiolgehalt im Blut von Mädchen bei 0,6 ng/l liegt, während bei Knaben nur 0,08 ng/l Östradiol nachweisbar waren. Dieser Unterschied der Östradiolkonzentration von einer Größenordnung läßt vermuten, daß Östradiol auch im kindlichen Organismus eine physiologische Funktion bei der Kontrolle von Wachstum und Entwicklung hat (KLEIN et al., 1994). Aus diesen Daten ist abzuleiten, daß im Trinkwasser Ethinylöstradiolkonzentrationen im Nanogramm-Bereich ein Risiko darstellen.

2.1.1.2 Peroxisomenproliferierende Lipidsenker

Eine weitere Klasse von Pharmaka, deren Vertreter in jüngster Zeit in erstaunlich hohen Konzentrationen im Wasser nachgewiesen wurden, sind Lipidsenker mit peroxisomenproliferierender Aktivität. Der bekannteste Wirkstoff dieser Gruppe ist Clofibrat, ein Ethylsäureester der Clofibrinsäure (Abb. 4). Die Säure ist die eigentlich wirksame Substanz, die jedoch erst durch Hydrolyse im Organismus freigesetzt und ausgeschieden wird (MUTSCHLER, 1991).

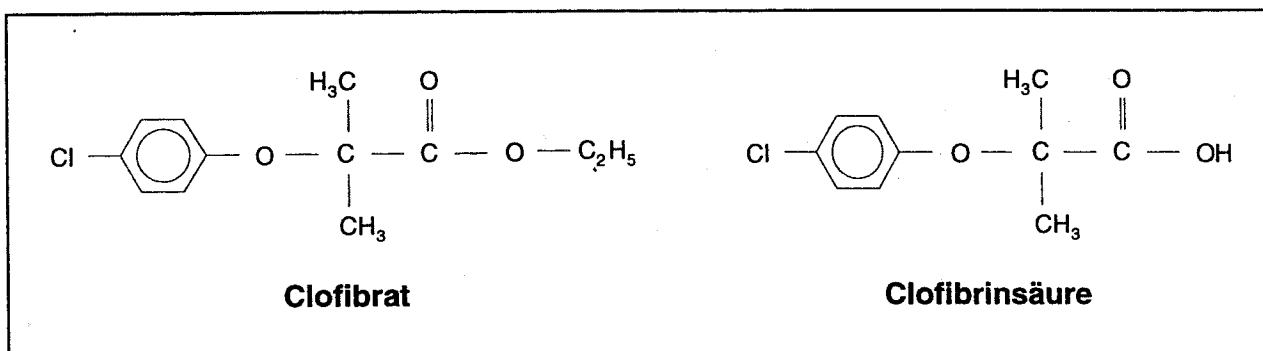


Abb.4: Strukturformel des Lipidsenkers Clofibrat und der Clofibrinsäure.

Clofibrinsäure bindet an ein nukleares Protein, das aufgrund seiner biochemischen Eigenschaften als Steroidrezeptor (Peroxisomen-Proliferatoren Aktivierter Rezeptor, PPAR) gilt. Bisher sind jedoch weder die natürlichen Liganden dieses Rezeptors eindeutig identifiziert noch die Gene bekannt, die von diesem Protein aktiviert werden (GÖTTLICHER et al., 1992).

Clofibrinsäure wurde im Oberflächengewässern in Konzentrationen von 7-180 ng/l (STUMPF et al., 1996) und im Gehirn von Fischen in Konzentrationen von mehr als 5,2 µg/kg (KALBFUSS a/b, 1995) nachgewiesen. Es ist also von einem erheblichen Bioakkumulationspotential dieser Substanz auszugehen. Es stellt sich die Frage, welches ökotoxikologische Risiko von einem Fremdstoff ausgeht, der auf die Proliferation eines Zellorganells und vermutlich des Lipidstoffwechsels der Eukaryontenzelle Einfluß nimmt.

Eine reproduktionstoxische Wirkung von Clofibrat fanden CSABA et al. (1995) bei Experimenten mit Ratten. Einmalige perinatale Gaben von Clofibrat führten zu irreversiblen Veränderungen des Sexualverhaltens des adulten Individuums. Die Autoren dieser Arbeit gehen davon aus, daß die Homologie zwischen dem PPAR und den neuronalen Östrogenrezeptoren so hoch ist, daß beide Rezeptortypen während früher Entwicklungsstadien vom gleichen Liganden aktiviert werden können. Sollten sich diese Befunde bestätigen, so stellt das Vorkommen dieser Substanzklasse in Oberflächengewässern ein erhebliches Risiko dar.

2.1.2 Pestizide mit endokriner Wirkung

Anhand eines Beispiels aus der Substanzgruppe der Pestizide soll dargelegt werden, daß Fremdstoffe auch antiandrogene Wirkung haben können.

Viele Phenylharnstoffderivate werden im Boden oder auch im Oberflächengewässer zu 3,4-Dichloranilin (3,4-DCA) abgebaut. 3,4-DCA entsteht nicht nur beim Bioabbau von Phenylharnstoffpestiziden, sondern es wird auch in den Kläranlagen chemischer Anlagen aus einer Reihe von Abfallprodukten der chemischen Industrie gebildet.

3,4-DCA wird von Fischen rasch aufgenommen und zu 3,4-Dichloracetanilid (3,4-DCAc) metabolisiert. Exposition gegenüber 3,4-DCA bewirkt beim Stichling eine verminderte Androgensynthese. Androgenabhängige sekundäre Geschlechtsmerkmale, wie z. B. Brutfärbung, werden zurückgebildet. Das Balzverhalten wird bei vormals aktiven Männchen unterdrückt (ALLNER, 1996). Vergleicht man den Metaboliten 3,4-DCAc mit Flutamid, einem pharmakologisch gut untersuchten Antiandrogen, so ist eine Strukturanalogie zwischen beiden Substanzen evident (Abb. 5). Aufgrund der Ähnlichkeit zwischen beiden Molekülen ist davon auszugehen, daß metabolisiertes 3,4-DCA ebenso wie Flutamid an den Androgenrezeptor bindet und diesen blockiert.

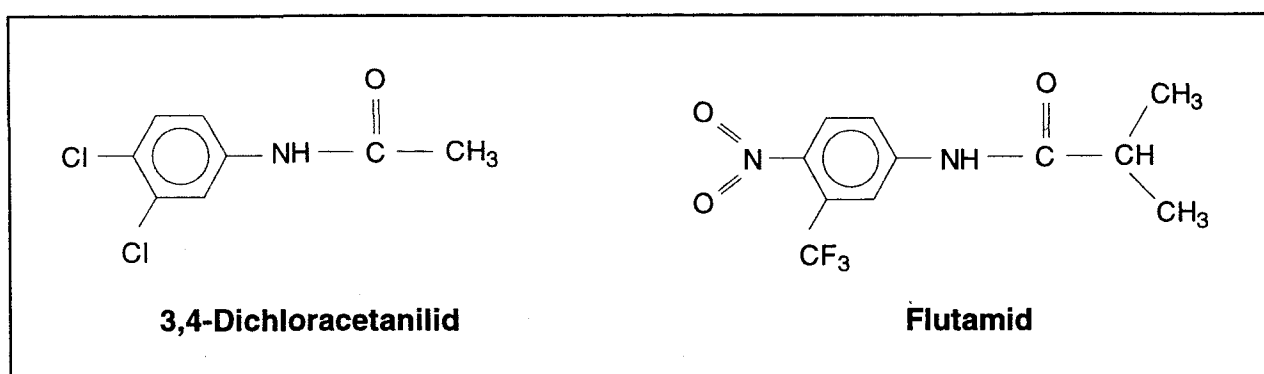


Abb. 5: Strukturanalogie zwischen 3,4-Dichloracetanilid und dem nichtsteroidalen Antiandrogen Flutamid (Erläuterungen siehe im Text).

2.1.3 Industriechemikalien mit endokriner Wirkung

Beispiele für Industriechemikalien mit endokriner Wirkung sind Nonylphenol und niedrig ethoxylierte Abbauprodukte von Alkylphenolethoxylaten. Alkylphenolderivate binden nicht nur an den peripheren Östrogenrezeptor, sondern sie aktivieren diesen auch und lösen somit die Expression östrogenkontrollierter Gene aus (SOTO et al., 1992; JOBLING & SUMPTER, 1993). Die Affinität dieser Xenobiotika zum Rezeptor ist sehr viel niedriger als die des natürlichen Liganden Östradiol. Nonylphenol wird jedoch in aquatischen Organismen in so hohem Maße angereichert (EKELUND et al., 1990), daß bei umweltrelevanten Konzentrationen (0,1-15 µg/l, ZELLNER & KALBFUSS, 1995) mit Wirkungen auf die peripheren Östrogenrezeptoren zu rechnen ist. Über die Affinität von Nonylphenolen zu neuronalen Östrogenrezeptoren ist auf der Basis der bisherigen Daten keine Aussage möglich.

2.1.4 Pflanzeninhaltsstoffe mit endokriner Wirkung

Als endokrinwirksame Komponente von Papiermühlenabwässern in Kanada konnte unlängst ein pflanzliches Sterol, das β -Sitosterol, identifiziert werden (Van der KRAAK et al., 1995). Diese schwach östrogenwirksame Substanz scheint über verschiedene im Detail noch nicht verstandene Mechanismen mit dem Östrogenmetabolismus des Goldfisches zu interferieren. Papiermühlenabwässer in Florida haben eine androgene Wirkung. So entwickeln Weibchen lebendgebärender Zahnkarpfen der Gattung *Gambusia* männliche Begattungsorgane. Es konnte gezeigt werden, daß diese androgenen Effekte erst nach Biotransformation der Sterolfracht der Abwässer auftreten (DAVIS & BORTONE, 1992).

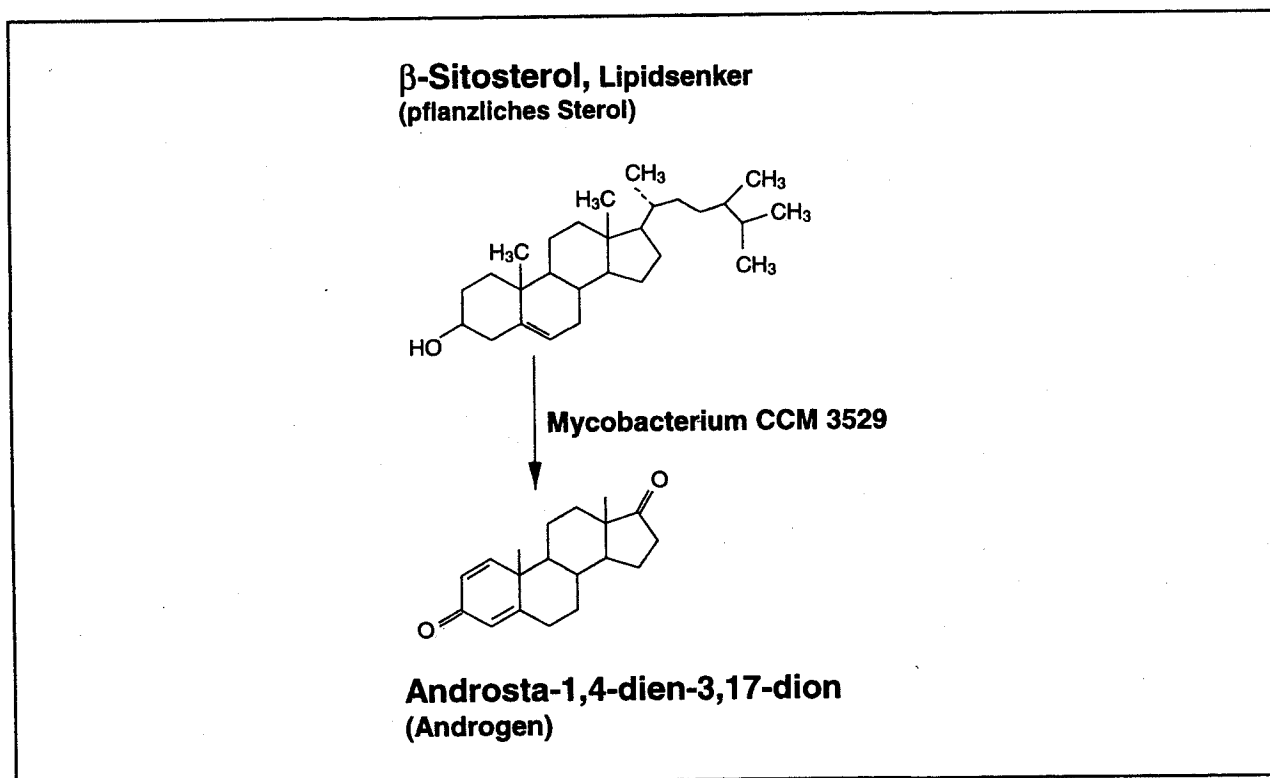


Abb. 6: Biotransformation von β -Sitosterol (Erläuterungen siehe im Text).

Das β -Sitosterol dient als Ausgangssubstanz bei der biotechnologischen Produktion von Androgenen mit *Mycobacterium* CCM 3529. Es ist anzunehmen, daß Sterole aus Papiermühlenabwasser bei den in Florida gegebenen Bedingungen zu Androgenen biotransformiert werden.

In Abfällen der Fettindustrie sind Sterole gleichfalls in hohen Konzentrationen vorhanden (PROTIVA et al. 1984). Als lipidsenkendes Parmakon wird β -Sitosterol in Tagesdosen bis zu 10 g verwendet (MUTSCHLER, 1991). Daten über die Belastung der Oberflächengewässer mit endokrinwirksamen Sterolderivaten liegen bisher nicht vor.

3 ENDOKRINTOXISCHE WIRKUNGEN BEI INVERTEBRATEN

Zur Frage nach der Wirkung von Fremdstoffen auf aquatische Invertebraten liegen bislang nur für zwei Taxa verwertbare Daten vor. In sehr umfassenden Studien konnten OEHL-MANN et al. (1996) aufzeigen, daß Tributylzinn schon in Spuren bei getrenntgeschlechtlichen Schnecken die Differenzierung männlicher Organe in genetisch weiblichen Organismen (Imposex) auslöst. Das Ausmaß der Vermännlichung ist so hoch, daß die Weibchen schon nach kurzer Exposition gegenüber TBT nicht mehr fortpflanzungsfähig sind. TBT hemmt bei der Schnecke die Aromatisierung von Testosteron zu Östradiol. In die Oberflächengewässer wird TBT als biocide Komponente von Bootsanstrichen eingetragen.

Bei Seesternen konnte Den BESTEN (1991a/b) zeigen, daß hohe Cadmium- und PCB-Belastungen mit Veränderungen des Hormonstoffwechsels korrelieren. Diese Substanzen beeinträchtigen die Oogenese, die sich dann als Schaden bei der Embryonalentwicklung manifestieren. Als Wirkmechanismus wird angenommen, daß die mischfunktionellen Oxidasen, die zugleich am Metabolismus von Steroiden wie auch von PCB beteiligt sind, steroidale Sexualhormone nicht mehr mit der für den natürlichen Reproduktionszyklus erforderlichen Aktivität umsetzen.

Abgesehen von Schnecken und Seesternen sind steroidale Sexualhormone, die denen der Vertebraten weitgehend entsprechen, noch für andere Invertebratentaxa (Muscheln: VARAKSINA et al., 1992, Krebse: KANAZAWA, 1979) nachgewiesen. Es konnte auch gezeigt werden, daß diese Hormone die Gametogenese beeinflussen. Es liegen jedoch nur sehr wenige Erkenntnisse darüber vor, wie die Hormonausschüttung bei Invertebraten kontrolliert wird, d. h., ob und über welche Mechanismen die endokrinen Drüsen mit dem Nervensystem gekoppelt sind.

Auch über die Rezeptoren der steroidalen Sexualhormone der Invertebraten liegen keine Erkenntnisse vor. In Seeanemonen konnte ein Glycoproteinrezeptor nachgewiesen werden, der Homologie zum GTH-Rezeptor der Säuger aufweist (NOTHACKER et al., 1993). Die biochemischen Komponenten des Hormonsystems sind demnach stammesgeschichtlich sehr alt. Diese Befunde lassen jedoch nicht den Schluß zu, daß Invertebraten-Proteine, die eine Homologie zu Hormonrezeptoren der Vertebraten aufweisen, auch endokrine Funktionen haben.

4 FAZIT

In Anbetracht der Bedeutung, welche Invertebraten für aquatische Ökosysteme haben, besteht im Sinne eines vorbeugenden Naturschutzes die Notwendigkeit, auch für diese Organismen Bioindikatoren zur Erkennung subletaler, endokrintoxischer Fremdstoffwirkungen zu finden.

Zur langfristigen Sicherstellung der Trinkwasserressourcen und zum Schutz der humoralen Koordination der menschlichen Entwicklung und der Fertilität, ist in Anbetracht der niedrigen Wirkschwellen von endokrintoxischen Fremdstoffen, jedwede Kontamination der Oberflächengewässer mit endokrinwirksamen Xenobiotika zu vermeiden. Die Entwicklung von Methoden zum Nachweis endokriner Wirkungen auf die verschiedenen Komponenten des endokrinen Systems (Abb. 1) ist dringend erforderlich.

5 LITERATURVERZEICHNIS

- ADLERCREUTZ, H.; PULKKINEN, M. O.; HAMALAINEN, E. K.; KORPELA, J. T. (1984): Studies on the role of intestinal bacteria in metabolism of synthetic and natural steroid hormones. *J-Steroid-Biochem.* 1984; 20(1), 217-29.
- AHERNE, G. W. & BRIGGS, R. (1989): The relevance of the presence of certain synthetic steroids in the aquatic environment. *J. Pharm. Pharmacol.*, 41(10), 735-6.
- ALLNER, B. (1996): Effects of endocrine active substances on fish, exemplified by the effect of 3,4-dichloroaniline on the androgen metabolism in the stickleback (*Gasterosteus aculeatus* L.). UBA Texte: 3/96, 101-110.
- BRECKENRIDGE, A. M.; BACK, D. J.; CROSS, K.; CRAWFORD, F.; MACIVER, M.; L'E, O. M.; ROWE, P. H.; SMITH, E. (1980): Influence of environmental chemicals on drug therapy in humans – Studies with contraceptive steroids. *Ciba Found. Symp.* (1980), 76 (*Environ. Chem., Enzyme Funct. Hum. Dis.*), 289-306.
- CALLARD, G. V. & GELINAS, D. (1991): Intracellular and neuroanatomic location of aromatase and androgen receptors in goldfish (*carassius auratus*) brain: basis for functional interactions. Proceedings of the fourth international symposium on the reproductive physiology of fish. SCOTT, A. P.; SUMPTER, J. P.; KIME, D. E.; ROLFE, N. S. (eds), University of East Anglia, Norwich, U.K. 7-12 July 1991, 218-223.
- CALLARD, G. V.; PETRO, Z.; RYAN, K. J.; CLAIBORNE, J.; B. (1981): Estrogen synthesis in vitro and in vivo in the brain of a marine teleost (*Myoxocephalus*). *Gen. Comp. Endocrinol.* 43(2), 243-55.
- CSABA, G.; INCEZEFI-GONDA, A.; KARABELYOS, C. S.; PAP, E. (1995): Hormonal imprinting: Neonatal treatment of rats with peroxisome proliferator clofibrate irreversibly affects sexual behavior. *Physiol. Behav.* 58, 1203-7.
- DAVIS, W. P. & BORTONE, S. A. (1992): Effects of kraft mill effluents on the sexuality of fishes: An environmental early warning? In advances in modern environmental toxicology, Vol. XXI, Chemically induced alterations in sexual and functional developments. The wildlife/human connection. (COLBORN, T. & CLEMENT, C. eds) Princeton Scientific Publishing Co., Inc., 113-127.
- De BOLD, J. F. & FREYE, C. A. (1994): Genomic and non-genomic actions of progesterone in the control of female hamster behavior. *Hormones and Behavior*, 28: 445-453.
- a) Den BESTEN, P. J.; ELENBAAS, J. M. L.; MAAS, J. R.; DIELEMAN, S. J.; HERWIG, H. J.; VOOGT, P. A. (1991): Effects of cadmium and polychlorinated biphenyls (Clophen A50) on steroid metabolism and cytochrome P-450 monooxygenase system in the sea star *Asterias rubens* L. *Aquat. Toxicol.* (1991), 20(1-2), 95-109.
- b) Den BESTEN, P. J.; MAAS, J. R.; LIVINGSTONE, D. R.; ZANDEE, D. I. & VOOGT, P. A. (1991): Interference of benzo[a]pyrene with cytochrome P 450-mediated steroid metabolism in pyloric caeca microsomes of the sea star *Asterias rubens* L. *Comp. Biochem. Physiol., C: Comp. Pharmacol. Toxicol.* (1991), 100C(1-2), 165-8.
- EKELUND, R.; BERGMAN, A.; GRANMO, A.; BERGGREN, M. (1990): Bioaccumulation of 4-nonylphenol in marine animals—a re-evaluation. *Environ. Pollut.*, 64(2), 107-20.
- GELINAS, D.; CORINA, K.; CALLARD, G. V. (1991): Immunocytochemical and biochemical localization of aromatase in the goldfish (*carassius auratus*) retina and central visual pathways. Proceedings of the fourth international symposium on the reproductive physiology of fish. SCOTT, A. P.; SUMPTER, J. P.; KIME, D. E.; ROLFE, N. S. (eds), University of East Anglia, Norwich, U.K., 7-12 July 1991, 231.
- GÖTTLICHER, M.; WIDMARK, E.; LI, QIAO; GUSTAFSSON, J. A., (1992): Fatty acids activate a chimera of the clofibrate acid-activated receptor and the glucocorticoid receptor. *English Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 89(10), 4.653-7.
- GUILLETTE, L. J.; GROSS, T. S.; MASSON, G. R.; MATTER, J. 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. *Env. Health Perspect.*, 102, 680-688.

- JOBLING, S. & SUMPTER, J. P. (1993): Detergent components in sewage effluent are weakly estrogenic to fish: An in vitro study using rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) hepatocytes. *Aquatic Toxicology*, 27, 361-372.
- a) KALBFUSS, W. (1995): Belastung bayerischer Gewässer durch Lipidsenker. Vortrag auf der 50. Fachtagung des Bayer. Landesamtes für Wasserwirtschaft, Stoffe mit endokriner Wirkung in der Umwelt.
- b) KALBFUSS, W. (1995): Belastung bayerischer Gewässer durch synthetische Östrogene. Vortrag 50. Fachtagung des Bayer. Landesamtes für Wasserwirtschaft, Stoffe mit endokriner Wirkung in der Umwelt.
- KANAZAWA, T. (1979): In vivo conversion of cholesterol to steroid hormones in the spring lobster *Penaeus japonicus*. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish* 37, 891-898.
- KATZENELLENBOGEN, J. A.; KATZENELLENBOGEN, B. S.; TOCHIRO, T.; ROBERTSON, D. W.; LANDVATTER, S. W. (1980): The chemistry of estrogens and antiestrogens – Relationships between structure receptorbinding, and biological activity. In: *Estrogens in the environment*. (McLACHLAN, J., ed.), Elsevier North Holland, Inc.
- KLEIN, K.; BARON, J.; COLLI, M. J.; McDONELL, D. P.; CUTLER, G. B. jr. (1994): Estrogen levels in childhood determined by an ultrasensitive recombinant cell bioassay. *J. Clin. Invest.* 94, 2.477-2.480.
- LEISEWITZ, A. (1996): Angriff auf das Hormonsystem. Greenpeace e.V., Hamburg, (B. Kamrad, Hsg.).
- McEWEN, B. S.; PALPINGER, L.; CHAPTAL, C.; GERLACH, J.; WALLACH, G. (1975): Role of fetal neonatal estrogen binding proteins in the association of estrogen with neonatal brain cell nuclear receptors. *Brain Res.* 96, 400-406.
- MUTSCHLER, E. (1991): Arzneimittelwirkungen. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft Stuttgart.
- NORPOTH, K.; NEHRKORN, A.; KIRCHNER, M.; HOLSEN, H.; TEIPEL, H. (1973): Untersuchungen zur Frage der Löslichkeit und Stabilität ovulationshemmender Steroide im Wasser, Abwasser und Belebtschlamm. *Zbl. Bakt. Hyg., Abt. Orig.* B156, 500-511.
- NOTHACKER, H. P. & GRIMMELIKHUIJZEN, C. J. P. (1993): Molecular cloning of a novel, putative G protein-coupled receptor from sea anemones structurally related to members of the FSH, TSH, LH/CG receptor family from mammals. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 197(3), 1.062-9.
- OEHLMANN, J.; SCHULTE-OEHLMANN, U.; BAUER, B.; BETTIN, C.; FIORINI, P.; MARKERT, B. (1996): Androgenic Effects of Organotin Compounds in Molluscs. *UBA Texte*, 3/96, 111-118.
- PASMANIK, M. & CALLARD, V. (1986): Characteristics of a testosterone-estradiol binding globulin (TEBG) in goldfish serum. *Biol. Reprod.* (1986), 35(4), 838-45.
- PROTIVA, J.; PIHERA, P.; SCHWARZ, V. (1984): Biodegradation of the side chain of sterols and their mixture to the intermediate products of steroid drug synthesis. *Cesk.Farm.* 33(6), 225-9.
- REGISTER, B.; BETHEL, M. A.; THOMPSON, N.; WALMER, D.; BLOHM, P.; AYYASH, L.; HUGHES, C., jr. (1995): The effect of neonatal exposure to diethylstilbestrol, coumestrol, and beta-sitosterol on pituitary responsiveness and sexually dimorphic nucleus volume in the castrated adult rat. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* (1995), 208(1), 72-7.
- REINBOTH, R. (1980): Vergleichende Endokrinologie. Thieme Verlag Stuttgart.
- RÖMBKE, J.; KNACKER, T.; SCHALLNASS, H.; STAHLSCHMIDT-ALLNER, P. (1996): Arzneimittel in der Umwelt, Literaturstudie im Auftrag des Umweltbundesamtes. UBA-Texte, Berlin (in Vorbereitung).
- SOTO, A. M.; LIN, Tien-Min; JUSTICIA, H.; SILVIA, R. M.; SONNENSCHNIG, C. (1992): A "in vitro cultur" bioassay to assess the estrogenicity of xenobiotics (E-Screen). *Advances in modern environmental toxicology Vol. XXI Chemically-induced alterations in sexual and functional development. The wildlife/human connection* (COLBORNE, T. & CLEMENT, C., eds), Princeton Scientific Publishing Co., Inc., 295-309.
- STAHLSCHMIDT-ALLNER, P. & REINBOTH, R. (1991): Gonadal development and social control of sex inversion in *Amphiprion frenatus* (Brevoort). – Proceedings of the fourth international symposium on the reproductive physiology of fish. SCOTT, A. P.; SUMPTER, J. P.; KIME, D. E.; ROLFE, N. S. (eds), University of East Anglia, Norwich, U.K., 7-12 July 1991, 208.

- STUMPF, M.; TERNES, T. A.; HABERER, K.; SEEL, P.; BAUMANN, W. (1996): Nachweis von Arzneimittelnrückständen in Kläranlagen und Fließgewässern. *Vom Wasser*, 86, 291-303.
- TABAK, H. & BUNCH, H. L. (1970): Steroidhormones as water pollutants. I Metabolism of natural and synthetic ovulation-inhibiting hormones by microorganisms of activated sludge and primary settled sewage. *Dev. Ind. Microbiol.* 11, 367-376.
- TABAK, H. H.; BLOOMHUFF, R. N.; BUNCH, R. L. (1981): Steroid hormones as water pollutants. II. Studies on the persistence and stability of natural urinary and synthetic ovulation-inhibiting hormones in untreated and treated wastewaters. *Dev. Ind. Microbiol.* (1981), 22, 497-519.
- THIERFELDER, W.; MEHNERT, W. H.; LAUSSMANN, D.; ARNDT, D.; REINEKE, H. H. (1995): Der Einfluß umweltrelevanter östrogenartiger Substanzen auf das Reproduktionssystem. *Bundesgesundhbl.* 9/95, 338-341.
- Van der KRAAK, G.; Mac LATCHAY, D. L.; TREMBLAY, L. T. (1995): Phytoestrogen β -Sitosterol alters reproductive endocrine status of goldfish. 5th SETAC Europe Congress Copenhagen 25-28 June, 1995, 80.
- VARAKSINA, G. S.; VARAKSIN, A. A.; MASLENNIKOVA, L. A. (1992): Role of sex steroid hormones in spermatogenesis of the scallop *Mizuhopecten yessoensis*. *Biol. Morya (Vladivostok)*, (1-2), 77-83.
- ZELLNER, A. & KALBFUSS, W. (1995): Belastung bayerischer Fließgewässer durch Nonylphenole. Vortrag, 50. Fachtagung des bayer. Landesamtes für Wasserwirtschaft, Stoffe mit endokriner Wirkung.

ERHÖHEN HORMONELL-WIRKSAME UMWELTCHEMIKALIEN DAS KREBSRISIKO?

Wilfried Bursch, Christian Vutuc, Wolfram Parzefall und Rolf Schulte-Hermann

Institut für Tumorbilogie-Krebsforschung, Borschkegasse 8a, 1090 Wien

1 EINLEITUNG

Tumore von hormon-abhängigen Organen gehören weltweit zu den häufigsten Krebs-erkrankungen, in den letzten zwei Jahrzehnten wurde sogar eine Zunahme der Brust-, Endometrium-, Prostata und Hodenkrebs-Inzidenz beobachtet (Parkin et al., 1988, 1992). In jüngster Zeit wird dieser Anstieg an Krebserkrankungen mit der Exposition des Menschen gegenüber in der Umwelt verbreiteten Chemikalien mit östrogener Wirkung in Verbindung gebracht (Mussalo-Rauhamaa et al., 1990; Falck et al., 1992; Wolff et al., 1993, 1995; Davis et al., 1993; Hunter et al., 1993; Krieger et al., 1994; Dewailly et al., 1994). Diese sog. "Umweltöstrogene" oder "Xenoöstrogene" umfassen synthetische Pestizide wie o,p'-1,1,1-Trichlor-2,2,-Bis(p-Chlorphenyl)Äthan (o,p'-DDT) und seine Metabolite, Hexachlor-cyclohexan, Industriechemikalien wie Polychlorierte Biphenyle (PCBs) u. a. m. Aber auch Naturstoffe aus Pflanzen (Phytoöstrogene) und Pilzen (Mykotoxine) sowie von Mensch und Tier ausgeschiedene natürliche und synthetische Östrogene, die in Kläranlagen nicht vollständig abgebaut werden und in Oberflächengewässern nachgewiesen wurden, werden dazu gezählt (McLachlan et al., 1987; Turan, 1995; Schäfer et al., 1996). Weitere aufgrund ihres Vorkommens als relevant erachtete Substanzen mit östrogener Wirkung umfassen Alkylphenole, Bisphenol A, Phthalate, Butylhydroxyanisol und Endosulfan (Schäfer et al., 1996).

Der Verdacht auf eine durch "Umwelt-Östrogene" ausgelöste Gesundheitsgefährdung des Menschen beruht im wesentlichen auf Beobachtungen an Wildtierpopulationen, die lokal hohen Konzentrationen der fraglichen Chemikalien ausgesetzt waren (Colborn et al., 1993; Kavlok et al., 1996). Beispielsweise konnten Geschlechtsumwandlungen in Vogel-Populationen in Südkalifornien auf eine DDT-induzierte Feminisierung von männlichen Embryonen während ihrer Entwicklung zurückgeführt werden (Fry and Toone, 1981). In Südkalifornien wurden in Pelikan-Eiern bis zu 79 ppm DDT, in Kormoran-Eiern im Mittel 32 ppm DDT gefunden. In Möwen-Eiern fanden sich 6,3-30 ppm DDT 3 Jahre nach Beendigung seiner Freisetzung in die Umwelt (Fry and Toone, 1981). Jüngere Beobachtungen in Dicofol- und DDT-belasteten Gewässern (Lake Apopka, Florida) erwiesen eine hohe Embryonensterblichkeit von Alligator-Populationen und verkümmerte Fortpflanzungsorgane bei den männlichen Nachkommen (Guillette et al., 1994). Aus dem Lake Apopka entnommene Alligator-Eier enthielten als Hauptkontaminante bis zu 5,8 ppm p,p'-DDE bezogen auf Feuchtgewicht (Heinz et al., 1991). Ein weiteres Beispiel sind männliche Fische, die nach Exposition gegenüber Abwässern von Kläranlagen das sonst nur in weiblichen Tieren gebildete dotterbildende Protein Vitellogenin produzieren; möglicherweise sind Alkylphenole für diesen Effekt verantwortlich (Purdom et al., 1994). Viel Aufmerksamkeit erregte eine Publikation, derzufolge die Spermienzahl von Männern in den letzten 50 Jahren um 50 % abgenommen haben soll; dieses Phänomen wurde mit der Exposition gegenüber hormonell wirksamen Chemikalien in Verbindung gebracht (Carlsen et al., 1992, Sharpe and Skakkebaek 1993). Eine Re-Evaluierung dieser Analyse sowie neuere Studien konnten eine Abnahme der Spermienzahl bei Männern allerdings nicht bestätigen (Fisch et al., 1996a, b; Paulsen et al., 1996).

2 HORMONE UND KREBS

Beim Ablauf von Lebensvorgängen sind die einzelnen Zellverbände und Organe des Organismus in bestimmte Funktionseinheiten integriert. Eine solche Integration ist jedoch nur möglich, wenn zwischen den einzelnen Organen ein "Nachrichtensystem" wirksam ist, welches ihre Funktion räumlich und zeitlich so aufeinander abstimmt, daß sich ein "sinnvoller" Ablauf ergibt. Die Kommunikation zwischen den einzelnen Organen kann auf zwei Weisen erfolgen:

1. durch das Nervensystem und
2. durch das Hormonsystem.

Hormone fungieren als chemische Botenstoffe, die in endokrinen Organen (z. B. Hoden, Ovarien, Hirnanhangdrüse, Nebennieren) gebildet werden und über den Blutweg ihre Zielorgane erreichen. Dort steuern die Hormone Lebensfunktionen wie Stoffwechsel, Reifung, Wachstum u. a. m.. Die Hormonwirkung auf die Zielzelle wird durch sog. Rezeptoren vermittelt. Hormone und ihre Rezeptoren passen aufgrund ihrer chemischen Struktur wie "Schlüssel und Schloß" zueinander, wodurch die Spezifität der Wirkung des Boten auf die Zielzelle gewährleistet wird.

In der derzeitigen Diskussion über hormonell-aktive Chemikalien stehen jene mit östrogener Wirkung im Vordergrund. Aufgrund ihrer strukturellen Eigenschaften können eine Reihe von in der Umwelt vorkommenden Substanzen an Östrogen-Rezeptoren binden und so manche Wirkungen des natürlichen Östradiols "nachahmen" ("estrogen mimics") und infolgedessen das Gleichgewicht der hormonellen Steuerung von Lebensfunktionen unterbrechen ("endocrine disruptors"). Neben einer direkten Wirkung über Bindung an Östrogen-Rezeptoren können "Umwelt-Östrogene" im Organismus aber auch indirekt wirken, z. B. durch Beeinflussung des physiologischen Metabolismus von Steroidhormonen in der Leber und anderen Organen, Einwirkung auf das Nervensystem etc. (Abb. 1).

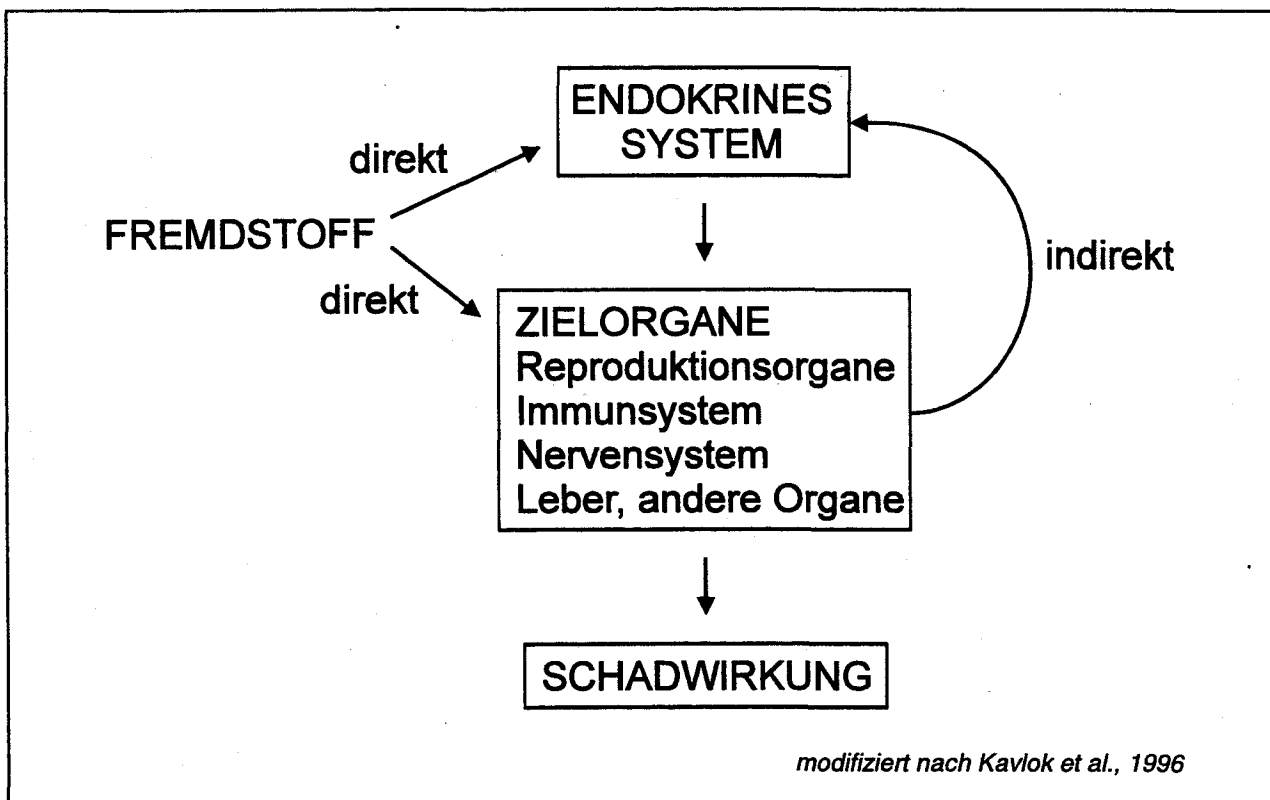


Abb. 1: Schematische Darstellung der möglichen Interaktion von Umweltchemikalien mit dem endokrinen System.

Ferner ist zu berücksichtigen, daß Tier und Mensch stets gegenüber Gemischen von Umweltchemikalien exponiert sind. Diese enthalten nicht nur Chemikalien mit östrogenen Wirkung, sondern auch solche mit anti-androgener (z. B. p,p'-DDT) und anti-östrogenen Wirkung (z. B. TCDD) (Safe & Krishnan, 1995; Ahlborg et al., 1995). Dieser Tatsache wurde mit einer breit gefaßten Definition des Begriffes "endocrine disruptor" Rechnung getragen: demzufolge handelt es sich hierbei um eine "exogene Substanz, die mit Produktion, Freisetzung, Transport, Metabolismus, Bindung, Wirkung oder Elimination von natürlichen, im Körper für die Erhaltung der Homöostase und Regulation von Entwicklungsprozessen verantwortlichen Hormonen interferiert" (Kavlok et al., 1996).

Die Entstehung von Tumoren in endokrinen Organen wird im Rahmen des heutigen Mehrstufen-Konzeptes der Karzinogenese in erster Linie damit erklärt, daß Hormone in ihren Zielgeweben die Vermehrung sogenannter "präneoplastischer" Zellen (Tumor-vorstadien) anregen ("Tumor-Promotion"). Diese Zellpopulationen können durch exogene Noxen wie Strahlung, Viren und Chemikalien, aber auch "spontan" durch unbekannte endogene Ursachen (möglicherweise altersbedingte fehlerhafte Regulation der Genexpression, Zellteilung u. a. m.) entstehen ("Tumor-Initiation"). Im Verlauf eines langjährigen Wachstums dieser Tumorstadien entstehen dann durch Selektion maligne, metastasierende Tumore.

Epidemiologische Studien zeigen, daß der hormonelle Status die Krebsentstehung in endokrinen Organen des Menschen beeinflußt. Krebserkrankungen der Brust, des Endometriums und des Ovars sind bei Frauen mit einer frühen Schwangerschaft weniger häufig als bei Nullipara. Andererseits erhöhen frühe Menarche, späte Erstschwangerschaft und späte Menopause das Brustkrebsrisiko des Menschen, was durch eine längere Dauer derjenigen Lebensphase erklärt werden kann, in der (tumor-promovierende) Östrogene in relativ großer Menge gebildet und ausgeschüttet werden. Im Tierexperiment und beim Menschen wird die Endometriumkrebs-Inzidenz durch Östrogen-Gaben erhöht, durch Progesteron-Gaben vermindert. Diese gegensätzliche Wirkung der beiden Hormone läßt sich als Promotion und Antipromotion interpretieren, denn in Mensch und Tier stimuliert Östrogen die Zellvermehrung im Endometrium, während Progesteron sie hemmt (Schulte-Hermann et al 1994).

2.1 Fallbeispiel Diethylstilbestrol

Die Hypothese, daß "Umwelt-Östrogene" Krebserkrankungen verursachen können, beruht u. a. auf der nachgewiesenen kanzerogenen Wirkung des synthetischen Östrogens Diethylstilbestrol (DES). Diese Substanz wurde seit Mitte der 40er Jahre bei drohendem Abort eingesetzt, um die Schwangerschaft zu erhalten; die DES-Dosen wurden von 5 mg/Tag zu Beginn bis zu 125 mg/Tag gegen Ende der Schwangerschaft gesteigert (Hogan et al., 1987). Die kanzerogene Wirkung von DES im Menschen wurde Ende der 60er Jahre erkannt. In Töchtern von mit DES-behandelten Müttern traten nach der Geschlechtsreife Vaginalkarzinome auf. In männlichen Nachkommen wurden Gonadenanomalien und Penishypoplasien festgestellt. Fall-Kontrollstudien an DES-exponierten männlichen Nachkommen ergaben allerdings keine Hinweise auf eine reduzierte Spermienqualität, Sexualfunktion oder erhöhte Hodenkrebs-Inzidenz (Leary et al., 1984; Wilcox et al., 1995).

Die embryonale Entwicklung der Geschlechtsorgane bildet die Grundlage zum Verständnis der kanzerogenen Wirkung von DES. Während der Organogenese werden die Sexualanlagen zunächst nebeneinander für beide Geschlechter angelegt. In späteren Stadien werden die Anlagen teilweise wieder eingeschmolzen, wobei persistierende Abschnitte des embryonalen (weiblichen) Müllerschen Gangs bei der Frau zu Tube, Uterus und oberer Vagina, beim Mann zu gestielter Hydatide und Prostata Schlauch werden. In beiden Geschlechtern beruht die primäre Schädigung durch DES auf einer unvollständigen Regression der zur Elimination determinierten Abschnitte des Müllerschen Ganges. Vermutlich persistieren Abkömmlinge des embryonalen Müllerschen Ganges in weiblichen Nachkommen in Abschnitten der Vagina, die

normalerweise zu Plattenepithel differenzieren, und in männlichen Nachkommen im Bereich der späteren Prostata. Der Wirkungsmechanismus des DES bei der Tumor-Initiation ist unklar; eine gentoxische Wirkung wurde nur *in vitro* und nur bei extrem hohen Konzentrationen nachgewiesen, deren Bedeutung für die Initiation im Menschen fraglich ist. Eine nicht-gentoxische Initiation infolge von Fehldifferenzierung der Zellen und Hemmung des "programmierten" Zelltodes (Apoptose) ist eine denkbare Alternative. Die resultierenden abnormen Zellgruppen in den Geschlechtsorganen, die in 100 % der DES exponierten Töchter festgestellt wurden, sind sehr wahrscheinlich das Ziel einer promovierenden Wirkung durch Geschlechtshormone. Mit Einsatz der Pubertät ausgeschüttete Hormone können eine Promotion bewirken, wodurch sich das gehäufte Auftreten der Karzinome im Alter von 15-25 Jahren erklären läßt. Anhand des DES-induzierten Vaginalkarzinoms lassen sich folgende prinzipielle Aspekte der Kanzerogenese beim Menschen aufzeigen:

1. die Möglichkeit der transplazentaren Kanzerogenese. Dieses Beispiel zeigt auch, daß Organismen während der Embryonalentwicklung in der Phase der Geschlechtsdifferenzierung gegenüber Störungen der endokrinen Regulation besonders empfindlich sind und ferner, daß die Nachkommen ohne zunächst offensichtliche Schäden geboren werden können. Für die Risikobeurteilung hormonell wirksamer Substanzen ist also neben der Expositionshöhe auch der Zeitpunkt der Exposition eine unerläßliche Information.
2. die kausale Rolle eines exogenen Hormons bei der Entstehung bestimmter Tumore.
3. die Gliederung der Kanzerogenese in Initiations- und Promotionsphase, wobei sich die Pubertät als empfindliche Phase gegenüber der promovierenden Wirkung von endogenem Östradiol erwies.

3 "UMWELT-ÖSTROGENE" UND KREBSRISKO DES MENSCHEN

3.1 Wie kann die östrogenartige Eigenschaft einer Substanz festgestellt werden?

Die Bindungsfähigkeit von Chemikalien an Östrogen-Rezeptoren (Rezeptoraffinität) gibt einen ersten Hinweis auf die mögliche Interaktion einer Substanz mit dem Hormonsystem. In kompetitiven Bindungsassays (Verdrängung von radioaktiv markiertem Östradiol vom Rezeptor durch die zu prüfende Substanz) kann die Rezeptoraffinität von Chemikalien quantitativ verglichen werden. Vergleichende Studien zeigten beispielsweise, daß DES mit einer etwa 2,5fach höheren Affinität an den Östradiol-Rezeptor bindet als das natürliche Hormon, PCBs andererseits mit einer um mehrere 10er Potenzen geringeren Affinität (Korach et al., 1988). Der Nachweis einer Rezeptorbindung läßt aber keine Aussage darüber zu, ob die betreffende Substanz eine östrogene oder antiöstrogene Wirkung besitzt.

Zur Erfassung einer östrogenen Wirkung von Chemikalien stehen eine Reihe von Zellkultur- und *in vivo*-Tests zur Verfügung. *In vivo* kann eine östrogene Wirkung anhand der Vergrößerung des Uterusgewichtes, der Aktivitäts-Steigerung von Enzymen im Uterus, der Verhornung der Scheidenepithel-Zellen, der Wachstumsstimulation von östrogen-abhängigen, transplantablen Tumorzelllinien in Wirtstieren u. a. m. experimentell erfaßt werden. *o,p'*-DDT bewirkte beispielsweise in nicht geschlechtsreifen Ratten u. a. eine Stimulation der Zellvermehrung im Uterus (beurteilt an der DNS-Synthese). Allerdings war *o,p'*-DDT um mehr als drei Größenordnungen geringer wirksam als Östradiol, 250 mg/kg *o,p'*-DDT erreichten nur 70 % der Wirkung von 50 µg/kg Östradiol (also 5.000fach geringere Dosis; Robison et al., 1985). Ferner ist zu berücksichtigen, daß technisches DDT aus einem Gemisch verschiedener Kongenere mit den Hauptkomponenten *p,p'*-DDT (ca. 77 %) und *o,p'*-DDT (ca. 15 %) besteht (WHO, 1993). Für *o,p'*-DDT und den Metaboliten *o,p'*-DDE [1,1-dichloro-2,2-bis (p-

chlorphenyl) ethylen] sind östrogenartige Wirkungen nachgewiesen worden. Dagegen werden für das p,p-Isomer von DDE keine östrogenen, sondern anti-androgene Effekte beschrieben (Kelce et al., 1995). p,p'-DDE ist der in der Umwelt persistierende Hauptmetabolit des Insektizids, während o,p'-DDE in deutlich geringeren Mengen vorkommt. Aufgrund dieser Befunde wird diskutiert, daß in Alligator-Populationen (Lake Apopka) die anti-androgene Wirkung mehr als die östrogene Wirkung zur Feminisierung der männlichen Tiere beitrug (Culotta, 1995).

In Zellkultur kann mit dem sog. "E-Screen" die Fähigkeit von Substanzen geprüft werden, eine Vermehrung von östrogen-abhängigen Brustkrebszellen zu bewirken. In diesem Test zeigten sowohl o,p'-DDT und p,p'-DDT allein als auch das Kongeneren-Gemisch eine wachstumsstimulierende Wirkung. Im Vergleich zum physiologischen Hormon Östradiol erwiesen sie sich jedoch, wie eine Reihe anderer Xenobiotika mit östrogenartiger Wirkung (z. B. Dieldrin, Endosulfan, 1-Hydroxychloran, Kepon, Toxaphen, Methoxychlor), als um den Faktor 1.000 bis 1.000.000 geringer wirksam; DES war 10mal stärker wirksam als Östradiol (Soto et al., 1995).

Es ist darauf hinzuweisen, daß Zellkultur- und in vivo-Befunde nicht immer übereinstimmen. Als Ursache kommen Unterschiede im Stoffwechsel der Hormone und in ihrem äußerst komplexen Zusammenspiel, in der Funktion von Hormon-Freisetzungsfaktoren, Hemmung der Hormonfreisetzung durch negative Rückkopplung etc. in Frage, die in der Zellkultur nicht nachgestellt werden können. Für die Suche ("Screening") nach hormonell wirksamen Chemikalien sowie zum Vergleich ihrer Wirkungsstärke bedürfen die derzeit verfügbaren Testsysteme einer Validierung und Standardisierung (Ahlborg et al., 1995; Kavlok et al., 1996).

3.2 Umwelt-Östrogene und Krebs: tierexperimentelle Befunde

Hinsichtlich des kanzerogenen Potentials von "Umwelt-Östrogenen" ist zunächst festzustellen, daß für viele der fraglichen Organochlorverbindungen (z. B. Methoxychlor, Hexachlorbenzol, Hexachlorcylohexan, PCDD/PCDFs, DDT und seine Metabolite) kanzerogene Wirkungen z. B. in Leber, lymphatischem System und anderen Organen von Nagetieren nachgewiesen worden sind (IARC 1987, 1991). Im Tierversuch (Ratte, Maus) wird vielfach Leberwachstum ausgelöst, hohe Dosen über lange Zeit verabreicht führen zu Lebertumoren. Hierfür ist wahrscheinlich nicht eine erbgutschädigende (genotoxische), sondern eine tumorpromovierende Wirkung verantwortlich. Lebertumore wurden auch in Fisch-Populationen in lokal begrenzten, hoch belasteten Gewässern beobachtet (Kavlok et al., 1996). Nach Auffassung von Kavlok et al., (1996) gibt es allerdings keine Hinweise darauf, daß an der Entstehung von Lebertumoren in Fischen, sowohl unter Freiland- als auch unter experimentellen Bedingungen, eine Störung des Hormonsystems beteiligt ist. In einer Reihe von Mehr-Generations Studien mit Ratten zeigte technisches DDT (bis zu 250 mg/kg) eine tumorinduzierende Wirkung nur an der Leber, nicht aber an anderen Organen (Ahlborg et al., 1995). Dagegen wurde ein beschleunigtes Auftreten von Brusttumoren in Ratten durch Triazine beobachtet (Wetzel et al., 1994; Stevens et al., 1994). Im Rahmen des National Toxicology Program der USA wurde das kanzerogene Potential von 450 Chemikalien getestet, 34 davon induzierten Brusttumore in Nagetieren (Dunnick et al., 1995). Von diesen 34 Chemikalien erwiesen sich 26 als mutagen, d. h. an der Induktion von Brusttumoren war in diesen Fällen eine genschädigende Wirkung beteiligt. Wieweit eine hormonelle Wirkung von Bedeutung für die Brustkrebs-Entstehung war, ist derzeit nicht bekannt (Dunnick et al., 1995).

3.3 Umwelt-Östrogene und Krebs: epidemiologische Befunde

Erste Hinweise auf mögliche Zusammenhänge zwischen Umwelt-Östrogenen und Brustkrebs wurden aus ökologischen Untersuchungen abgeleitet. Bei dieser Untersuchungsform werden Zeitreihen oder geographische Verteilungsmuster der Krebssterblichkeit oder -Inzidenz mit

bestimmten Variablen (z. B. Exposition gegenüber Organochlorverbindungen) korreliert. Mittels dieser Untersuchungen wird häufig versucht, einen kausalen Zusammenhang zwischen Krebsentstehung und Risikofaktoren zu belegen. Dieser Untersuchungsansatz erlaubt jedoch nur sehr bedingt Rückschlüsse auf einen Zusammenhang zwischen einem vermuteten Risikofaktor und dem Auftreten einer Krankheit, weil Informationen über individuelle Expositionen fehlen. Im günstigsten Fall können Hypothesen kreiert werden. Für die vorliegende Fragestellung wird die Aussage zusätzlich erschwert, weil für die Entstehung von Brustkrebs und Krebs des Endometriums eine Reihe endogener und exogener Risikofaktoren vermutet werden, die in ökologischen Studien nicht getrennt betrachtet werden können. Ebenso können mögliche Einflüsse auf Mortalitätsraten (durch Änderung der Überlebensrate bzw. Änderung diagnostischer Kriterien) und auf Inzidenzraten (durch Screeninguntersuchungen) nicht kontrolliert werden.

Von allen deskriptiven Untersuchungen sind jene über die Folgen des Industrieunfalls in Seveso im Jahr 1976 hervorzuheben, da Exponierte und Exposition (Zuordnung entsprechend der Bodenkontamination) definiert und Relative Risiken (RR) berechnet werden konnten (Bertazzi et al., 1989, 1993). Es wurde keine Häufung von Brustkrebs und Endometriumkarzinomen beobachtet. Das Risiko an Brustkrebs zu erkranken war in den Zonen A und B (starke, mittlere Bodenkontamination) mit $RR=0,5$ (95 % CI 0,1-3,3) und $RR=0,7$ (95 % CI 0,4-1,4) geringer als erwartet. Für Endometriumkarzinom lauten die entsprechenden Werte $RR=2,6$ (95 % CI 0,6-10,4) und $RR=0,5$ (95 % CI 0,2-1,3). Alle Ergebnisse sind nicht signifikant und ihre Interpretation wegen der kleinen Fallzahlen sehr limitiert.

Zur Frage nach einem Zusammenhang zwischen Umwelt-Östrogenen und Brustkrebs wurden auch einige Fall-Kontroll-Studien durchgeführt (Wassermann et al., 1976; Albert et al., 1982; Unger et al., 1984; Mussalo-Rauhamaa et al., 1990; Falck et al., 1992; Wolff et al., 1993, 1995; Krieger et al., 1994; Dewailly et al., 1994). Die Expositionen gegenüber Umwelt-Östrogenen wurden mittels Serumproben bzw. Gewebeproben ermittelt. Es liegen positive und negative Ergebnisse vor. Alle Studien weisen methodische Mängel auf, worauf die Autoren selbst hinweisen, und erlauben keine schlüssige Aussage über kausale Zusammenhänge. Als wesentlichste Mängel dieser Studien sind ihre geringe Größe (in 5 von 8 Studien weniger als 20 Fälle) sowie die fehlende bzw. unzulängliche Kontrolle von Störfaktoren (reproduktive Faktoren, Lebensstilfaktoren) zu nennen.

Zwei Studien, die auf größeren Fallzahlen beruhen und Störfaktoren teilweise kontrollieren, sollen exemplarisch angeführt werden. In einer Fall-Kontroll-Studie (58 Frauen mit Brustkrebs und 171 Kontrollpersonen), abgeleitet aus der prospektiven Kohorte der New York University Women's Health Study, wurde ein Ansteigen des Brustkrebsrisikos mit zunehmenden DDE-Serumkonzentrationen [1,1-dichloro-2,2-bis (p-chlorphenyl) ethylen] beobachtet (Wolff et al., 1993). Das adjustierte Risiko von Frauen mit DDE-Serumkonzentrationen im obersten Quintil war um 3,68 (95 % CI 1,01-13,5) größer als jenes von Frauen mit Werten im untersten Quintil. Keine signifikante Zunahme konnte bezüglich PCBs nachgewiesen werden.

Im Gegensatz dazu unterstützen die Ergebnisse einer zweiten Fall-Kontroll-Studie (150 Frauen mit Brustkrebs und 150 Kontrollpersonen), abgeleitet aus der prospektiven Kohorte der San Francisco Bay Area Studie, nicht die Hypothese, daß Umwelt-Östrogene das Brustkrebsrisiko erhöhen (Krieger et al., 1994). Die multivariate Analyse ergab für Frauen mit DDE-Serumkonzentrationen im obersten Tertil gegenüber Frauen im untersten Tertil ein adjustiertes Risiko von 1,33 (95 % CI 0,68-2,62); Weiße 2,38 (95 % CI 0,54-10,64), Schwarze 3,85 (95 % CI 0,93-16,05), Asiatinnen 0,71 (95 % CI 0,28-2,18). Die entsprechenden Werte bezüglich PCBs lauten für Frauen insgesamt 0,76 (95 % CI 0,41-1,44), Weiße 0,25 (95 % CI 0,06-0,99), Schwarze 1,72 (95 % CI 0,61-4,87), Asiatinnen 0,75 (95 % CI 0,24-2,38).

Zusammenfassend kann gesagt werden, daß die Ergebnisse epidemiologischer Untersuchungen keine plausiblen Aussagen hinsichtlich eines kausalen Zusammenhangs zwischen Umwelt-Östrogenen und Brustkrebs erlauben. Die Hypothese, daß Umwelt-Östrogene einen Risikofaktor für die Entstehung von Krebs darstellen, kann auf Grund dieser Daten weder bestätigt noch ausgeschlossen werden.

4 RISIKOBEURTEILUNG

Die Beurteilung einer möglichen Gesundheitsgefährdung des Menschen durch Chemikalien und andere Noxen ist ein mehrstufiger Prozess (Committee on the Institutional Means for Assessment of Risks to Public Health, 1983):

1. Identifikation der *Schadwirkung*, d. h. Feststellung eines Gesundheitsschadens und der hierfür verantwortlichen Substanz.
2. Ermittlung der *Dosis-Wirkungsbeziehung* (Stärke der Giftwirkung), d. h. des Zusammenhangs zwischen Ausmaß der Exposition bzw. aufgenommener Menge einer Chemikalie und dem Ausmaß der Schadwirkung. Solche quantitative Studien zielen insbesondere auf die Ermittlung von Schwellenwerten und "No-Observed-Effect-Levels (NOEL)". Benötigt werden ferner Daten über Resorption, Verteilung, Speicherung, Metabolisierung und Ausscheidung der betreffenden Substanz.
3. Ermittlung der *Expositionshöhe* und -dauer des Menschen gegenüber Schadstoffen und nach Möglichkeit der aufgenommenen Mengen.
4. Ableitung des *Risikos*, d. h. der Wahrscheinlichkeit des Eintritts einer Schadwirkung, sowie der Art und Größe der betroffenen Population.

Die für die Toxikologie relevanten Erkenntnisquellen umfassen:

1. isolierte Zelle (in vitro Test)
2. Tier (Tierversuch)
3. Mensch (Epidemiologie).

Insbesondere für die gegenständliche Fragestellung hinsichtlich von Substanz-Wirkungen auf die komplexen hormonellen Regelkreise im Organismus sind Erkenntnisse an Tier (in vivo) bzw. Mensch unerlässlich.

Am Beispiel einer Studie zur tumormovierenden Wirkung (Schadwirkung) von drei Isomeren des Hexachloryclohexans (α -, β -, γ -HCH) in der Leber von Ratten sei erörtert, wie die Kenntnis der Mechanismen zur Krebsentstehung, namentlich die Wachstumsförderung von Tumorstadien, als Grundlage für eine quantitative Risikoabschätzung genutzt werden kann (Schröter et al., 1987). In der Leber von Ratten wurden Tumorstadien in einem ersten Schritt durch Verabreichung eines genotoxischen Karzinogens induziert. Die HCH-Isomere wurden dem Tierfutter in verschiedenen Konzentrationen (Dosis-Wirkungsbeziehung) beigemischt und über 20 Wochen verabreicht. Als Maß für deren Wirkung wurde die Wachstumsgeschwindigkeit von sog. "präneoplastischen" Zellgruppen (s. o.) herangezogen. Zur Beurteilung der Wirkungsstärke wurde aber nicht die von den Tieren durch das Futter aufgenommene (externe), sondern die im Fettgewebe vorhandenen HCH-Konzentrationen (interne Dosis) herangezogen. Der Grund für diese Vorgehensweise war, daß die untersuchten HCH-Isomere ein unterschiedliches Akkumulations-Potential aufweisen. Die aus diesem Versuch abgeleiteten NOEL sind in Tabelle 1 aufgeführt. Diese NOELs sind bekannten Organkonzentrationen des Menschen gegenüberzustellen (Exposition, "interne" Dosis, Tabelle 1). Wie aus Tabelle 1 ersichtlich, lagen die Gewebsspiegel bei erwachsenen Westeuropäern und Säuglingen deutlich unter den aus dem Tierexperiment abgeleiteten NOEL. Hingegen lagen die Spiegel bei HCH-exponierten Arbeitern nur um den Faktor 5-10 unter den aus der Ratte abgeleiteten NOEL. Unter der Annahme, daß menschliches Lebergewebe ähnlich empfindlich reagiert wie das der Ratte, scheint die Möglichkeit eines promovierenden Effektes (Risiko) der HCH-Isomere beim Menschen sehr gering und am ehesten bei HCH-exponierten Arbeitern an ungenügend geschützten Arbeitsplätzen gegeben zu sein.

Tab. 1: Tierexperimentell ermittelte NOELs für α -, β - und γ -HCH im Vergleich zur Belastung des Menschen.

NOEL abgeleitet aus Fettgewebkonzentration Parameter: Wachstum von Präneoplasien in der Rattenleber $\mu\text{g HCH/g Fettgewebe}$			
	α -HCH	β -HCH	γ -HCH
	50	300	15
Fettgewebkonzentrationen von HCHs im Menschen $\mu\text{g HCH/g Fettgewebe}$			
	α -HCH	β -HCH	γ -HCH
Westeuropäer (Erw.) ¹⁾	0,03 max.: 0,35	0,33 max.: 0,66	0,05 max.: 0,44
Säuglinge ²⁾	0,01 $\pm$ 0,01 max.: 0,07	0,15 $\pm$ 0,18 max.: 1,02	0,04 $\pm$ 0,04 max.: 0,21
HCH-Arbeiter ³⁾	5,8 $\pm$ 5,0 max.: 15	45,6 $\pm$ 24,4 max.: 103	3,1 $\pm$ 3,1 max.: 11

¹⁾ Bertram et al., 1983, ²⁾ Niessen et al., 1984, ³⁾ Baumann et al., 1980;
max. in diesen Studien beobachtete maximale Belastung.

Dieses Beispiel illustriert, daß die Risikoabschätzung von Umweltschadstoffen allgemein Informationen über Dosis-Wirkungsbeziehungen, aus denen NOEL abgeleitet werden können, sowie über die Exposition voraussetzt. Daß Organochlorverbindungen aufgrund ihrer hormonartigen Wirkung in hohen Konzentrationen Gesundheitsschäden hervorrufen können, zeigen die genannten Beobachtungen an Wildtierpopulationen. Hinsichtlich der gegenständlichen Frage nach der krebserzeugenden Wirkung ist hervorzuheben, daß exogen zugeführte hormonartig wirkende Substanzen wie DES beim Menschen prinzipiell Krebs verursachen können; die Frauen nahmen mit 5 mg DES/Tag und mehr jedoch relativ hohe Dosen der östrogen-wirksamen Substanz ein.

Als lipophile und persistente Substanzen reichern sich Organochlorverbindungen in der Nahrungskette an, der Hauptaufnahmepfad für den Menschen ist deshalb die Nahrung. In Fleisch, Geflügel, Fisch betrug die Konzentration von DDT und verwandten Verbindungen in den USA 1970/71 0,004-0,009 ppm DDT, 1979/80 etwa 0,0008 ppm DDT und 0,0048 ppm DDE (Ahlborg et al., 1995). Generell nimmt die Belastung durch DDT seit Stopp der Verwendung (1972) in USA und Europa ab (Fürst et al., 1991; Ahlborg et al., 1995). Es ist davon auszugehen, daß die tägliche Exposition des Menschen über die Nahrung um Größenordnungen niedriger liegt als in den oben genannten Beispielen aus der Tierwelt. Für diese Expositionsszenarien liegen keine Erfahrungen über hormonelle Wirkungen der fraglichen Organochlorverbindungen in Säugetieren vor, entsprechend niedrige Dosen müssen gegebenenfalls getestet werden. Ferner fehlen zum Vergleich der Wirkungsstärke hormonartiger, exogen zugeführter Chemikalien mit derjenigen von endogenen Hormonen Informationen über die Toxikokinetik einschließlich der Bioverfügbarkeit (so binden Organo-chlorverbindungen beispielsweise nicht wie Östradiol an Serumproteine), Rezeptordynamik etc.. Es ist festzustellen, daß die auf den Menschen einwirkenden Xenoöstrogene nicht nur in geringer Konzentration vorliegen, sondern darüberhinaus meist eine um Größenordnungen geringere Rezeptoraffinität bzw. östrogene Potenz als die körpereigenen Östrogene besitzen. Wie bereits erwähnt, wurde z. B. für DDT eine um mindestens drei Größenordnungen geringere östrogene Potenz an der Ratte festgestellt. Aus diesen Gründen scheint – jedenfalls bei Betrachtung von Einzelsubstanzen – eine direkte Wirkung, d. h. Bindung an Östrogenrezeptoren und Auslösung einer Hormonwirkung, in der durchschnittlich exponierten Population als unwahrscheinlich.

Neben einer direkten Wirkung über Bindung an den Östrogen-Rezeptor können "Umwelt-Östrogene" im Organismus auch indirekt wirken, z. B. können diese Substanzen eine Aktivitätssteigerung (Enzym-Induktion) der Cytochrom P450-abhängigen Monooxygenasen bewirken, die am physiologischen Abbau von Steroidhormonen beteiligt sind, und dadurch das Östrogen-Gleichgewicht stören. Die Enzym-Induktion erfordert allerdings meist relativ hohe Dosen. Ferner ist zu berücksichtigen, daß die Ausschüttung von Hormonen im intakten Organismus durch eine negative Feedback-Regulation gesteuert wird, deshalb dürfte eine mögliche Modifikation des Steroidmetabolismus in vielen Fällen kompensierbar sein, so daß nachweisbare Gesundheitsschäden nicht auftreten.

Allerdings muß wegen der Persistenz und Akkumulation der fraglichen Chemikalien in der Umwelt die Frage gestellt werden, ob Spuren von hormonell wirksamen Fremdstoffen auf Dauer auch beim Menschen kumulieren und negative gesundheitliche Folgen haben können. Nach Auffassung von Ahlborg et al. (1995) ist diese Frage gegenwärtig nicht zu beantworten. Eine weitere Komplikation besteht darin, daß in der Umwelt stets zahlreiche Substanzen nebeneinander im Gemisch vorliegen. Für die Bewertung dieser Tatsache ist in Betracht zu ziehen, daß Substanz-Kombinationen additive oder synergistische, aber auch antagonistische Effekte auslösen können. Kürzlich wurde auf Grund von Versuchen an genetisch veränderten Hefezellen mit transfiziertem Östrogenrezeptor berichtet, daß Dieldrin, Endosulfan oder Toxaphen in Kombination überadditiv am Östrogenrezeptor wirksam seien (Arnold et al., 1996). Die Relevanz dieser Befunde für Tier und Mensch muß allerdings noch geprüft werden. Andererseits können Tier und Mensch aber auch Gemischen von Substanzen mit – für sich allein betrachtet – entgegengesetzter Wirkung exponiert sein, so wirkt DDT östrogen, TCDD hingegen anti-östrogen (Ahlborg et al., 1996). Die Annahme oder Ablehnung einer additiven oder antagonistischen Wirkung von Substanz-Gemischen ist zum gegenwärtigen Zeitpunkt spekulativ. Diesbezüglich besteht großer Informationsbedarf.

Zusammenfassend ist festzustellen, daß ein kausaler Zusammenhang zwischen der Exposition gegenüber Umwelt-Östrogenen und dem Anstieg der Krebserkrankungen in hormonabhängigen Organen des Menschen bislang nicht bewiesen ist. (siehe auch Ahlborg et al., 1995; Kavlok et al., 1996). Für die fraglichen Substanzen kann ein durch ihre hormonelle Wirkung ("endocrine disruption") begründetes Risiko für den Menschen weder als gegeben angesehen noch ausgeschlossen werden. Hieraus ergibt sich die Notwendigkeit weiterer Untersuchungen, um das bislang recht geringe Wissen auf diesem Gebiet zu vergrößern.

5 LITERATUR

- AHLBORG, U. G.; LIPWORTH, L.; TITUS-ERNSTOFF, L.; HSIEH, C. C.; HANBERG, A.; BARON, J.; TRICHOPOULOS D.; ADAMI H. O. (1995): Organochlorine compounds in relation to breast cancer, endometrial cancer, and endometriosis: an assessment of the biological and epidemiological evidence. *Critical Reviews in Toxicology* 25, 463-531.
- ALBERT, L.; HERNANDEZ-ROMAN, P.; REYES, R.; NAVA, E. (1982): Chlorinated hydrocarbon residue concentrations in neoplastic human breast tissue, non-malignant breast tumor tissue and adjacent adipose tissues. *International Congress of Pesticides* 5, Kyoto, Japan.
- ARNOLD, S. F.; KLOTZ, D. M.; COLLINS, B. M.; VONIER, P. M.; GUILLETTE, L. J. jr.; McLACHLAN, J. A. (1996): Synergistic activation of estrogen receptor with combinations of environmental chemicals. *Science* 272, 1489-92.
- BAUMANN, K.; ANGERER J.; HEINRICH R.; LEHNERT, G. (1980): Occupational Exposure to Hexachlorocyclohexane. I. Body Burden of HCH-Isomers. *Int. Arch. Occup. Environ. Health* 47, 119-127.
- BERTAZZI, P. A.; A., ZOCHETTI, C.; PESATORI, A. C.; GUERCILENA, S.; SANARICO, N.; RADICE, L. (1989): Ten year mortality study of the population involved in the Seveso Incident in 1976. *Am. J. Epidemiol.* 129, 1.187-1.200.

- BERTAZZI, P. A.; PESATORI, A. C.; CONSONNI, D.; TIRONI, A.; LANDI, M. T.; ZOCHETTI, C. (1993): Cancer incidence in a population accidentally exposed to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzoparadioxin. *Epidemiology* 4, 398-406.
- BERTRAM, H. P.; KEMPER, F. H.; ZENZEN, C. (1983): Vorkommen von HCH-Isomeren im Menschen. In: DFG-Forschungsbericht "Hexachlorcyclohexan als Schadstoff in Lebensmitteln". Verlag Chemie, Weinheim.
- CARLSEN, B.; GIWEREMAN, A.; KEIDING, N.; SKAKKEBEACK, N. E. (1992): Evidence for decreasing quality of semen during the past 50 years. *BMJ* 305, 609-613.
- COLBORN, T.; Vom SAAL, F. S.; SOTO, A. (1993): Developmental effects of endocrine-disrupting chemicals in wildlife and humans. *Environ. Health Perspect.* 101, 378-384.
- COMMITTEE ON THE INSTITUTIONAL MEANS FOR ASSESSMENT OF RISKS TO PUBLIC HEALTH (1983): Risk assessment in the federal government: managing the process, National Academy Press, Washington, D.C.
- CULOTTA, E. (1995): Research News. *Science* 267, 331.
- DAVIS, D. L.; BRADLOW, H. L.; WOFF, M.; WOODRUFF, T.; HOEL, D. G.; ANTON-CULVER, H. (1993): Medical hypothesis: xenoestrogens as preventable causes of breast cancer. *Environ. Health. Perspect.* 101, 372.
- DEWAILLY, E.; DODIN, S.; VERREAULT, R.; AYOTTE, P.; SAUVE, L.; MORIN, J. (1994): High organochlorine body burden in women with estrogen receptor positive breast cancer. *J. Natl. Cancer Inst.* 86, 232-234.
- DUNNICK, J. K.; ELWELL, M. R.; HUFF, J.; BARRET, J. C. (1995): Chemically-induced mammary gland cancer in the National Toxicology Program's Carcinogenesis Bioassay. *Carcinogenesis* 16, 173-179.
- FALCK, F. Y.; RICCI, A. jr.; WOLFF, M. S.; GODBOLD, J.; DECKERS, J. (1992): Pesticides and polychlorinated biphenyl residues in human breast lipids and their relation to breast cancer. *Arch. Environ. Health* 47, 143-146.
- FISCH, H. & GOLUBOFF, E. T. (1996a): Geographic variations in sperm counts: a potential cause of bias in studies of semen quality. *Fertil. Steril.* 65, 1.044-1.046.
- FISCH, H.; GOLUBOFF, E. T.; OLSON, J. H.; FELDSHUH, J.; BRODER, S. J.; BARAD, D. H. (1996b): Semen analysis in 1,283 men from the United States over a 25-year period: no decline in quality. *Fertil. Steril.* 65, 1.009-1.014.
- FRY, D. M. & TOONE, T. K. (1981): DDT-induced feminization of gull embryos. *Science* 213, 922-924.
- FÜRST, P.; FÜRST, C.; WILMERS, K. (1991): Bericht über die Untersuchung der Frauenmilch auf polychlorierte Dibenzodioxine, Dibenzofurane, Biphenyle sowie Organochlorpestizide 1984-1991. Chemisches Landesuntersuchungsamt NRW, Münster.
- GUILLETTE, L. J. jr.; GROSS, T. S.; MASSON, G. R.; MATTER, J. M.; PERCIVAL, 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.
- HEINZ, G. H.; PERCIVAL, H. F.; JENNINGS, M. L. (1991): Contaminants in American alligator eggs from Lake Apopka, Lake Griffin, and Lake Okeechobee, Florida. *Environ. Monit. Assess.* 16, 277-85.
- HUNTER, D. J. & KELSEY, K. T. (1993): Pesticide residues and breast cancer: the harvest of a silent spring? (editorial), *J. Natl. Cancer Inst.*; 85, 598.
- HOGAN, M. D.; NEWBOLD, R. R.; McLACHLAN, J. A. (1987): Extrapolation of teratogenic responses observed in laboratory animals to humans: DES as an illustrative example. *Banbury Report* 26, Developmental Toxicology, Mechanisms and Risk. Cold-Spring Harbor Laboratory, 257-269.
- IARC (1987): IARC Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. Overall evaluation of carcinogenicity: an updating of IARC Monographs Vol. 1-42, Suppl. 7.
- IARC (1991): Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. Occupational exposures in insecticide application and some pesticides. IARC, Vol. 53.

- KAVLOCK, R. J.; DASTON, G. P.; DEROSA, C.; FENNER-CRISP, P.; GRAY, L. E.; KAATTARI, S.; LUCIER, G.; LUSTER, M.; MAC, M. J.; MACZKA, C.; MILLER, R.; MOORE, J.; ROLLAND, R.; SCOTT, G.; SHEEHAN, D. M.; SINKS, T.; TILSON, H. A. (1996): Research needs for the risk assessment of health and environmental effects of endocrine disruptors: A report of the U. S. EPA-sponsored workshop. *Environ. Health. Perspect.* 104(Suppl. 4), 715-740.
- KELCE, W. R.; STONE, C. R.; LAWS, S. C.; GRAY, L. E.; KEMPPAINEN, J. A.; WILSON, E. M. (1995): Persistent DDT metabolite p,p'-DDE is a potent androgen receptor antagonist. *Nature* 375, 581-5.
- KORACH, K. S.; SARVER, P.; CHAE, K.; McLACHLAN, J. A.; MCKINNEY, J. D. (1988): Estrogen receptor-binding activity of polychlorinated hydroxybiphenyls: conformationally restricted structure probes. *Molecular Pharmacology* 33, 120-126.
- KRIEGER, N.; WOLFF, M. S.; HIATT, R. A.; RIVERA, M.; VOGELMAN, J.; ORENTREICH, N. (1994): Breast Cancer and serum organochlorines: a prospective study among white, black, and Asian women. *J. Natl. Cancer Inst.* 86, 598-599.
- LEARY, F. J.; RESSEGUIE, L. J.; KURLAND, L. T.; O'BRIAN, P. C.; EMSLANDER, R. F.; NOLLER, K. L. (1984): Males exposed in utero to diethylstilbestrol. *JAMA* 252, 2.984-2.989.
- McLACHLAN, J. A.; NEWBOLD, R. R.; KORACH, K.; HOGAN, M. D. (1987): Risk assessment considerations for the reproductive and developmental toxicity of oestrogenic xenobiotics. In: *Human Risk Assessment: The Roles of Animal Selection and Extrapolation*. ROLOFF, M. V. & WILSON, A. W. (eds), Taylor & Francis Ltd, London, 187-193.
- MUSSALO-RAUHAMAA, H.; HASANEN, E.; PYYSALO, H.; ANTERVO, K.; KAUPPILA, R.; PANTZAR, P. (1994): Occurrence of β -hexachlorocyclohexane in breast cancer patients. *Cancer* 66, 2.125-2.128.
- NIESEEN, K. H.; RAMOLLA, J.; BINDER, M.; BRÜGMANN, G.; HOFMANN, U. (1984): Chlorinated hydrocarbons in adipose tissue of infants and toddlers: inventory and studies on their association with intake of mothers' milk. *Eur. J. Pediatr.* 142, 238-243.
- PARKIN, D. M.; LÄÄRÄ, E.; MUIR, C. S. (1988): Estimates of the worldwide frequency of sixteen major cancers in 1980. *Int. J. Cancer*, 41, 184-197.
- PARKIN, D. M.; MUIR, C. S.; WHELAN, S. L.; GAO, Y. T.; FERLAY, J.; POWELL, J. (eds) (1992): *Cancer Incidence in Five Continents, Vol. VI*, IARC, Sci. Publ. No 120, IARC, Lyon, France.
- PAULSEN, C. A.; BERMAN, N. G.; WANG, C. (1996): Data from men in greater Seattle area reveals no downward trend in semen quality: further evidence that deterioration of semen quality is not geographically uniform. *Fertil. Steril.* 65, 1.015-1.020.
- PURDOM, C. E.; HARDIMAN, V.; BYE, V.; ENO, N. C.; TYLER, C. R.; SUMPTER, J. P. (1994): Estrogenic effects of effluents from sewage treatment works. *Chem. Ecol.* 8, 275-285.
- ROBISON, A. K.; SCHMIDT, W.; STANCEL, G. M. (1985): Estrogenic activity of DDT: estrogen-receptor profiles and the responses of individual uterine cell types following o,p'-administration. *J. Toxicol. Environ. Health*, 16, 493.
- SAFE, S. & KRISHNAN, V. (1995): Chlorinated hydrocarbons: estrogens and antiestrogens. *Toxicology Letters* 82/83, 731-736.
- SCHÄFER, W. R.; ZAHRADNIK, H. P.; FRIJUS-PLESSSEN, N.; SCHNEIDER, K. (1996): Anthropogene Substanzen mit unerwünschter Östrogenwirkung. *Umweltmedizin* 1, 35-42.
- SCHRÖTER, C.; PARZEFALL, W.; SCHRÖTER, H.; SCHULTE-HERMANN, R. (1987): Dose-response studies on the effects of α -, β - and γ -hexachlorocyclohexane on putative preneoplastic foci, monooxygenases, and growth in rat liver. *Cancer Res.* 47, 80-88.
- SCHULTE-HERMANN, R.; MARIAN, B.; BURSCHE, W. (1994): Tumorpromotion. In: *Lehrbuch der Toxikologie*, MARQUARDT, H. & SCHÄFER, S. G. (eds), Wissenschaftsverlag, Leipzig, Wien, Zürich, 148-177.
- SHARPE, R. M. & SKAKKEBÆK, N. F. (1993): Are oestrogens involved in falling sperm counts and disorders of the male reproductive tract. *Lancet* 341, 1.392.
- SOTO, A. M.; SONNENSCHNEIN, C.; CHUNG, K. L.; FERNANDEZ, M. F.; OLEA, N.; SERRANO, F. O. (1995): The E-SCREEN assay as a tool to identify estrogens: an update on estrogenic environmental pollutants. *Environ. Health. Perspect.* 103 (Suppl 7), 113-22.

- STEVENS, J. T.; BRECKENRIDGE, C. B.; WETZEL, L. T.; GILLIS, J. H.; LUEMPERT L.G. III; ELDRIDGE, J. C. (1994): Hypothesis for mammary tumorigenesis in Sprague-Dawley rats exposed to certain triazine herbicides. *Environ. Health* 43, 139-153.
- TURAN, A (1995): Umweltchemikalien mit endokriner Wirkung. Fachgespräch, Berlin, 9.-10. 3. 1995, Umweltbundesamt, Texte 65, 16-21.
- UNGER, M.; KIAER, H.; BLICHERT-TOFT, M.; OLSEN, J.; CLAUSEN, J. (1984): Organochlorine compounds in human breast fat from deceased and without breast cancer and in a biopsy material from newly diagnosed patients undergoing breast surgery. *Environ. Res.* 34, 24-28.
- WASSERMANN, M.; NOGUEIRA, D. P.; TOMATIS, L.; MIRRA, A. P.; SHIBATA, H.; ARIE, G.; CUCOS, S.; WASSERMANN, D. (1976): Organochlorine compounds in neoplastic and adjacent apparently normal breast tissue. *Bulletin of Environmental Contaminations & Toxicology* 15, 478-484.
- WETZEL, L. T.; LUEMPERT, L.G. III; BRECKENBRIDGE, C. B.; TISDEL, M. O.; STEVENS, T.; THAKUR, A. K.; EXTROM, P.; ELDRIDGE, J. C. (1994): Chronic effects of atrazine on estrus and mammary tumor formation in female Sprague-Dawley and Fischer 344 rats. *J. Toxicol. Environ. Health*, 43, 169-182.
- WHO (1993): Polychlorinated Biphenyls and Terphenyls (2nd ed.), Environmental Health Criteria 140, World Health Organization, Geneva.
- WILCOX, A. J.; BAIRD, D. D.; WEINBERG, C. R.; HORNSBY, P. P.; HERBST, A. L. (1995): Fertility in men exposed prenatally to diethylstilbestrol. *N. Engl. J. Med.* 332, 1.411-1.415.
- WOLFF, M. S.; TONIOLO, P. G.; LEE, E. W.; RIVERA, M.; DUBIN, N. (1993): Blood levels of organochlorine residues and risk of breast cancer. *J. Natl. Cancer Inst.* 85, 648-652.
- WOLFF, M. J. & TONIOLO, G. T. (1995): Environmental organochlorine exposure as a potential etiologic factor in breast cancer. *Environ. Health. Perspect.* 103 (Suppl 7), 141-145.

VERFAHREN ZUR BESTIMMUNG VON ÖSTROGENER AKTIVITÄT VON UMWELTCHEMIKALIEN

A. Jungbauer

Institut für Mikrobiologie, Universität für Bodenkultur, Wien

1 EINTEILUNG DER HORMONE UND AKTIVIERUNG DES ÖSTROGENREZEPTORS

Eine Dekade nach der Entdeckung des Östrogens durch Butenandt und Westphal hat man nach der Ursache der Infertilität von Schafen gesucht, die auf Kleefeldern in Westaustralien geweidet haben. Der östrogene Effekt von Isoflavonen wurde dafür verantwortlich gemacht (Bennet et al., 1946; Bradbury and White, 1951). Heute ist anerkannt, daß Substanzen, die nicht steroiden Charakter haben, auch wie Steroidhormone wirken können (Barnes and Peterson, 1995). Bevor man auf die Analytik der östrogenen Aktivität eingeht, sollte die Substanzklasse, sowie das Wesen der östrogenen Aktivität definiert werden. Man muß zwischen Hormonen, Vitaminen und Neurotransmittern unterscheiden. Hormone sind Botenstoffe, die den Zellstoffwechsel, die Entwicklung sowie die Reproduktion regulieren. Vitamine sind in der Regel nicht körpereigene Substanzen, die als Kofaktoren von Enzymen wirken. Vitamin D kann auch als Hormon aufgefaßt werden. Neurotransmitter wirken an den Synapsen von Neuronen, in einigen Fällen sind auch Hormone daran beteiligt. Die Zuordnung von Substanzen zu einer der obengenannten Klassen ist nicht immer eindeutig möglich. Die Hormone werden allgemein in zwei Klassen eingeteilt, die Klasse I umfaßt die Hormone, die mit einem löslichen Rezeptor reagieren. Die Hormone der II. Klasse arbeiten mit einem Rezeptor, der in der Zellmembran verankert ist (Tabelle 1).

Tab. 1.: Allgemeine Eigenschaften der Hormonklassen.

	Klasse I	Klasse II
Arten	Steroide, Iodothronine, Calcitriol, Vitamin D	Polypeptide, Proteine, Glycoproteine, Catecholamine
Löslichkeit	lipophil	hydrophil
Transportproteine	ja	nein
Plasmahalbwertszeit	lang (Stunden bis Tage)	kurz (Minuten)
Rezeptor	Intrazellulär	Plasmamembran
Mediator	Rezeptor-Hormonkomplex	cAMP, Ca ²⁺ , Metaboliten von komplexen Phosphoinositiden und andere

Östrogen (17 β -Estradiol, Abkürzung E2) und seine Metaboliten Estron und Estriol gehören zur Klasse I. Östrogen wird mit Hilfe von Transportproteinen wie z. B. dem Albumin zur Zelle befördert. Man nimmt an, daß E2 durch Diffusion in die Zelle gelangt. Dort bindet es an den Östrogenrezeptor, der aktiviert wird und in Folge in den Zellkern wandert und dort an eine bestimmte DNA-Sequenz bindet. Diese DNA-Sequenz ist am Promotor des Zielgenes lokalisiert und wird Hormonresponseelement (HRE) genannt. Durch das Binden an das HRE wird die Transkription vom Zielgen reguliert. Der Vorgang vom Binden des Hormons an den Rezeptor bis zum Binden des Rezeptors an das HRE wird als Aktivierung bezeichnet (Wen and McDonnell, 1995). Dieser Vorgang ist sehr komplex und seine molekularen Grundlagen sind

noch nicht vollständig aufgeklärt. Eine schematische Darstellung dieses Vorganges findet man in Abbildung 1. Eine Substanz, die an den Hormonrezeptor bindet muß *per se* keine hormonelle Wirkung entfalten. Erst wenn die Substanz den Rezeptor zu aktivieren vermag, wird ihr hormonelle Aktivität zugewiesen. Eine Substanz, die die Aktivierung eines Rezeptors inhibiert wird Antihormon genannt.

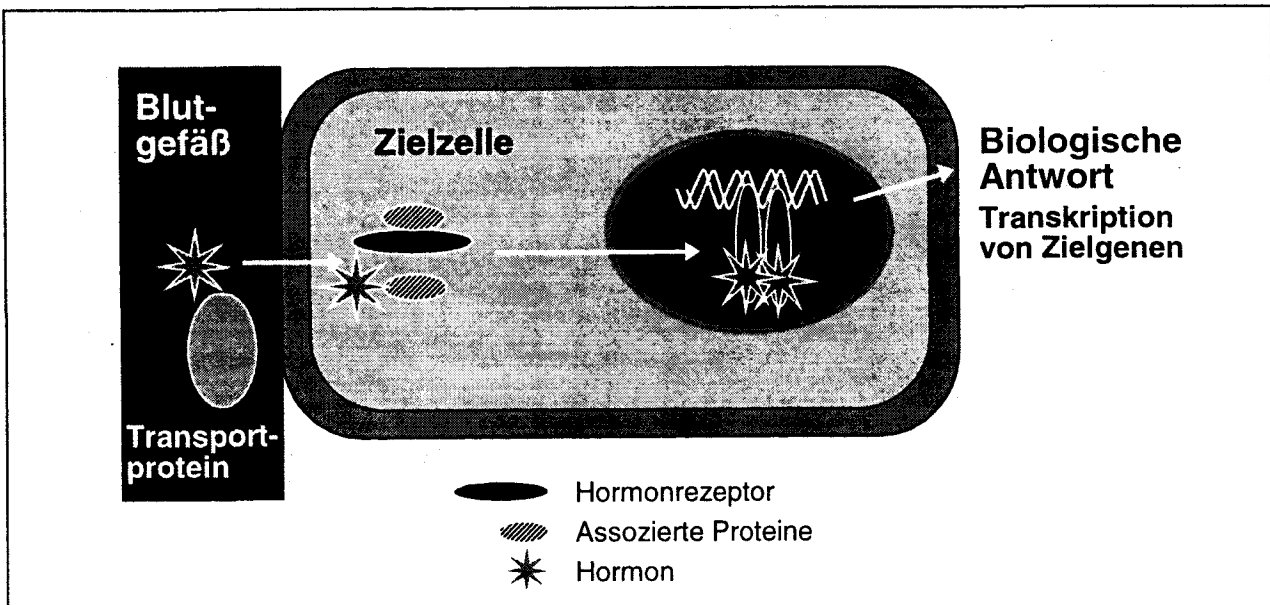


Abb. 1: Schematische Darstellung der Aktivierung eines Steroidhormones. Der Rezeptor liegt inaktiv gebunden an Hitzeschockproteinen im Cytosol vor. Nach dem Binden des Hormones werden die Begleitproteine abdissoziiert und der Rezeptor wandert in den Zellkern. Im Falle des Östrogenrezeptors bindet ein Dimer an das Hormonresponseelement.

2 EINTEILUNG DER TESTSYSTEME NACH DEM GRAD IHRER KOMPLEXIZITÄT

Die molekularbiologischen Vorgänge, die zur Messung der östrogenen Aktivität herangezogen werden, dienen zur Einteilung der Testsysteme (Tabelle 2). Wie bereits aus dem vorigen Kapitel ersichtlich ist, ist die chemische Natur alleine kein Maß für die östrogene Aktivität. Desto mehr Information aus dem molekularbiologischen Vorgang der Rezeptoraktivierung zur Analyse der Hormonaktivität herangezogen wird, desto spezifischer wird die Aussage.

Tab. 2.: Bestimmung und Monitoring von Steroidhormonaktivität.

Test	Hormonaktivität
Chemische Analyse von Steroiden	nein
Ligandenbindungstest mit dem entsprechenden Rezeptor:	
Radioimmunoassay (RIA)	nein
Rezeptoraffinitätschromatographie	nein
Zellkulturtests mit hormonsensitiven Zellen	ja
Rekonstitution der Rezeptoraktivierung mit Reporterplasmiden	ja
Tierversuche	ja

Die elegantesten Testsysteme sind die Tests mit Reporterplasmiden. In der Vergangenheit wurden immer Tierversuche eingesetzt, um hormonelle Wirkung von Substanzen zu identifizieren und zu bestätigen. Die Testsysteme mit Reporterplasmiden können diese Versuche teilweise ersetzen.

3 LIGANDENBINDUNGSTESTS

Bei den Ligandenbindungstests wird die Bindung einer Substanz an den Rezeptor gemessen (Wittliff, 1987). Die Umkehr dieses Tests ist in der klinischen Diagnostik zur Entscheidung über die Anwendung einer Hormontherapie bei Brustkrebs sehr weit verbreitet. Der Ligandenbindungstest für das Monitoring von endokrinen Umweltmodulatoren basiert auf der Verdrängung von radioaktiv markiertem Hormon. Als Standard kann das natürlich vorkommende Hormon, dessen Bindungskonstante bekannt ist, verwendet werden. Es läßt sich eine Aussage über die Bindungsfähigkeit einer unbekannten Substanz in bezug auf das Hormon machen (Abbildung 2).

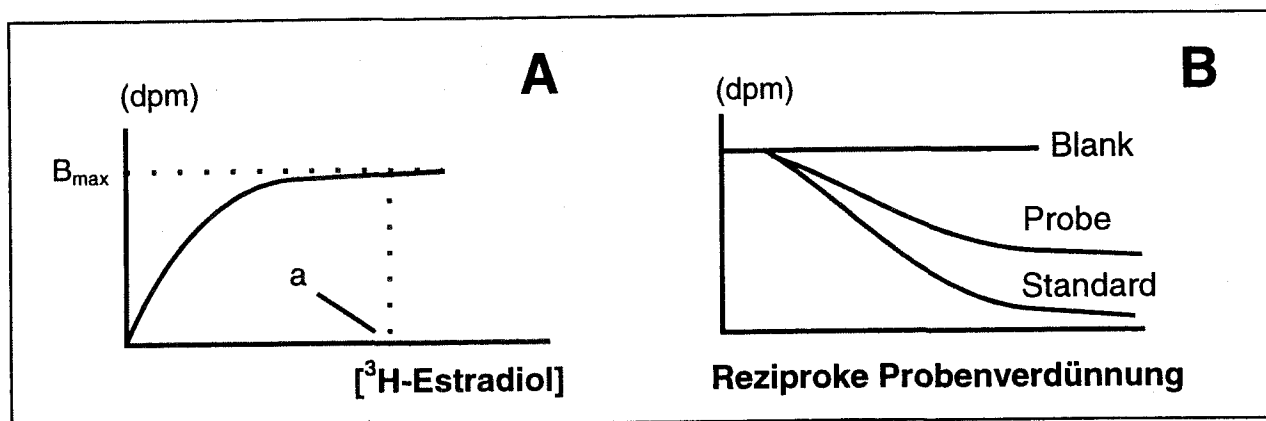


Abb. 2: Der Ligandenbindungstest, wie er in der klinischen Diagnostik eingesetzt wird, ist in (A) dargestellt. Es werden unterschiedliche Konzentrationen an radioaktiv markiertem E2 mit der Probe in Verbindung gebracht. Nach Entfernung von überschüssigem E2 wird die Radioaktivität gemessen. Der Wert B_{max} entspricht der Rezeptorkonzentration. Im Umweltmonitoring kann eine konstante Menge Rezeptor mit radioaktiven E2 und der Probe zur Reaktion gebracht werden. Je geringer die gemessene Radioaktivität desto stärker hat die unbekannte Probe E2 vom Rezeptor verdrängt (B).

Nachteile der Ligandenbindungstests sind die Verwendung radioaktiv markierter Substanzen sowie seine limitierte Aussagekraft in bezug auf echte Hormonaktivität. Die Rezeptoraffinitätschromatographie funktioniert ähnlich, es werden zwar keine radioaktiven Substanzen benötigt, jedoch erlaubt die Analyse auch nur bedingte Rückschlüsse auf die Hormonaktivität.

4 ZELLKULTURTESTS

Hormonabhängige tierische Zellen können auch zum Monitoring von Umweltöstrogenen verwendet werden. Das Wachstum der Zellen im Vergleich zu einem bekannten Hormon wird als Maß für die Hormonaktivität herangezogen. Im Bereich der Östrogene eignen sich Brustkrebszellkulturen, die sehr oft E2 abhängig sind. Man kann zur Bestimmung der Aktivität eine Endpunktmethode oder eine Methode, die die Wachstumsrate mißt, zur Quantifizierung heranziehen. Die Endpunktmethode erlaubt ein rasches Screening, aber das analytische Fenster ist sehr gering. Die kinetischen Methoden sind zeitaufwendiger, aber es lassen

sich mehr und fundiertere Aussagen über eine Probe machen. Eine lange Verzögerungsphase weist unter Umständen auf eine toxische Substanz in der Probe hin, die das Wachstum der Zellen beeinflusst. Eine solche Probe kann dann bei einer Endpunktsbestimmung falsch negativ sein. Tierische Zellkultur ist sehr empfindlich auf bakterielle Endotoxine, was beim Einsatz in Umweltanalytik zu berücksichtigen ist.

5 REPORTERPLASMIDSYSTEME

Reporterplasmidsysteme simulieren den Aktivierungsmechanismus eines Hormonrezeptors (Abbildung 1), indem man auf einem Expressionsplasmid das Rezeptorgen lokalisiert hat; auf einem zweiten Plasmid hat man das HRE und ein Reportergen (Abbildung 3). Dieses Reportergen ist zweckmäßigerweise ein Enzym, wie z. B. β -Galaktosidase, das ein chromogenes Substrat umsetzen kann (Lyttle et al., 1992; Graumann et al., 1996). Dieses Reportersystem kann auch in Hefe (*Saccharomyces cerevisiae*) kloniert werden, weil viele Steroidhormonrezeptoren dort funktionieren (Metzger et al., 1988). Die Begleitproteine, die am inaktiven Rezeptor sitzen sind sehr konserviert.

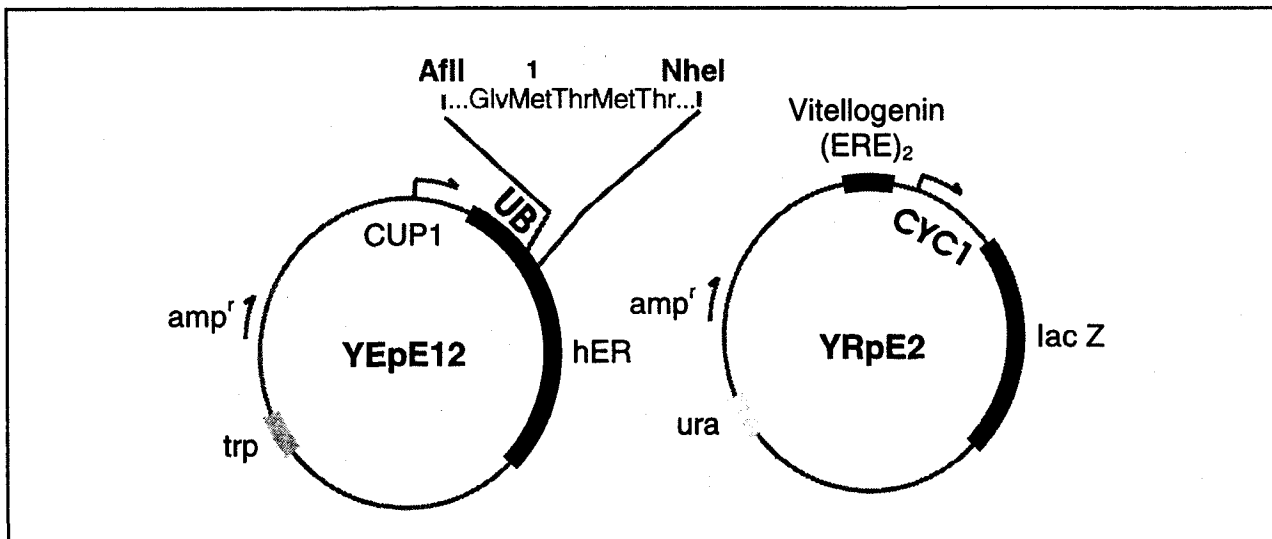


Abb. 3: Das Expressionsplasmid (YEpE12) hat einen kupferinduzierbaren Promotor (CUP1) zur Expression des humanen Östrogenrezeptors. Wird der Rezeptor aktiviert, bindet er an das ERE am Reporterplasmid (YRpE2) und induziert die Transkription vom lac Z Gen (β -Galaktosidase), das dann in weiterer Folge translatiert wird. Die Konzentration an β -Galaktosidase ist ein Maß für die Konzentration von Substanzen, die den Rezeptor zu aktivieren vermögen (Graumann et al., 1996).

Für rasche Screeningzwecke kann eine Oberflächenkultur durchgeführt werden. Die rekombinanten Hefen werden dann in Gegenwart des Farbstoffes X-Gal kultiviert. Bei Expression von β -Galaktosidase verfärben sich die Hefekolonien blau. Für quantitative Studien ist eine Suspensionskultur vorzuziehen. Die Enzymaktivität kann dann nach dem Aufschluß der Zellen photometrisch gemessen werden.

Solche Reporterplasmide können auch in tierische Zellen kloniert werden (Miksicek, 1994). Es gelten aber die genannten Nachteile bezüglich der Sensitivität auf andere toxische Bestandteile in Proben.

Ein großer Vorteil der Reporterplasmidsysteme ist ihre hohe Empfindlichkeit. Je nach Aktivität der Substanz kann von diesen noch eine Konzentration von 100 pmol nachgewiesen werden. Im Testansatz liegen 500 fMol vor.

6 TIEREXPERIMENTE

Tierexperimente sind *per se* nicht geeignet um endokrine Umweltmodulatoren zu testen. Sie wurden zu Studien über Einflüsse von Phytoöstrogenen auf die Entwicklung eingesetzt (Whitten et al., 1995). Transgene Tiere, denen bestimmte Gene, die zur Funktion des Rezeptors als notwendig erachtet werden, deletiert wurden, erlauben eine genaue Einsicht in den Mechanismus der hormonellen Stimulation (Korach, 1994), denn viele Substanzen wirken nicht nur auf einen Rezeptor, sondern auf mehrere (Cato et al., 1992).

7 ZUSAMMENFASSUNG

Zur Bestimmung von östrogenen Aktivität stehen eine Reihe von Methoden unterschiedlicher Komplexität zur Verfügung. Wichtig ist, daß Teile des biologischen Ablaufes, der durch ein Hormon oder eine hormonaktive Substanz induziert wird, im Testansatz simuliert wird. Man kann die Hormonrezeptorbindung einsetzen, aber auch die Induktion von bestimmten Genen messen, indem man die Wanderung des Hormonrezeptors vom Cytosol in den Zellkern simuliert. Da man die grundlegenden molekularbiologischen Vorgänge der Rezeptoraktivierung kennt, dürften diese Systeme große Zukunft haben.

8 LITERATUR

- BARNES, S. & PETERSON, T.G. (1995): Biochemical Targets of the isoflavone genistein in tumor cell lines. *Proceedings Society Experimental Biology and Medicine* 208: 103-108.
- BENNETS, H. W.; UNDERWOOD, E. W.; SHIER, F. L. (1946): A specific breeding problem of sheep on subterranean clover pasture in Western Australia. *Aust. Vet.J.* 22: 2-12.
- BRADBURY, R. B. & WHITE, D. E. (1951): The chemistry of subterranean clover. Part I. Isolation of formonoetin and genistein. *J. Chem. Soc.* 3.447-3.449.
- CATO, A. C. B; KÖNIG, H.; PONTA, H.; HERLICH, P. (1992): Steroids and growth promoting factors in the regulation of expression of genes and gene networks. *J. Steroid Biochem. Molec. Biol.* 43: 63-68.
- GRAUMANN, K.; WITTLIFF, J. L.; RAFFELSBERGER, W.; MILES, L.; JUNGBAUER, A.; BUTT, T. R. (1996): Structural and functional analysis of N-terminal point mutants of the human estrogen receptor. *J. Steroid. Biochem. Molec. Biol.* In press.
- KORACH, K. S. (1994): Insights from the study of animals lacking functional estrogen receptor. *Science* 226: 1.524-1.527.
- LYTTLE, R. D.; DAMIAN-MATSUMURA, P.; JUUL, H.; BUTT, T. R. (1992): Human estrogen receptor regulation in a yeast model system and studies on receptor agonists and antagonists. *J. Steroid. Biochem. Molec. Biol.* 42: 667-685.
- METZGER, D.; WHITE, J. H.; CHAMBON, P. (1988): The human oestrogen receptor functions in yeast. *Nature* 334: 31-36.
- MIKSICEK, R. J. (1994): Interaction of naturally occurring Nonsteroidal Estrogens with expressed recombinant estrogen receptor. *J. Steroid. Biochem. Molec. Biol.* 49: 153-160.
- WEN; D.X. & MCDONNELL, D.P. (1995): Advances in our understanding of ligand activated nuclear receptors. *Current Opinion in Biotechnology* 6: 582-589.
- WHITTEN, P. L.; LEWIS, C.; RUSSEL, E.; NAFTOLIN, F. (1995): Potential adverse effects of phytoestrogens. *J. Nutrition* 125: 771S-776S.
- WITTLIFF, J. L. (1987): Steroid hormone receptors. In PESCE, A. J. & KAPLAN, L. A. (eds), *Methods in Clinical Chemistry*. The C.V. Mosby Company, St. Louis, MO, 767-795.

UMWELTCHEMIKALIEN MIT HORMONELLER WIRKUNG

Christa Gottschalk

Umweltbundesamt, Berlin, FG II 1.3

1 EINLEITUNG

Die im Rahmen des Umweltschutzes betriebene Wirkungsforschung sieht ihren Schwerpunkt vor allem in der Feststellung und Ermittlung toxischer Phänomene, die auf der Grundlage gut sichtbarer Kriterien an praktisch geeigneten Indikator-Organismen ermittelt werden. Weitergehende biologische Untersuchungen werden bei ökotoxikologischen Bewertungen von Umweltchemikalien und der Ermittlung unkritischer Schwellenwerte für Einzelstoffe aufgrund der bestehenden Konventionen weitgehend vernachlässigt. Eine Ausnahme bilden krebserzeugende Wirkungen, für die im Rahmen des Gesundheitsschutzes durch internationale Anstrengungen mehr oder weniger befriedigende Analyseverfahren mit weltweit verbindlichem Charakter entwickelt wurden.

Mit der Entwicklung und Ausarbeitung allgemein anerkannter und valider Testmethoden zum Nachweis toxischer Wirkung von umweltrelevanten Stoffen, wurden zwar auch Methoden zur Untersuchung reproduktionstoxischer Wirkungen entwickelt, die Bewertungskriterien waren jedoch weitgehend auf den unmittelbaren Reproduktionserfolg gerichtet und weniger auf die Absicherung einer störungsfreien Entwicklung und der Überlebenschancen auch nachfolgender Generationen.

Die in jüngster Zeit neu entfachten Diskussionen um die Möglichkeit hormoneller Wirkeigenschaften von vielfach bereits ubiquitär verbreiteten chemischen Substanzen der verschiedensten Art, haben dazu geführt, daß die Aufmerksamkeit der Ökotoxikologen auch auf die vielfältigen biologischen Steuerungsvorgänge bei Organismen gerichtet wurde, die durch die Anwesenheit dieser Fremdstoffe erheblich gestört werden können, ohne daß die üblicherweise einsetzbaren standardisierten und validierten Testmethoden deutliche Hinweise für Fehlentwicklungen liefern.

Es ist zwar eine grundlegende Erkenntnis, daß alle Lebens- und Stoffwechselvorgänge bei biologischen Organismen durch ein wohlabgestimmtes System von Strukturelementen biogenen Ursprunges, dem sogenannten Endokrinium, gesteuert werden und daß auch unter natürlichen Umweltbedingungen durch Zufallsereignisse der verschiedensten Art Fehlentwicklungen nie auszuschließen sind. In vielen Fällen sind solche Abweichungen von der „Norm“ sogar als Strategie zur Verbesserung der Überlebenschancen einzelner Arten in Anpassung an bestimmte Umweltbedingungen eingesetzt worden. Die aus der Entwicklungsgeschichte der Arten bekannten Fälle sind jedoch das Ergebnis einer langwierigen Evolution, deren Zielsetzung in einer auf Selbsterhaltung gerichteten Artenvielfalt besteht.

Die durch anthropogene Aktivitäten auf Dauer in die Umwelt eingebrachten chemischen Substanzen stellen, gemessen an entwicklungsgeschichtlichen Zeiträumen, aufgrund ihrer erst kurzen Anwesenheit eine Anpassungshürde dar, deren Bedeutung zum gegenwärtigen Zeitpunkt nicht eingeschätzt werden kann.

Insbesondere Substanzen, die aufgrund geeigneter Stoffeigenschaften von den Strukturelementen der biologischen Systeme als Katalysatoren, Botenstoffe oder Substrate angenommen werden oder durch ihre Anwesenheit die Voraussetzungen für lebenswichtige Folgereaktionen blockieren, stellen deshalb eine Gefahr dar, weil sie entweder wie die biogenen Substanzen selbst bereits auf sehr niedrigen Konzentrationsebenen zu irreversiblen Reaktionen führen können, oder aufgrund von Anreicherungsvorgängen in so hohen Konzentrationen vorkommen, daß die stoffwechseleigenen Reaktionspartner weitgehend verdrängt werden.

2 HORMONELLE STEUERUNGEN

Nahezu alle Abläufe und Funktionen werden bei lebenden Organismen durch ein sich gegenseitig beeinflussendes Reaktionsmuster über eine Vielzahl von spezifischen Hormonen gesteuert. Im Rahmen der genetisch festgelegten Norm werden Hormone wie alle anderen funktionellen Struktureinheiten durch Biosynthese nach Bedarf gebildet und auch wieder abgebaut, wenn sie nicht mehr benötigt werden. Der Bedarf der im Laufe des Lebenszyklusses benötigten Hormone wird durch exogene und endogene Faktoren gesteuert und ist abhängig vom Entwicklungszustand, vom Alter, von Jahres- und Tageszyklen, vom Nahrungsangebot, vom allgemeinen Gesundheitszustand, von den verschiedenen Phasen der Reproduktionszyklen etc..

Während der frühen embryonalen Entwicklung gibt es bei vielen Arten besonders sensible Phasen, in denen ein unausgewogenes Angebot der notwendigen Hormone irreversible Schäden verursachen kann. Als Folge davon können bestimmte Zielorgane oder Körperfunktionen, bei höheren Organismen aber auch lebenswichtige Verhaltensmuster, nur unvollständig oder gar nicht entwickelt werden. Bei langlebigen Arten mit mehrjähriger Juvenilphasen zeigen sich die Auswirkungen solcher Störungen vielfach erst nach Abschluß der Entwicklung, so daß ein Zusammenhang zwischen Ursache und Wirkung nur schwer herzustellen ist.

Kritisch für Lebenslauf von Individuen sowie deren Nachkommenschaft sind bei zweigeschlechtlichen Arten Störungen während der verschiedenen Stufen der geschlechtlichen Differenzierung, da sie je nach dem Schweregrad zu unvollständiger Differenzierung mit Vitalitätsmindernder Auswirkung bis hin zu vollständiger Unfruchtbarkeit führen können.

Die aktuellen Diskussionen über hormonelle Wirkungen von Umweltchemikalien konzentrieren sich deshalb vor allem auf den Teilbereich der **östrogenen** Wirkung und deren Bedeutung für die Embryogenese, die sexuelle Differenzierung bei höher entwickelten Organismen sowie deren Funktion bei der Entstehung hormonabhängiger Krebserkrankungen.

Die Bedeutung östrogenen Wirkungen wird sichtbar durch die Anzahl und Vielfalt der Organe, für deren gesunde Entwicklung während der Embryogenese, sowie deren normaler Funktion während des gesamten Lebenslaufes, neben den anderen Steroidhormonen ein ausgewogenes Angebot an biogenem Östrogen unabdingbar ist.

- Bei **beiden Geschlechtern** sind es: Immunsystem, Niere, Leber, Schilddrüse, Skelett, Gehirn, Nervensystem, äußere Genitalien
- Bei **weiblichen Embryonen** und Organismen sind es: Brustdrüsen, Eileiter, Uterus, Uterusausgang und Vagina
- Bei **männlichen Embryonen** und Organismen sind es: Prostata, Samenkanälchen, Nebenhoden, Hoden.

3 XENO-HORMONE

Seit im Rahmen der Entwicklung und Anwendung von Industriechemikalien Wirkungsfor-schung betrieben wird, gibt es Hinweise darauf, daß Schadstoffe hormongesteuerte Prozesse bei Lebewesen auf vielfältige Art und Weise beeinflussen können. Auch Berichte über direkte hormonanaloge Wirkeigenschaften bestimmter Verbindungen finden sich zahlreich in der Fachliteratur. Veröffentlichungen über östrogene Wirkungen der Chemikalien wie DDT, Methoxychlor oder polychlorierte Biphenyle lassen sich zurückverfolgen bis in die Zeit, bevor sie als Massenchemikalien oder Pestizide breite Anwendungen gefunden haben.

Inzwischen ist die Liste von Stoffen, bei denen hormonanaloge Wirkungen im Tierexperiment oder mit in vitro Tests nachgewiesen wurden recht umfassend. Neben Naturstoffen, zu denen die aus dem Bereich der Landwirtschaft wohlbekannten Phyto- und Mykoöstrogene zählen,

finden sich darunter viele der wirkungsvollen Pestizide sowie typische Industrie-chemikalien, als auch Stoffe, deren Umweltrelevanz von untergeordneter Bedeutung ist (1, 2, 3, 4, 5).

Im Experiment ist die hormonelle Potenz gegenüber den körpereigenen Hormonen, wie Untersuchungen aus der jüngsten Zeit zeigen, vergleichsweise gering. Für Alkylphenole und Bisphenol A wurden mit in vitro Tests relative Wirksamkeiten ermittelt, die um 4 bis 6 Zehnerpotenzen niedriger lagen, als die des natürlichen Östrogens (4, 5, 6, 7, 8, 9).

Für die Einschätzung des Gefährdungspotentials dieser Wirkeigenschaften gegenüber freilebenden Organismen, bedeuten Ergebnisse dieser Art jedoch noch keine Entwarnung. Das gilt insbesondere für Stoffe, die sich in Organismen anreichern, und so in den Geweben leicht physiologisch bedeutsame Konzentrationen erreichen können.

Unter Umweltbedingungen ist weiterhin davon auszugehen, daß verschiedene Umwelt-hormone von den Organismen gleichzeitig aufgenommen werden. Bisher gibt es noch keine gesicherten Erkenntnisse darüber, welche Auswirkungen mehrere verschiedenartige hormon-analoge Einflüsse von Umweltchemikalien auf dem Niveau typischer Umweltbelastungen auf die Funktion biologischer Systeme haben.

Untersuchungen mit gentechnisch veränderten Hefestämmen, die mit einem Humanrezeptor für Östrogen ausgestattet sind, stützen die Hypothese, daß mit Synergismen zu rechnen ist.

Mit diesem Rezeptorbindungs-Modell konnte der Nachweis erbracht werden, daß die geringe östrogene Potenz einer Einzelsubstanz durch die Anwesenheit einer weiteren Verbindung mit östrogener Reaktivität um mehrer Zehnerpotenzen (bis zu Faktoren von 1.000) verstärkt werden kann (10).

Erste Befunde aus europäischen Gewässern liefern Hinweise dafür, daß auch hier bei Fischen Phaenomene wie Verschiebung der Geschlechterverhältnisse und untypische Produktion von Vitellogenin bei männlichen Tieren feststellbar sind, die als hormonelle Fehlsteuerungen gedeutet werden können (11, 12, 13). Beweise für einen direkten Zusammenhang dieser Auswirkungen mit bestehenden Gewässerbelastungen können jedoch ohne weitergehende Untersuchungen und Analysen noch nicht erbracht werden.

Hypothetisch werden dem möglichen Wirkungspotential von Stoffen mit endokrinen Wirkeigenschaften nach eingehenden Literaturrecherchen folgende Effekte zugeschrieben:

beim Menschen:

- Fehlbildungen des Fortpflanzungsapparates und Minderung der Fortpflanzungsfähigkeit, z. B. Hodenhochstand, offene Harnröhre, Endometriose; qualitative und quantitative Beeinträchtigung der Samenproduktion
- Mitwirkung bei der Entwicklung hormonabhängiger Krebsarten wie Hodenkrebs, Brustkrebs
- Minderung der Lernfähigkeit im Säuglingsalter.

bei wildlebenden Arten:

- Veränderungen arttypischer Verhaltensmuster; z. B. verschiedene Vogelarten
- Beeinträchtigung des Immunsystems; z. B. marine Säuger
- Beeinträchtigung der embryonalen Entwicklung; z. B. Amphibien, Vögel, Fische, Säuger
- Fehlbildungen an den Fortpflanzungsorganen; z. B. Reptilien
- Störungen der Fruchtbarkeit; z. B. Säugetiere
- Verschiebungen des Geschlechterverhältnisses; z. B. Fische, Mollusken
- Induktion der Vitellogenese bei männlichen Fischen
- Minderungen der Populationsdichte bei verschiedenen Arten; z. B. Seeforellen, Weißkopfadler, Reptilien, Amphibien.

Tab. 1: Auswahl von Substanzen mit hormoneller Wirkung.

Östrogene Wirkung:	Phytoöstrogene:	Butin, Citral, Coumestrol, Daidzein, Formononetin, Genistein, Luteolin, Naringenin, Panoferol, Quercetin; Tetrahydrocannabinol
	Mykoöstrogene:	Zearalenon
	Pestizide:	Aldrin, Atrazin, Chinalphos, 2,4-Dichlorphenol, Dicophol, DDT, Dieldrin, Endosulfan, Heptachlor, Hexachlorcyclohexan, Chlordecon, Methoxychlor, Mirex, Phosmet, Toxaphen
	Chemikalien:	Alkylphenole (4-Nonylphenol, 4-Octylphenol), Benzophenon, Bis-(2-ethylhexyl)adipat (DEHA) Bisphenol A, Bisphenol A-Dimethacrylat Butylbenzol, t-Butylhydroxyanisol, Nitrotoluol Phenolrot, Phthalate (Butylbenzylphthalat, Di-n-butylphthalat), Polychlorierte Biphenyle Polychlorierte Hydroxybiphenyle
Antiöstrogene Wirkung:	Naturstoffe:	Indol-3-carbinol, Indol [3,2-b] carbazol
	Chemikalien:	Polychlorierte Biphenyle, (koplanare Kongenere) Polychlorierte Dibenzodioxine und Dibenzofurane (PCDD/PCDF) Polycyclische aromatische Kohlenwasserstoffe (PAK)
Androgene Wirkung:		Tributylzinn (indirekte Wirkung)
Antiandrogene Wirkung:		p,p'-DDT, 3,4-Dichloranilin, Vinclozilin
Antithyroide Wirkung:		PCB's

4 FORSCHUNGSLÜCKEN

Trotz langjähriger Warnungen davor, daß Umweltchemikalien auch über endokrine Reaktionsmechanismen der verschiedensten Art gesundheitliche Schäden und Entwicklungsstörungen verursachen können, wurde dieser Thematik keine besondere Aufmerksamkeit gewidmet und vereinzelte Forschungsergebnisse nicht weiter verfolgt.

Erst seit Mitte der neunziger Jahre sind verschiedene Arbeitsgruppen in den USA und Europa dabei, die bisher vorliegenden Erkenntnisse zusammenzufassen und einer wissenschaftlichen Analyse zu unterziehen. In bezug auf die Hypothesen, daß Xeno-Hormone für bestimmte gesundheitliche oder ökologische Schäden mitverantwortlich sind, kommen jedoch alle übereinstimmend zu der Überzeugung, daß die bisher vorliegenden Erkenntnisse nicht ausreichen, um Beweisketten zwischen Wirkungen und Ursachen zu schließen.

Schwerpunkte, die eine zufriedenstellende Bewertung feststellbarer Phaenomene zur Zeit noch verhindern, werden vor allem in folgenden Bereichen gesehen:

- lückenhafte Erkenntnisse über die biologischen Ursachen von Störungen bei der Entwicklung und den zellulären Steuerungsvorgängen, die funktionelle oder anatomische Anomalien der Fortpflanzungsorgane begünstigen
- lückenhafte Erkenntnisse über das gesamte Spektrum von Umwelteinflüssen auf die Entwicklung von Individuen und das Artengefüge und die Bedingungen die Schadstoffeinflüsse begünstigen
- unbefriedigende methodische Ansätze zur Abschätzung tolerierbarer Umweltbelastungen.

Die grundlegenden Fragen der Reaktionsmechanismen von Xeno-Hormonen sind für jeden einzelnen Schadstoff an artspezifischen Organismen zu klären, insbesondere auch im Hinblick auf antagonistische oder synergistische Effekte. Der Stand der Entwicklung geeigneter und valider Testmethoden zur Erarbeitung reproduzierbarer Grunddaten ist noch weitgehend unzureichend. Neben in vitro Testmethoden zur Identifikation hormoneller Wirkeigenschaften von Stoffen werden auch Methoden benötigt, mit denen deren Wirkung in Organismen untersucht werden können.

Unter der Voraussetzung, daß unter Umweltbedingungen eine Vielzahl von Störfaktoren in Betracht kommt, muß insgesamt ein Verfahren entwickelt werden, mit dem der Wirkungsanteil der Xeno-Hormone so klar wie möglich definiert werden kann.

5 FORSCHUNGSSTRATEGIE

5.1 ÖKOTOXIKOLOGIE

Neben der Erforschung der biologischen Grundlagen über Ablauf und Bedeutung der verschiedenen hormonellen Regelkreise bei Organismen werden im Hinblick auf den Umweltschutz folgende Forschungsschwerpunkte als vorrangig angesehen:

- Entwicklung geeigneter Test-Methoden zum Nachweis hormoneller Wirkungen von Stoffen in vitro und in vivo (Rezeptorbindungsmodelle, Tiermodelle)
- Klärung biogener Verteilungsmechanismen, Speicherungsformen und Remobilisierungsbedingungen hormonell wirksamer Stoffe bei Organismen unterschiedlicher Trophiestufen auch im Hinblick auf deren Verbreitung über Nahrungsketten
- Klärung metabolischer und katabolischer Regelkreise hormonell wirksamer Stoffe bei Organismen unterschiedlicher Trophiestufen
- Untersuchung des Einflusses hormonanaloger Stoffe auf die verschiedenen Stufen der individuellen Entwicklung, der Entwicklung nachfolgender Generationen sowie der Populationen
- Entwicklung von Methoden zur Untersuchung antagonistischer, synergistischer oder sonstiger, die Vitalität beeinträchtigenden Wirkungen
- Entwicklung von Verfahren und Methoden zur Feststellung regionaler und überregionaler Belastungssituationen für Stoffe mit hormoneller Wirkung.

Insbesondere durch die Weiterentwicklung von Rezeptorbindungsmodellen, aber auch den Einsatz geeigneter Tiermodelle, wird ein wesentlicher Beitrag zum Verständnis hormonanaloger Wirkzusammenhänge erwartet.

5.2 HUMANTOXIKOLOGIE

Durch verbesserte epidemiologische Untersuchungen und Bilanzierungen der epidemiologisch nachweisbaren Gesundheitsschäden für Populationen mit durchschnittlichen, berufsbedingten und unfallbedingten Belastungen mit hormonell wirksamen Substanzen, sind Klärungen herbeizuführen über:

- Ausmaß und Verbreitung generativer Funktionsstörungen beim Menschen, vor allem in den hochentwickelten Industriestaaten
- Ausmaß und Verbreitung hormonabhängiger Krebsarten
- Ausmaß und Verbreitung von Fehlbildungen an den Fortpflanzungsorganen.

6 FORSCHUNGSPROJEKTE

Vom Bundesministerium für Umwelt, Naturschutz und Reaktorsicherheit in Deutschland werden folgende Forschungsvorhaben durchgeführt:

- Im Rahmen einer Literaturstudie zum Thema „Vorkommen von Substanzen mit östrogenen Wirkung in Oberflächengewässern“ (FKZ-Nr. 102 04 279), soll eine Bilanz der, in deutschen Gewässern und aquatischen Organismen nachweisbaren naturfremden Substanzen mit östrogenen Wirkung, deren wirkungsrelevante Konzentrationsbereiche und deren Verteilung in den verschiedenen Kompartimenten oberirdischer Binnengewässer ermittelt werden, mit der Zielsetzung der Feststellung des Handlungsbedarfes. Neben der Gruppe der Umweltchemikalien sollen auch die im medizinischen und tiermedizinischen Bereich eingesetzten synthetischen Sexualhormone in die Recherchen mit einbezogen werden.
- In einem Vorhaben mit dem Titel „Östrogene und sonstige endokrine Wirkung von Chemikalien auf Organismen und Ökosysteme (Entwicklung einer Test-, Beobachtungs- und Bewertungsstrategie-)“ (FKZ-Nr. 108 03 901), werden bereits bekannte Testmethoden zum Nachweis östrogenen Wirkung von Umweltchemikalien einer Überprüfung und Validierung unterzogen. Das Vorhaben ist in 5 Teilprojekte mit folgenden Themen gegliedert:
 1. „Entwicklung eines in vitro Test-Systems mit einer neuronalen östrogen-sensitiven Zell-Linie.“
 2. „Entwicklung und Erprobung eines in vitro Test-Systems zum Nachweis östrogenen Wirkung von Umweltschadstoffen an **primären** Leberzellen von Forellen.“
 3. „Entwicklung und Erprobung eines in vitro Test-Systems zum Nachweis östrogenen Wirkung von Umweltschadstoffen an **primären** Leberzellen von Karpfen (und Amphibien).“
 4. „Entwicklung und Erprobung eines in vitro Test-Systems zum Nachweis östrogenen Wirkung von Umweltschadstoffen an **permanenten** Leberzellen.“
 5. „Entwicklung und Erprobung eines in vitro Test-Systems zum Nachweis östrogenen Wirkung von Umweltschadstoffen mit einer gentechnisch veränderten Hefe.“
- Hormonelle Wirkungen werden auch im Rahmen eines laufenden F+E-Vorhabens (FKZ-Nr. 106 04 121) zum Thema „Umweltprobleme im Zusammenhang mit Arzneimitteln“ bearbeitet. Aufgabe dieses Vorhabens ist es, eine Übersicht über den Erkenntnisstand zu Umweltproblemen durch Human- und Tierarzneimittel zu geben, sowie Konzepte zur Bearbeitung des ökotoxikologischen Gefährdungspotentials von Arzneimitteln zu bearbeiten.

7 LITERATURANGABEN (Auswahl)

- (1) THIERFELDER, W.; MEHNERT, W. H.; LAUSSMANN, D.; ARNDT, D.; REINEKE, H. H. (1995): Der Einfluß umweltrelevanter östrogenen oder östrogenartiger Substanzen auf das Reproduktionssystem. Bundesgesundheitsblatt, 338-341.
- (2) COLBORN, T.; Vom SAAL, F. S.; SOTO, A. M. (1993): Developmental effects of endocrine-disrupting chemicals in wildlife and humans. Environmental Health Perspectives, 101, 378-384.
- (3) SCHÄFER W. R.; ZAHRADNIK, H. P.; FRIJUS-PLESSSEN, N.; SCHNEIDER, K. (1996): Anthropogene Substanzen mit unerwünschter Östrogenwirkung. Umweltmedizin 1 (1), 35-42.
- (4) JOBLING, S.; REYNOLDS, T.; WRITE, R.; PARKER, M. G.; SUMPTER, J. P. (1995): A variety of environmentally persistent chemicals including some phthalate plasticizers are weakly estrogenic. Environmental Health Perspectives, 103, 582-587.
- (5) SHARPE, R. M.; FISHER, J. S.; MILLAR, M. M.; JOBLING, S.; SUMPTER, J. P. (1995): Gestational and lactational exposure of rats to xenoestrogens results in reduced testicular size and sperm production. Environmental Health Perspectives 103, 1.136-1.143.

- (6) VILLALOBOS, M.; OLEA, N.; BROTONS, J. A.; OLEA-SERRANO, M. E.; RUIZ de ALMODOVAR, J. M.; PEDRAZA, V.: (1995): The E-screen assay: A comparison of different MCF7 cell stocks. *Environmental Health Perspectives* 103, 844-850.
- (7) KRISHNAN, V. A.; STATHIS, P.; PERMUTH, S. F.; TOKES, L.; FELDMAN, D (1993): Bisphenol A – An estrogenic substance is released from polycarbonate flasks during autoclaving. *Endocrinology* 132, 2.279-2.286.
- (8) SOTO, A. M.; JUSTICIA, H.; WRAY, J. W.; SONNENSCHN, C (1991): p-Nonyl-Phenol: An estrogenic substance released from modified polystyrene. *Environmental Health Perspectives* 92, 167-173.
- (9) WHITE, R.; JOBLING, S.; HOARE, S. A.; SUMPTER, J. P.; PARKER, M. G. (1994): Environmentally persistent alkylphenolic compounds are estrogenic. *Endocrinology* 135, 175-182.
- (10) ARNOLD, S. F.; KLOTZ, D. M.; COLLINS, B. M.; VONIER, P. M.; GUILLETTE, jr. L. J.; McLACHLAN, J. A. (1996): Synergistic activation of estrogen receptor with combinations of environmental chemicals. *Science* ,272, 1.489-1.492.
- (11) HARRIES, J. E.; JOBLING, S.; MATHIESSEN, P.; SHEAHAN, D. A.; SUMPTER, J. P. (1995): Effects of trace organics on fish, Phase 2; FR/D 0022, Department of the Environment by the Foundation of Water Research (FWR), London.
- (12) NAGEL, S. C.; THAYER, K. A.; BOECHLER, M.; DHAR, M.; MORELLINI, F.; TAYLOR, J. A.; Vom SAAL, F. S.; WELSHONS, W. V. (1995): An in vitro assay to predict the in vivo activity of environmental estrogens. Abstr., 28th Annual Meeting of the Society for the Study of Reproduction.
- (13) GIES, A. (1996): Umweltbelastungen durch endokrin wirksame Stoffe. *Münchener Beiträge zur Abwasser-, Fischerei- und Flußbiologie*. In Druck.

UMWELTCHEMIKALIEN MIT HORMONELLER WIRKUNG – PROJEKTE, FORSCHUNGSBEDARF UND LÖSUNGSANSÄTZE

Thomas Belazzi

Greenpeace Österreich

1 WIE IST DER HEUTIGE WISSENSSTAND?

"Die Samenqualität des Mannes nahm am Anfang des 21. Jahrhunderts stetig ab, bis schließlich kaum jemand sich noch normal fortpflanzen konnte. Mittlerweile war die Natur fast leer, da die natürlich vorkommenden Tierpopulationen zusammengebrochen waren. Die ersten Zeichen dieser sich anbahnenden Katastrophe wurden in den 90er Jahren des 20. Jahrhunderts festgestellt, aber nur wenige Leute glaubten damals, daß der Schadstoff-Cocktail von hormonell wirksamen Substanzen einen solchen massiven Effekt haben könnte. Also wurde nichts getan – bis es zu spät war."

Dieses furchterregende Szenario wurde von der angesehenen Wissenschaftszeitschrift "New Scientist" 1995 erstellt. (New Scientist, 1995).

Zwei Phänomene können seit einigen Jahren gleichzeitig beobachtet werden. Erstens gibt es immer dichtere Hinweise von Gesundheitsbeeinträchtigungen von Mensch und Umwelt, andererseits steigt die Zahl der als synthetische Hormone identifizierten Chemikalien.

Im Laufe der letzten Jahre erscheinen immer mehr Publikationen über Fortpflanzungsstörungen bei Wildtieren und Menschen. Zu Veröffentlichungen von Alligatoren mit verkrüppelten Sexualorganen (Guillette et al., 1994), Feminisierung von Fischen in englischen Flüssen (Jobling et al., 1995) und Veränderungen im Paarungsverhalten von Seemöven (Fox, 1992, Geisy et al., 1994) erschienen parallel Untersuchungen, die eine Abnahme der menschlichen Sperma-Konzentration und -Qualität (z. B. Carlsen et al., 1992; Auger et al., 1995, Irvine et al., 1996) beschreiben. Außerdem beschreiben sie steigende Raten an Hodenkrebs und genitalen Defekten wie etwa Hodenhochstand (Giwerzman & Skakkebaek, 1992) und steigende Brustkrebserkrankungen bei Frauen (Harris et al., 1992).

Die Schlußfolgerung aus vielen dieser Studien ist, daß vom Menschen in die Umwelt freigesetzte Chemikalien im Verdacht stehen, das Hormonsystem des Menschen bzw. jenes von Tieren zu stören (Dänisches Umweltbundesamt, 1995; Sharpe & Skakkebaek, 1993).

Synthetische Hormone können auf unterschiedliche Weise wirken; Bei jenen, die das Sexualsystem stören, gibt es viele, die das weibliche Hormon Östrogen nachahmen (und damit einen feminisierenden Effekt haben). Andere wirken als Anti-Androgene. Dies führt zu einer Blockierung des männlichen Hormons Testosteron und damit zu einem demasculinisierenden Effekt. (Kelce et al., 1995) Hormon-Disruptoren können auch wirken, indem sie die Produktion von Hormonen verhindern, den Abbau und die Ausscheidung beschleunigen, oder den Abbau und damit die Exkretion stören (Colburn et al., 1996).

Unsere Kinder sind am stärksten gefährdet. Hormonell wirksame Schadstoffe werden von der Mutter über die Plazenta auf den Fötus übertragen (z. B.: Jacobsen et al., 1985; Ando et al., 1986; Kanja et al., 1992; Koopman-Esseboom et al., 1994). Dabei kommt es nicht nur auf die Dosis sondern auch auf den Zeitpunkt der Einwirkung der synthetischen Hormone an.

Am umfassendsten sind die Untersuchungen für östrogene Chemikalien. Diese können die Entwicklung des Fortpflanzungssystems des Kindes beeinträchtigen, wenn sie der Mutter während der kritischen Zeit der Entwicklung des Embryos verabreicht werden. Dies wurde

etwa für das Phthalat BBP (Butyl-benzyl-phthalat) im Tierversuch (Sharpe et al., 1995) oder beim Menschen mit dem Medikament DES (Diethylstilbestrol) gezeigt. Töchter von Müttern, die während der Schwangerschaft DES einnahmen, leiden vermehrt unter einem seltenen Gebärmutterkrebs; Töchter und Söhne von "DES-Müttern" haben Abnormitäten in ihrem Geschlechtstrakt. (Colburn & Clement, 1992).

Tierversuche bei Affen (Mably et al., 1991) wie auch die schädlichen Auswirkungen der DES-Einnahme bei schwangeren Frauen (Colburn et al., 1996) zeigen, daß sogar bereits eine bzw. nur wenige Dosen zur Zeit der Entwicklung des Sexualsystems zu fatalen Folgen für das Ungeborene, etwa reduzierte Fruchtbarkeit, führen können.

Dies sind extrem schwierige Untersuchungen: "Es ist ein großer Alptraum herauszufinden, was los ist, herauszufinden wieviel Östrogen vorhanden ist und welche Konsequenzen dies hat – 50 Jahre wissenschaftliche Forschung ist notwendig (New Scientist, 1995b)

Im Gegensatz zu den natürlichen Körperhormonen können sich einige der synthetischen Hormone über die Nahrungskette anreichern. Während sich natürliche Hormone rasch nach der Überbringung "ihrer Botschaft" abbauen, können die langlebige(re)n künstlichen Hormone über eine viel längere Zeit ihre falschen "Botschaften" aussenden und so wieder und wieder Schaden anrichten. (Allsopp et al, 1995)

Dadurch werden auch nach der Geburt durch die Muttermilch Schadstoffe von der Mutter auf das Kind übertragen. (Hall, 1992) Nach Berechnungen des US-Umweltbundesamtes bekommt das Kind zwischen 4 und 12 % der Gesamt-Lebensbelastung durch das synthetische Hormon Dioxin allein durch das Stillen (US EPA, 1994a/b).

Chemikalien, die als "synthetische Hormone" erkannt sind

(Dänisches Umweltbundesamt 1995, wenn nicht anders angegeben):

- verschiedene **Pestizide**: viele davon chlororganische Pestizide wie etwa DDT, Lindan, 2,4-D, Methoxychlor, Chlordan, Dieldrin, Hexachlorbenzol, Kepon, Dicofol, Kelthan, synthetische Pyrethroide, Triazine (wie etwa Atrazin) (Colburn & Clement, 1992). Pestizid-Abbauprodukte können ebenfalls hormonelle Eigenschaften haben;
- **Polychlorierte Biphenyle (PCBs)**;
- **Dioxine und Furane**: unerwünschtes und unvermeidliches Nebenprodukt vieler chlorchemischer Reaktionen wie etwa der Produktion, Verbrennung und Entsorgung des Chlor-kunststoffs Polyvinylchlorid (PVC) (US EPA, 1994a; Gray et al., 1995);
- **Bisphenol A**: Ein Ausgangsmaterial für die Erzeugung des Kunststoffs Polycarbonat (PC). (Brotons et al., 1995) PC wird für wiederbefüllbare Flaschen (Milchflaschen, Babyfläschchen), Innenbeschichtungen von Konservendosen, Zahnfüllungen, Kreditkarten, u. v. m. verwendet;
- **Alkylphenole**: Abbauprodukte industrieller Waschmittel, Zusatzstoff (etwa als Antioxidans) in Kunststoffen wie PVC und Polyurethan (PU);
- **Phthalate**: Chemische Weichmacher, der hauptsächlich in PVC verwendet werden. So werden etwa 95 % des häufigst produzierten Weichmachers DEHP (2-Di-ethyl-hexyl-phthalat) in PVC-Produkten verwendet. (US HHS, 1993; Meek & Chan, 1994a,b,c; Ema et al, 1994));
- **Butylierte Hydroxyanisole**: etwa Butylhydroxyanisol (E320) wird als Antioxidans in der Lebensmittelindustrie verwendet.

Viele der heute als synthetische Hormone bekannten Chemikalien sind mit der Produktion von Chlor und Chlorverbindungen verbunden. Einige wie 2,4-D, Atrazin, DDT oder Phthalate (letztere über ihren Hauptanwendungsbereich PVC), werden als Produkte "absichtlich" produziert. Dagegen sind andere wie – Dioxine und Furane – unerwünschte Nebenprodukte verschiedenster industrieller Prozesse, welche chlorhaltige Substanzen wie etwa PVC produzieren, verarbeiten oder entsorgen.

Einige dieser synthetischen Hormone sind bereits in vielen Ländern verboten (etwa PCBs, DDT). Andere – wie etwa PVC – werden dagegen weiterhin weltweit – zum Teil mit steigenden Produktionsmengen – erzeugt. So ist etwa PVC wesentlich verantwortlich für drei hormonell wirksame Umweltschadstoffe: Dioxine, Furane und Phthalate.

2 WAS SAGT DIE BETROFFENE INDUSTRIE?

Die Industrie zitiert immer wieder Studien, die belegen sollen, daß andere Faktoren für die publizierten Effekte wie reduzierte Spermiedichte und -qualität verantwortlich sind. Dazu zählen etwa Autofahren und Hitze (AgPU, 1996).

Lifestyle (etwa Streß, hoher Kaffee- und Nikotingenuß) kann tatsächlich ein Faktor für einige Männer sein. (Feichtinger, 1991) Jedoch wäre dies der dominante Faktor, so sollten ältere Männer, die diesen Einflüssen länger ausgesetzt waren, eine niedrigere Spermiedichte haben. Verschiedene Publikationen zeigen aber gerade den umgekehrten Trend, nämlich niedrigere Spermiedichte bei jüngeren Männern (Auger et al., 1995; Irvine et al., 1996)

Weiters zeigten Tierstudien, daß Dioxin (Mably et al., 1992a, b, c), Octylphenol, DES, BBP (Sharpe et al., 1995) die Spermiedichte reduzieren. Lifestyle kann aber bei Tieren wohl nicht wirklich als relevanter Faktor angesehen werden.

Hormonell wirksame Substanzen, im speziellen chlororganische Verbindungen, werden auch mit einer steigenden Zahl von Fortpflanzungsproblemen bei Wildtieren und auch in Laborversuchen in Verbindung gebracht. Im Juli 1991 lud die US-Wissenschaftlerin Theodora Colburn 20 Wissenschaftler zu einem Workshop ein, um die gemeinsamen Untersuchungen zu diskutieren. Zu aller Überraschung erkannten die anwesenden Wissenschaftler, daß sie alle Auswirkungen von Industriechemikalien auf das Hormonsystem von Fischen, Vögeln und Säugetieren beobachteten. Sie formulierten ein Konsens-Statement, das sogenannte Wing-spread Statement, das wie folgt begann: (Colburn & Clement, 1992):

"Wir sind von folgenden Dingen überzeugt:

"Eine große Zahl von vom Menschen hergestellter Chemikalien, die in die Umwelt freigesetzt werden, und einige wenige natürliche, haben das Potential, das Hormonsystem von Tieren und Menschen zu stören. Unter diesen sind persistente, bioakkumulierende chlororganische Verbindungen, darunter einige Pestizide (Fungizide, Herbizide, Insektizide) und Industriechemikalien, andere synthetische Produkte, und einige Metalle."

"Viele Wildtier-Populationen sind durch diese Substanzen betroffen. Die Auswirkungen inkludieren Thyroid-Fehlfunktion in Vögeln und Fischen; reduzierte Fruchtbarkeit bei Vögeln, Fischen, Muscheln und Säugetieren; reduzierte Paarungserfolge bei Fischen, Vögeln und Schildkröten; schwere Geburtsdeformationen bei Fischen, Vögeln und Schildkröten; metabolische Veränderungen bei Fischen, Vögeln, und Säugetieren; Verhaltensstörungen bei Vögeln; Entmännlichung und Verweiblichung bei männlichen Fischen, Vögeln und Säugetieren; Entweiblichung und Vermännlichung von weiblichen Fischen und Vögeln und gestörte Immunsysteme bei Vögeln und Säugetieren."

Es ist derzeit nicht möglich, einzelne Chemikalien direkt mit speziellen Effekten in Verbindung zu bringen. Es sind wahrscheinlich mehrere Faktoren, inklusive Lifestyle, die neben Umweltschadstoffen mitverantwortlich sind. Jedoch belegen verschiedene Studien, daß hormonstörende Substanzen mitbeteiligt sind, und weiters, daß Dioxine und Phthalate diese Effekte prenatal auslösen können (Mably et al., 1992c; Sharpe et al., 1995).

3 WAS MUSS AUS SICHT VON GREENPEACE GESCHEHEN?

Die Hormonforscherin Dr. Theodora Colburn brachte es in ihrem jüngst erschienen Buch "Our Stolen Future" auf den Punkt, in dem sie forderte: "Unsere Kinder haben ein Recht, ohne Einfluß von Fremdchemikalien ("chemikalienfrei") geboren zu werden" (Colburn et al., 1996).

Um dies langfristig zu erreichen sind folgende Schritte unablässig:

1. Vorsorgeprinzip anwenden

Definition des Vorsorgeprinzips:

"Das Vorsorgeprinzip, nach dem vorsorgliche Maßnahmen zu treffen sind, ist anzuwenden, wenn es die begründete Annahme gibt, daß Substanzen oder Energien, welche direkt oder indirekt das marine Ökosysteme beeinflussen, Gefahren für die menschliche Gesundheit, Meereslebewesen bzw. das marine Ökosystem insgesamt darstellen könnten, Schäden, die andere legitime Benützigungen des Meeres beeinträchtigen könnten, selbst wenn noch kein abschließender Beweis für einen kausalen Zusammenhang zwischen dem Eintrag und dem Effekt besteht."

Diese, von der Oslo-Paris-Kommission (Meereskonvention zum Schutz des Nordostatlantiks) verwendete Definition des Vorsorgeprinzips beschreibt anschaulich, daß kein abschließender Beweis für vorsorgendes Handeln notwendig ist. Wie wichtig dieses Prinzip ist, zeigen die nun einsetzenden Folgeschäden der globalen Ozonschichtzerstörung, wo zwischen hinreichenden Beweisen und effektivem Handeln viel zu viel Zeit verging.

Das Vorsorgeprinzip anwenden bedeutet auch ein Ende für die "Unschuldsvermutung für Chemikalien". Die heutige Situation zeigt nur allzu deutlich, wie gefährlich diese ist. Millionen von Tonnen an Chemikalien, deren hormonelle Wirksamkeit bereits bekannt ist, werden jährlich weltweit produziert und freigesetzt bzw. entstehen als "Nebenprodukte" industrieller Aktivitäten. Sehr beunruhigend ist, daß ein Großteil von den "Altchemikalien" noch gar nicht auf ihre hormonellen Eigenschaften untersucht wurde.

2. "Es gibt keine sichere Dosis!"

Dies ist eine der zentralen Erkenntnisse über die hormonellen Eigenschaften vieler Chemikalien.

Viele der heute gültigen gesetzlichen Regelungen zum Schutz der menschlichen Gesundheit basieren auf Risikoabschätzungen, welche eine "sichere Dosis" für einzelne Chemikalien festzulegen versuchen – eine Dosis die keine "inakzeptablen Schäden" in Form eines klar identifizierbaren Krankheitsbildes wie etwa Krebs hervorruft. Dies ist – so zeigen die niederen Wirkstoffkonzentrationen von hormonell wirksamen Substanzen – ein gefährlicher Ansatz.

Gesetzgeber und Industrie müssen akzeptieren, daß es für viele heute produzierte Chemikalien keine "sichere Dosis" gibt. Heute sind nur wenige von den zehntausenden Chemikalien auf ihre das Hormonsystem störenden Eigenschaften untersucht (Dänisches Umweltbundesamt 1995).

3. Strategien zur Reduktion der heute bekannten Hauptverursacher der hormonellen Verschmutzung unserer Umwelt

- a) **Reduktion – mit dem Ziel eines Ausstiegs – der Pestizid-Anwendung:** Pestizide und Pestizid-Abbauprodukte sind der zahlenmäßig größte Anteil an den heute bekannten synthetischen Hormonen.
- b) **Globales Phthalat-Verbot** wie dies etwa in Schweden angekündigt ist. (Schweden, 1995) Phthalate sind mit einer jährlichen, globalen Produktion von mehreren Millionen Tonnen jene Produktgruppe von synthetischen Hormonen mit der mengenmäßig größten Produktion.

Besonders betroffen davon wäre der Phthalat-Hauptverbraucher PVC. Phthalate sind chemische Weichmacher, die hauptsächlich in PVC verwendet werden. So werden etwa 95 % des am häufigsten produzierten Weichmachers DEHP (2-Di-ethyl-hexyl-phthalat) in PVC-Produkten verwendet. (US HHS, 1993). Etwa 3,2 Millionen Tonnen Phthalate werden jährlich produziert (DTI, 1996). Phthalate sind in der Umwelt omnipräsent (UBA Berlin, 1994).

- a) **Dioxin/Furan-Reduktionsplan:** Dieser kann nur erfolgreich sein, wenn an der "Quelle"; dem Chloreintrag, angesetzt wird (Stichwort: "Ausstieg aus der Chlorchemie"). (Stringer et al., 1995) PVC- und Chloraromaten-Lebenszyklus und Dioxin-Emissionen erzeugende Technologien (z. B. Verbrennungsanlagen aller Art, Sinteranlagen, Chlor-Zellstoffbleiche) sind einige der wesentlichen Dioxin-/Furan-Quellen (z. B.: Wagner & Green, 1993; Wilken 1994; Fluthwedel & Pohle, 1993; Angrick & Bat, 1994; UBA Berlin, 1994b).
- b) **Globales PCB-Produktions- und Verwendungsverbot** und ordnungsgemäße (dioxin- und furanfreie!) Entsorgung von existierenden PCB-Beständen
- c) **Produktions- und Verwendungsstop für alle jene Chemikalien** (z. B.: Alkylphenole, BHA, Bisphenol A), für die – nach der Definition des Vorsorgeprinzips – hinreichende Beweise einer hormonellen Aktivität vorhanden sind.

4. Rasche Identifikation weiterer hormonell wirksamer Chemikalien unter den Altchemikalien

Da es sich bei den heute bekannten synthetischen Hormonen mit Sicherheit nicht um alle hormonell wirksamen Chemikalien handelt, ist zur Abwehr weiterer Schäden eine rasche Identifikation aller hormonell wirksamen Substanzen dringend erforderlich.

4 LITERATUR

- ALLSOPP, M.; COSTNER, P.; JOHNSTON, P. (1995): Body of evidence: The effects of chlorine on human health, Greenpeace International, Mai 1995. ISBN 187/532 28 0.
- ANDO, M.; SAITO, H.; WAKISAKA, I. (1986): Gas chromatographic and mass spectrometric analysis of polychlorinated biphenyls in human placenta and cord blood. *Environmental Research*. 41, 14-22.
- ANGRICK, M. & BAT, R. (1994): German EPA research programme on production and processing facilities for steel and iron, präsentiert anlässlich der UTECH 94, Februar 1994.
- ARBEITSGEMEINSCHAFT PVC UND UMWELT E.V. (1996): Beeinträchtigung männlicher Fruchtbarkeit, Original Text Service Presseausendung, 14. Februar 1996.
- AUGER, J.; KUNTSMANN, J. M.; CZYGLIK, F.; JOUANNET, P. (1995): Decline in semen quality among fertile men in Paris during the past 20 years. *New Eng. J. Med.* 332(5), 281-285.
- CARLSEN, E.; GIWERCMAN, A.; KEIDING, N.; SKAKKABÆK, N. E. (1992): Evidence for decreasing quality of semen during past 50 years. *Brit. Med. J.* 305, 609-613.
- COLBORN, T. & CLEMENT, C. (1992): Statement from the work session on: Chemically-induced alterations in sexual and functional development: the wildlife/human connection: *Advances in Modern Environmental Toxicology*, Volume XXI, Princeton Scientific Publishing Co. Inc. ISBN 0-911131-35-3.
- COLBORN, T.; DUMANOSKI, D.; MYERS, J. P. (1996): Our Stolen Future – Are we threatening our fertility, intelligence and survival? A Scientific Detective Story, March 1996, Penguin Group, ISBN 0-525-93982-2.
- DÄNISCHES UMWELTBUNDESAMT (1995): Male Reproductive Health and Environmental Chemicals with Estrogenic effects. Miljöprojekt No. 290.

- DANISH TECHNOLOGICAL INSTITUTE (1996): Environmental Aspects of PVC. Dänisches Umweltministerium und Umweltbundesamt, Environmental Project Nr. 313.
- EMA, M.; KURASOKA, R.; AMANO, H.; OGAWA, Y. (1994): Embryoethality of butyl benzyl phthalate during early pregnancy in rats. *Reprod. Toxicol.* 8(3), 231-236.
- EVERS, E. (1989) De vorming van PCDFs, PCDDs en gerelateerde verbindingen bij de oxychlorering van etheen. Vakgroep Milieu en Toxicologische Chemie report MTC89EE, Universität Amsterdam.
- FEICHTINGER, W. (1991): Environmental factors and fertility, *Human reproduction* 6(8), 1.170-1.175.
- FLUTHWEDEL & POHLE (1993): Bildung von polychlorierten Dioxinen und Furanen nach thermischer Belastung chlororganischer Produkte und Naturstoffe, Umweltbundesamt Berlin, *Nachr. Chem Tech. Lab* 41, Nr. 10.
- FOX, G. A. (1992): Epidemiological and pathological evidence of contaminant induced alterations in Sexual and Functional Development: The Wildlife/Human connection. Princeton Scientific Publishing Co., Inc. Princeton, New Jersey: 147-158.
- GEISY, J. P.; LUDWIG, J.; TILLITT, D. E. (1994): Deformities in birds of the Great Lakes region. *Environ. Sci Technol.* 28 (3), 128-135.
- GIWERCMAN, A. & SKAKKAB EK, N. E. (1992): The Human Testis – an organ at risk? Editorial: *Int. J Andrology* 15, 373- 375.
- GRAY, L. E. jr.; KELCE, W. R.; MONOSSON, E.; OSTBY, J. S.; BIRNBAUM, L. S. (1995): Exposure to TCDD during development permanently alters reproductive function in male Long Evans rats and hamsters: reduced ejaculated and epididymal sperm numbers and sex accessory gland weights in offspring with normal androgenic status. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 131, 108-118.
- GUILLETTE, L. J.; GROSS, T. S.; MASSON, G. R.; MATTER, J. 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. *Environmental Health Perspectives.* 102 (9), 680-688.
- HALL, R. H. (1992): A new threat to public health: Organochlorines and food. *Nutrition and Health.* 8, 33-43.
- IRVINE, S.; CAWOOD, E.; RICHARDSON, D.; MACDONALD, E.; AITKEN, J. (1996): Evidence for deteriorating semen quality in the United Kingdom: birth cohort study in 577 men in Scotland over 11 years. *Brit. Med J.* 312, 467-471.
- JACOBSON, J. L.; FEIN, G. G.; JACOBSON, S. W.; SCHWARTZ, P. M.; DOWLER, J. K. (1985): The effect of interuterine PCB exposure on visual recognition memory. *Child Development* 56, 853-860.
- JOBLING, S., REYNOLDS, T., WHITE, R., PARKER, M.G. & SUMPTER, J.P. (1995): A variety of environmentally persistent chemicals, including some phthalate plasticizers, are weakly estrogenic. *Environ. Health Persp.* 103(6), 582-587.
- KELCE, W. R.; STONE, C. R.; LAWS, S. C.; GRAY, L. E.; KEMPPAINEN, J. A.; WILSON, E. M.; (1995): Persistent DDT metabolite pp-DDE is a potent androgen receptor antagonist. *Nature* Vol. 375, 581-585.
- KANJA, L. W.; SKAARE, J. U.; OJWANG, S. B. O.; MAITAI, C. K. (1992): A comparison of organochlorine pesticide residues in maternal adipose tissue, maternal blood, cord blood, and human milk from mother/infant pairs. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 22, 21-24.
- KOOPMAN-ESSEBOOM, C.; HUISMAN, M.; WEISGLAS-KUPERUS, N.; Van der PAAUW, C. G.; TUNISTRA, L. G. M. Th.; BOERSMA, E. R.; SAUER, P. J. J. (1994): PCB and dioxin levels in plasma and human breast milk of 418 Dutch women and their infants. Predictive value of PCB congener levels in maternal plasma for fetal and infant's exposure to PCBs and dioxins. *Chemosphere* 28(9), 1.721-1.732.
- MABLY, T. A.; MOORE, R. W.; BJERKE, D. L.; PETERSON, R. E. (1991): The male reproductive system is highly sensitive to in utero and lactational TCDD exposure. Banbury Report 35: Biological Basis for Risk Assessment of Dioxins and Related Compounds. Publ: Cold Spring Harbour Laboratory Press. ISBN 0-87969-235-9/91.

- MABLY, T. A.; MOORE, R. W.; PETERSON, R. E. (1992a): In utero and lactational exposure of male rats to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin. 1. Effects on androgenic status. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 114, 97-107.
- MABLY, T. A.; MOORE, R. W.; PETERSON, R. E. (1992b): In utero and lactational exposure of male rats to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin. 2. Effects on sexual behaviour and the regulation of luteinizing hormone secretion in adulthood. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 114, 108-117.
- MABLY, T. A.; MOORE, R. W.; PETERSON, R. E. (1992c): In utero and lactational exposure of male rats to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin. 3. Effects on spermatogenesis and reproductive capability. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 114, 118-126.
- MEEK, M. E. & CHAN, P. K. L. (1994a): Bis(2-ethylhexyl)phthalate: Evaluation of risks to health from environmental exposure in Canada. *Environ. Carcino. Ecotox. Revs.* C12(2), 179-194.
- MEEK, M. E. & CHAN, P. K. L. (1994b): Di-n-butyl phthalate: Evaluation of risks to health from environmental exposure in Canada. *Environ. Carcino. Ecotox. Revs.* C12(2), 257-268.
- MEEK, M. E. & CHAN, P. K. L. (1994c): Di-n-octyl phthalate: Evaluation of risks to health from environmental exposure in Canada. *Environ. Carcino. Ecotox. Revs.* C12(2), 319-326.
- NEW SCIENTIST (1995): Some of our sperm are missing, 26. August 1995, 23-25.
- NEW SCIENTIST (1995a): Some of our sperm are missing, Zitat von Dr John Sumpter, Brunel University, 26. August 1995, 23-25.
- SHARPE, R. M.; FISHER, J. S.; MILLAR, M. M.; JOBLING, S.; SUMPTER, J. P. (1995): Gestational and lactational exposure of rats to xenoestrogens result in reduced testicular size and sperm production. *Environ. Health Persp.* 103(12), 2-9.
- SHARPE, R. M. & SKAKKABÆK, N. E. (1993): Are oestrogens involved in falling sperm counts and disorders of the male reproductive tract? *The Lancet* 341, 1.392-1.395.
- SW EPA (1995): South West Environmental Protection Agency, 1995. *Environmental Poisoning and the Law*. ISBN 0 951 6073 1 6.
- STRINGER, R. L.; COSTNER, P.; JOHNSTON, P. A. (1995): PVC-Manufacture as a Source of PCDD/Fs. *Organohalogen Compounds* 24, 119-123.
- SCHWEDEN (1995): Schwedisches Parlamentsausschuß für Landwirtschaft und Chemie, 1995, Bericht Nr. 1995/6: JoU8, PVC.
- UBA BERLIN (1994a): Bewertung der Umweltbelastungen durch Di(2-ethylhexyl)phthalate-DEHP, Dezember 1994.
- UBA BERLIN (1994b): Dioxinmissionen aus Holzfeuerungsanlagen, Presseaussendung Nr 13/94, 23. Februar 1994.
- US EPA (1994a): Health Assessment Document for 2,3,7,8- Tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) and Related Compounds. Volume II. Review Draft. EPA/600/BP-92/001b.
- US EPA (1994b): Estimating exposure to dioxin-like compounds, Vol II, properties, sources, occurrence and background exposures. Review Draft. EPA/600/6-88/005CB, Juni 1994.
- US HHS (1993): US Department of Health and Human Services, DEHP, Toxicological Profile, April 1993.
- WAGNER, J. C. & GREEN, A. E. S. (1993): "Correlation of chlorinated organic compound emissions from incineration with chlorinated organic input", *Chemosphere* 26(11), 2.039-2.054.
- WILKEN, M. (1994): Dioxinmissionen aus Feuerungsanlagen, insbesondere aus Holzfeuerungsanlagen, ITU GmbH, im Auftrag des Umweltbundesamts Berlin, präsentiert anläßlich der UTECH Berlin 1994.

ZUSAMMENFASSUNG UND SCHLUSSFOLGERUNGEN

R. Sattelberger, A. Riss

Umweltbundesamt, Wien

1 ZUSAMMENFASSUNG

Daß Xenobiotika die hormonelle Kontrolle der Fortpflanzung von Mensch und Tier beeinflussen können, ist wissenschaftlich unstrittig. Die Diskussionen in Wissenschaft und Forschung über hormonelle Wirkungen von Xenobiotika konzentrieren sich derzeit auf die östrogene Wirkung und deren Auswirkungen auf die Fortpflanzungsfähigkeit von Mensch und Tier.

Für Hasso SEIBERT ist die Östrogenhypothese nur ein Ansatzpunkt. Die Hypothese besagt, daß Fruchtbarkeitsstörungen und hormonabhängige Tumorerkrankungen eine gemeinsame Ursache haben und diese in einer erhöhten pränatalen Exposition gegenüber Östrogen besteht. Der Referent ist der Meinung, daß die meisten Fragen zur Annahme oder Ablehnung dieser Hypothese noch völlig offen sind.

Ca. 150 Stoffe sind bis jetzt als endokrin wirksam erkannt worden. Besonders die aquatische Umwelt ist ein Lebensraum, der von möglichen negativen Auswirkungen von Xeno-Hormonen besonders betroffen ist, meint Petra STAHLSCHEIDT-ALLNER. Dies gilt auch für alle Organismen, die am Ende von Nahrungsketten stehen, wie Mensch, Meeressäuger und Seevögel.

Für Petra STAHLSCHEIDT-ALLNER sind folgende Substanzen vordringlich zu beachten und von großer Umweltrelevanz:

- Ethinylöstradiol (östrogene Komponente der oralen Kontrazeptiva)
- Lipidsenker (z. B. Clofibrat, Arzneimittel zur Senkung erhöhter Blutlipide)
- Pestizide, insbesondere Phenylharnstoffderivate und deren Abbauprodukte 3,4-Dichloranilin
- Alkylphenole (Abbauprodukte industrieller Detergentien)
- Phthalate (Weichmacher in Kunststoffen insbesondere PVC)
- Pflanzliche Sterole (z. B. β -Sitosterol) in Abwässern von naturstoffverarbeitenden Betrieben (z. B. in der Papier-, Zellstoffindustrie).

Das Fazit Ihres Vortrages: „Zur langfristigen Sicherstellung der Trinkwasserressourcen und zum Schutz der humoralen Koordination der menschlichen Entwicklung und der Fertilität ist in Anbetracht der niedrigen Wirkschwellen von endokrintoxischen Fremdstoffen jedwede Kontamination der Oberflächengewässer mit endokrinwirksamen Xenobiotika zu vermeiden“.

Ausführlich wurde auch das Thema „Ethinylestradiol“ während des Symposiums behandelt. Hermann SCHWEINFURTH führte eine vorläufige ökotoxikologische Risikobewertung für dieses Xeno-Hormon durch. Die geschätzte Konzentration von Ethinylestradiol in Fließgewässern beträgt $\leq 0,1$ ng/l. Als empfindlichste Spezies erwies sich die Regenbogenforelle. Es ist jedoch zu beachten, daß bereits in einem Konzentrationsbereich von 0,1 bis 0,5 ng/l ein Anstieg der Vitellogeninsynthese bei männlichen Regenbogenforellen beobachtet wurde. Vitellogenin ist ein Vorläufer des Dotterproteins, dessen Bildung physiologischerweise nur in der Leber weiblicher Tiere durch Estradiol induziert wird. Da aussagekräftige Daten aus Langzeitstudien (z. B. Life-cycle Studien) noch fehlen, ist eine umfassende Risikoabschätzung für Wasserorganismen derzeit noch nicht möglich. Für Menschen besteht nach Meinung von Hermann SCHWEINFURTH (z. B. durch eine etwaige Kontamination des Trinkwassers mit Ethinylestradiol) nach den bisherigen Befunden keine Gefahr.

Peter FRIGO präsentierte eigene Meßergebnisse von Ethinylestradiol im Abwasser der Stadt Wien. Die Analyse zeigte eine durchschnittliche Konzentration von $24,33 \pm 2,15$ pg/l Ethinylestradiol im Zulauf der Kläranlage. Im Ablauf war Ethinylestradiol nicht mehr nachweisbar.

Wilfried BURSCH gab einen Überblick zum Thema „Krebsrisiko und Xeno-Hormone“. Zusammenfassend stellte der Referent fest, daß ein durch Umwelt-Östrogene begründetes Risiko für den Menschen weder als gegeben angesehen noch ausgeschlossen werden kann. Hieraus ergibt sich die Notwendigkeit weiterer Untersuchungen, um das bislang recht geringe Wissen auf diesem Gebiet zu vergrößern.

Einen besonders vielversprechenden Ansatz zur Bestimmung der östrogenen Aktivität von Xeno-Hormonen präsentierte Alois JUNGBAUER. In diesem Verfahren (Reporterplasmidsystem) werden rekombinante Hefen verwendet. Es zeichnet sich durch eine hohe Empfindlichkeit aus und stieß bei vielen Teilnehmern des Symposiums auf großes Interesse.

Hans PUSCH zeigte in seinem Referat auf, daß die Ursache für männliche Fruchtbarkeitsstörungen ein multifaktorielles Geschehen ist, bei dem zahlreiche Noxen beteiligt sind. Der dramatische Rückgang der Spermatozoendichte im männlichen Samen ging bemerkenswerterweise mit einer kontinuierlichen Absenkung der Normwerte für die Spermatozoendichte einher. 1951 wurde in der medizinischen Literatur der Normalwert mit 120 Mill.Sp./ml angegeben, während die WHO im Jahre 1989 einen Grenzwert von 20 Mill.Sp./ml festlegte. Eine systematische Ursachenerforschung wäre daher dringend erforderlich, betonte Hans PUSCH.

Gunter SCHULTES referierte in seiner prospektiven Studie über den Einfluß von Pestiziden auf die männliche Fertilität von Obst- und Weinbauern. Sein Resümee: „Die spezifische Exposition der Obst- und Weinbauern gegenüber Pflanzenschutz- und Schädlingsbekämpfungsmitteln dürfte der alleinige Grund für die Einschränkung der Fertilität sein. Ergebnisse anderer Arbeitsgruppen führen zu ähnlichen Schlüssen.“

Christa GOTTSCHALK berichtete über laufende Forschungsprojekte in Deutschland und über die zukünftigen Forschungsstrategien im Bereich der Ökotoxikologie und Humantoxikologie.

Aus der Sicht von Thomas BELAZZI, Vertreter von Greenpeace, wären folgende Beurteilungsstrategien und globale Maßnahmen zur Lösung des Umwelthormonproblems erforderlich:

- Vorsorgeprinzip anwenden
- Internationale Reduktionsstrategien für persistente Chemikalien entwickeln (z. B. globales Phthalat- und PCB-Verbot)
- Rascheste Identifikation der hormonell wirksamen Chemikalien unter den „Altchemikalien“
- Prinzip der „sicheren Dosis“ ist für die Risikobewertung von Xeno-Hormonen nicht anwendbar.

2 SCHLUSSFOLGERUNGEN

Insgesamt wären aufgrund der im Symposium gewonnen Erkenntnisse folgende Maßnahmen und Forschungsvorhaben für Österreich vordringlich:

- ⇒ Entwicklung von validen Bioassays zur Testung von Umweltproben (Wasser, Sedimente, Klärschlamm, Boden) auf hormonelle, insbesondere östrogene Aktivität
- ⇒ Erhebung der regionalen Belastungssituationen mit endokrin wirksamen Stoffen und Identifizierung dieser Substanzen (Expositionsanalyse)
- ⇒ Bei positivem Nachweis Ausforschung und Erfassung der Verursacher (z. B. kommunale Kläranlagen, Industrie, Landwirtschaft)
- ⇒ Epidemiologische Untersuchungen über Ausmaß und Verbreitung hormonabhängiger Krebsarten, von Fehlbildungen an Fortpflanzungsorganen und von Fruchtbarkeitsstörungen beim Menschen
- ⇒ Mitwirkung bei der Erhebung der ökotoxikologischen Relevanz und der Umwelteigenschaften wie z. B. Persistenz, Bioakkumulation, aquatische Toxizität bestimmter Xeno-Hormone (Wirkungsanalyse)
- ⇒ Mitwirkung bei der Entwicklung eines internationalen Beurteilungskonzeptes für die Risikobewertung (Risikocharakterisierung)
- ⇒ Mitwirkung bei der Entwicklung von Teststrategien zur Prüfung und Screening von neuen Chemikalien und „Altchemikalien“ auf hormonelle Wirkung
- ⇒ Verstärkte internationale Koordination und Kooperation der auf diesem Gebiet laufenden Projekte, vor allem bei Forschungsvorhaben in Europa, da hier oft dieselben Problemstellungen vorliegen.

ANHANG A – MEDIENREAKTIONEN ***APA (Austria Presse Agentur)**

Umweltchemikalien mit hormonell wirksamen Substanzen: Eine Gefahr, 23.04.1996

ORF (Österreichischer Rundfunk Fernsehen)

Ö1 (MORGENJOURNAL-Nachrichtenjournal): 25.04.1996 **

Ö3 (HELP-Konsumentenjournal): Synthetische Hormone, 28.07.1996

ORF2 (Willkommen Österreich): Phthalate in Lebensmitteln, 20.09.1996 **

Tageszeitungen:

KURIER: Chemikalien verändern das Hormonsystem, 29.04.1996

STANDARD: „Pille“ kann Forellen schaden, 24.04.1996
Sperma wird immer schlechter, 11.05.1996

DIE PRESSE: Transsexuelle Schnecken, verweiblichte Fische, 27.04.1996

SALZBURGER NACHRICHTEN: Erdbeeren: Früchte mit Hormonen, 16.08.1996
Wenn Forellen die „Pille“ schlucken, 31.07.1996

Wochenzeitungen:

DIE FURCHE: Hormone in der Umwelt: Gefahr für den Menschen?, Nr. 32/8.08.1996

Umweltjournale:

UMWELTSCHUTZ: Machen uns Umweltchemikalien unfruchtbar?, Nr. 11/96 **

* Abdruck auszugsweise und unkommentiert

** nicht abgedruckt

APA553 5 CI 0292

23. Apr 96

Umwelt/Chemie/Gesundheit/Österreich

Umweltchemikalien mit hormonell wirksamen Substanzen: Eine Gefahr

Utl.: Von der Störung des Sexualsystems bis zum Brustkrebs – Rasche Identifikation erforderlich =

Wien (APA) – Unfruchtbare Bauern, Störungen des Sexualsystems und auch Brustkrebs – dies alles könnte nicht zuletzt auf die Wirkung sogenannter synthetischer Hormone zurückzuführen sein. Aus diesem Grund veranstaltete das Umweltbundesamt zum Thema "Umweltchemikalien mit hormoneller Wirkung" am Montag und Dienstag ein Symposium, dessen Erkenntnisse heute, Dienstag, bei einer Pressekonferenz in Wien präsentiert wurden. Vor allem eine rasche Identifikation aller hormonell wirkenden Substanzen sei erforderlich, betonte der Thomas Bellazzi von Greenpeace, einer der Referenten. ****

Eine ganze Reihe von Umweltchemikalien ist bereits als hormonell wirkend identifiziert. Dazu zählen Pestizide – wie zum Beispiel DDT – und chlorierte organische Verbindungen. Bekannt ist auch, daß synthetische Hormone auf verschiedene Weise wirken können. Einige ahmen das weibliche Östrogen nach und wirken so feminisierend. Andere blockieren als Anti-Androgene das männliche Testosteron und haben so demasculisierende Effekte. Auch die Produktion von Hormonen kann verhindert, ihr Abbau und die Ausscheidung beschleunigt oder gestört werden.

"Es besteht Handlungsbedarf", betonte Alarich Riss vom Umweltbundesamt. "Bestimmte Teilaspekte müssen überprüft werden." Das Hauptaugenmerk ist dem Experten zufolge darauf zu legen, in welchen Konzentrationen hormonell wirkende Substanzen tatsächlich Einfluß auf den Organismus nehmen und ob sie tatsächlich in solchen Konzentrationen in Umlauf, sprich in die Nahrungskette gelangen.

Für den Greenpeace-Chemiker Bellazzi ist klar: Es muß das Vorsorgeprinzip gelten. Dies bedeutet, daß entsprechende Maßnahmen auch dann zu treffen sind, wenn kein abschließender Beweis für die Schädlichkeit einer Substanz vorhanden sind. Die Unschuldsvermutung für Chemikalien dürfe nicht mehr gelten, so Bellazzi. Ebenso gebe es "keine sichere Dosis". Risikoabschätzungen, in welchen Konzentrationen keine "inakzeptablen Schäden" in Form eines klar identifizierbaren Krankheitsbildes wie etwa Krebs auftreten, seien ein gefährlicher Ansatz, betonte der Greenpeace-Experte.

(Schluß) gu/km

APA553 1996-04-23/16:31

ORF-HELP: 28.07.96

Synthetische Hormone 1 Rumpold

Mod Chemikalien mit hormonähnlicher Wirkung sind in der Umwelt weit verbreitet. Häufig handelt es sich um Produkte der Chlorchemie. So fallen viele Pflanzenschutzmittel in diese Kategorie, auch PCB-Verbindungen und Ausgangsmaterialien ~~von~~ Kunststoffen, wie Bisphenol A oder Alkylphenole. Diese synthetischen Hormone sind möglicherweise für eine Reihe von Störungen und Erkrankungen verantwortlich:

1 Die Fortpflanzungsfähigkeit bei Menschen und Tieren nimmt ab; die Spermienqualität wird zunehmend schlechter; Hoden- und Brustkrebserkrankungen nehmen zu, auch Fälle von Hodenhochstand und Harnröhrenspalten.

2 Vieles deutet auf Störungen im hormonellen Regelkreis hin.

OT 1 Alle diese Krankheiten stehen in engem Zusammenhang mit Hormonwirkungen und den Regelungsfunktionen dieser Geschlechtshormone.

1 Allerdings, so meint Mag. Alarich Riss vom Umweltbundesamt einschränkend:

OT 2 Damit ist die Ursache noch nicht definiert, es ist eine Hypothese, daß man sagt, daß auch Umweltchemikalien bei diesen Entwicklungen eine Rolle spielen könnten.

Mod Die Hypothese wird durch neue Untersuchungsergebnisse, die jüngst in der Zeitschrift "Science" veröffentlicht wurden, erheblich unterstützt.

1 Wissenschaftler von der Tulane University in Alabama bestrichen männliche Schildkrötenembryonen mit dem Geschlechtshormon Östrogen und erzielten damit bei einigen Exemplaren eine Geschlechtsumwandlung.

2 Als sie dasselbe mit einer PCB-Verbindung versuchten, passierte nichts. Mit der Kombination zweier verschiedener PCB-Verbindungen war es aber ebenfalls möglich, Geschlechtsumwandlungen bei einigen Embryonen herbeizuführen.

1 Zu den in Österreich bereits verbotenen PCB-Verbindungen meint Mag. Riss:

OT 3 Das sind die Polychlorierten Biphenyle, die als Hydrauliköle verwendet wurden in Kondensatoren, natürlich in Abfällen immer noch vorhanden sind und immer noch in die Umwelt verbreitet werden weil sie einfach vorhanden sind in Produkten.

Synthetische Hormone 2 Rumpold

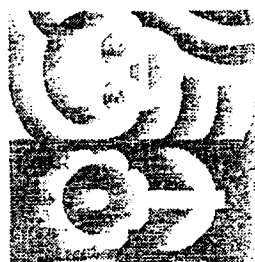
- 2 Um die Wirkungen östrogenähnlicher Substanzen besser verfolgen zu können, verwendeten die amerikanischen Wissenschaftler ein neues Testsystem.
- 1 Hefezellen, denen das Gen für den Östrogen-Rezeptor eingeschleust worden war. Denn Östrogene und östrogenähnliche Substanzen können ihre Wirkung nur dann entfalten, wenn sie an einen Rezeptor andocken.
- 2 4 verschiedene Pestizide, und zwar Endosulfan, Dieldrin, Toxaphen und Chlordan, wurden so auf ihre hormonelle Wirkung hin untersucht und zwar nicht nur die Einzelsubstanz, sondern auch Kombinationen der 4 Pflanzenschutzmittel.
- 1 Wieder zeigte sich, daß durch die Einzelsubstanzen die Östrogen-Rezeptoren kaum aktiviert wurden.
- 2 Bei den Kombinationen zeigte sich ein ganz anderes Bild. Endosulfan und Dieldrin gemeinsam zeigten, verglichen mit den beider Einzelsubstanzen eine 1000fach verstärkte Wirkung.
- 1 Untersuchungen mit verschiedenen PCB-Verbindungen, einzeln und in Kombination, bestätigten, ^{die Hypothese} daß weniger bestimmte Einzelsubstanzen, sondern vielmehr die Kombination verschiedenster, **hormonell** wirkender Chemikalien diverse Störungen im Hormonhaushalt **verursachen**.
- 2 ~~Diese~~ Wirkungen sind schon bei geringen Dosen zu beobachten.
- 1 Einen Mangel an synthetischen Hormonen gibt es in der Umwelt sicher nicht. Denn die meisten bisher bekannten Substanzen zeichnen sich auch noch durch schwere Abbaubarkeit und extreme Langlebigkeit aus.
- Mod Die Befunde der amerikanischen Wissenschaftler liefern ~~erstmal~~ ^{geringe Spuren} erstmals eine plausible Erklärung dafür, wie ~~kleine Dosen~~ von östrogenähnlichen Verbindungen störend in den menschlichen oder tierischen Hormonhaushalt einwirken können.
- OT 4 Das Ausmaß, welche Wirkungen wirklich auf sogenannte Umweltchemikalien zurückzuführen sind, ist nicht abschätzbar zur Zeit. Wie gesagt, in dem Fall gilt meiner Meinung nach im besonderen Maß der Vorsorgegrundsatz,

KURIER

Montag, 29. April 1996

LEBEN

21



Chemikalien verändern das Hormonsystem

UMWELT

Diskussion um hormonell wirksame Stoffe / Schutzmaßnahmen gefordert

In der Nähe einer Kunststoff-Fabrik in Florida schwimmen Alligatoren mit verkrüppelten Sexualorganen. In englischen Flüssen fand man männliche Fische mit deutlich weiblichen Merkmalen. Eine Untersuchung dänischer Schweifer zeigt: Die Samenqualität der Arbeiter, die mit hochlegierten Stählen (Nirosta) hantieren, ist deutlich vermindert.

Chemiker äußern bereits seit einigen Jahren den Verdacht: Die Veränderungen im Organismus ergeben sich aus der Wirkung sogenann-

ter synthetischer Hormone. Dazu zählen verschiedene Pesti-, Herbi-, Fungi- und Insektizide, aber auch Industriechemikalien wie zum Beispiel Trichlorethylen.

„Es besteht Handlungsbedarf“, so Alarich Riss vom Umweltbundesamt bei einer Tagung in Wien. Zu prüfen sei, in welchen Konzentrationen die auf das Hormonsystem wirkenden Substanzen den Organismus tatsächlich verändern.

Im Umweltbundesamt schätzt man die Zahl der Substanzen, die das Hormon-

system bei Tieren und Menschen verändern können, auf 50 bis 150. Als gesichert gilt, daß einige der synthetischen Hormone die Eigenschaft besitzen, das weibliche Östrogen nachzuahmen. Andere blockieren als Anti-Androgon das männliche Testosteron. Außerdem können sie den Abbau und die Ausscheidung verschiedener Hormone beschleunigen oder auch stören.

Neben Fertilitätsstörungen könnten die „Umwelt-hormone“ auch Brust-, Hoden- und Prostatakrebs beim

Menschen auslösen, so der Wiener Ökologe Norbert Sattlerberger. Der Kieler Toxikologe Seibert hält dagegen die „Östrogenhypothese“ im Moment für nicht mehr als „eine interessante Diskussionsgrundlage“. Greenpeace-Chemiker Thomas Bellazzi fordert in jedem Fall „Schutzmaßnahmen, auch dann, wenn noch kein abschließender Beweis für die Schädlichkeit einer Substanz vorliegt“. Einig sind sich die Experten, daß weitere Studien dringend notwendig sind.

Uwe Mauch

MITTWOCH, 24. APRIL 1996

WISSENSCHAFT

DER STANDARD 9

„Pille“ kann Forellen schaden

Umweltchemikalien mit hormoneller Wirkung bereiten wachsende Sorgen

Jürgen Langenbach

Wien – „Der Eintrag von Xeno-Östrogenen in Flüsse erreicht Werte, die biologisch wirksam werden und männliche Forellen teilweise weiblichen können“, warnte der Kieler Toxikologe Hasso Seibert am Montag auf einer Tagung des Umweltbundesamtes (UBA) über „Substanzen mit endokriner Wirkung“.

Das sind Stoffe, die keine natürlichen Hormone sind, aber so wirken wie sie, und im Verdacht stehen, in der Natur einiges durcheinander zu bringen: Da gibt es Alligatoren mit verkümmerten Penis, Schnecken mit Imposen – die ganze Population wird männlich –, gestörte Fertilität bei Säugern inklusive Menschen. „50 bis 150 endokrin wirksame Substanzen sind derzeit bekannt“, bilanziert Alarich

Riss (UBA): Die Palette reicht von ganz natürlichen Stoffen wie Soja bis zu höchst künstlichen wie Herbiziden und Insektiziden, die Wirkungsbreite geht auf Verstärkung oder Schwächung weiblicher oder männlicher Hormone.

Beispielsweise stehen die Spritznebel, in die Bauern ihre Felder und sich selbst hüllen, im Verdacht, die Fertilität zu schwächen. „Ich sage meinen Patienten immer, sie müssten ja nicht selbst spritzen“, weiß Hans Pusch vom Grazer Ambulatorium für Andrologie Rat, „das soll halt der Opa machen, wenn der Hof einen Erben braucht.“

Gift für Opa

Aber individuelle Fluchten führen aus dem Problem nicht heraus. „Seit Jahrzehnten steigen in Westeuropa die Störungen des männlichen Reprodu-

ktionssystems: Die Spermienzahlen sinken, die Hodenkrebsziffern steigen“, berichtet Seibert, „die Östrogen-Hypothese“ führt das alles auf eine Ursache zurück: die pränatale Exposition gegenüber Östrogen.“

Diese Östrogene – oder eben endokrin ebenso wirkende Substanzen: Xeno-Östrogene – können auf verschiedenen Wegen in die Umwelt geraten. Etwa über synthetische Östrogene im Tierfutter. Oder über Östrogene, die eigens für Anti-Baby-Pillen und Hormonpflaster erzeugt und von den Benutzerinnen auch wieder ausgeschieden werden.

Kläranlagen nutzlos

„Wir haben einen ziemlich eindeutigen Beweis, daß diese Substanzen auch aus Kläranlagen wieder austreten“, be-

richtet Seibert: Man hat Forellen vor Kläranlagen-Ausflüsse ausgesetzt. Die Männchen haben sich daraufhin partiell verweiblicht und plötzlich Dottereiweiße produziert.

Zwar versichert Seibert, „über orale Kontrazeptiva im Trinkwasser ist nichts bekannt“ – weil nicht analysiert –, aber der Gehalt der Flüsse kann aus Pillengebrauch und Abbauraten kalkuliert werden: Seibert kommt für Kiel auf 20 Nanogramm pro Liter, Herman Schweinfurth (Pharmafirma Schering) rechnet zurückhaltender mit 0,1 bis 0,5. Das ist in der Größenordnung, in der die Männchen weibliche Eiweiße zu produzieren beginnen. Die Weibchen selbst stellen in Schweinfurths Laborexperimenten bei 10 Nanogramm das Eierlegen ein.

Samstag, 27. April 1996

DIE PRESSE

Transsexuelle Schnecken, verweiblichte Fische

Hormonaktive Substanzen werden in der Umwelt in steigender Zahl identifiziert. Über Menge und Wirkung besteht noch Uneinigkeit.

VON KARIN GRUBER

Forellen lieferten den ersten streng wissenschaftlichen Beweis dafür, daß in der Umwelt mehr hormonaktive Substanzen vorkommen, als ihr gut tut. Als nämlich englische Wissenschaftler „Bioindikatoren“, in diesem Fall Fische, im Abfluß von Kläranlagen gedeihen ließen, bildeten die Männchen Dottereiweiß aus – was sonst eine Aufgabe der Weibchen ist.

Was genau im geklärten Abwasser für diese Verweiblichung verantwortlich war, konnte noch nicht bestimmt werden. Züchtet man die Fische aber in Gegenwart von nur 0,5 Nanogramm des in der „Pille“ enthaltenen künstlichen Östrogens pro Liter, ist ein solcher Effekt schon merkbar. Im Abwasser vor der Klärung werden mit starken Schwankungen Werte um 20 Nanogramm gemessen – so auch in Wien.

Das chemisch stabilisierte Östrogen aus hormonellen Ver-

hütungsmitteln macht aber nur einen relativ kleinen Teil des Problems aus. „Insgesamt wurden bisher rund 150 Substanzen als Umweltchemikalien mit hormoneller Wirkung identifiziert“, faßt Alarich Riss vom Umweltbundesamt bei einem Symposium zusammen. Diese können aus verschiedensten Quellen stammen. Darunter sind natürliche und synthetische Hormone sowie die Stoffwechselprodukte anderer Medikamenten, eine Reihe pflanzlicher Substanzen und Industriechemikalien. Wie Hasso Seibert vom Institut für Toxikologie in Kiel annimmt, liegt bei den Industriechemikalien wie Bisphenol A oder Styrenen „das größere Gefährdungspotential“.

Weichmacher als Hormone

Deren Wirkung ist zwar bei weitem nicht so spezifisch und stark, diese Stoffe liegen aber zum Teil in Massen vor – das jährliche Produktionsvolumen der vor allem als Weichmacher in Kunststoffen verwendeten Phthalaten etwa beträgt drei Millionen Tonnen. Die quasi-hormonelle Wirkung solcher auf den ersten (chemischen) Blick gar nicht wie Hormone ausse-

henden Substanzen erklärt sich oft durch ihre Bindung an die für die wirklichen Hormone zuständigen Rezeptoren.

Eines haben die chemisch sehr unterschiedlichen Substanzen gemeinsam – sie sind durchwegs hydrophob und deshalb relativ schwer im Wasser selbst nachzuweisen. Inzwischen könnten sie sich als Zeitbombe im Erbreich oder auch in der Nahrungskette angereichert haben. Das künstliche Östrogen wurde auf jeden Fall noch nicht im Trinkwasser gemessen.

Hörbar tickt die Zeitbombe schon in dem Bereich, in dem die Ökotoxikologen arbeiten. Seit Jahren kennt man Berichte von transsexuellen Fischen, Alligatoren mit verkümmerten Penis und wegen „Transsex-Phänomenen“, also der Ver-männlichung aller Tiere, aussterbenden Schnecken-Populationen. Die vorrangigen Probleme im Umweltbereich sieht Seibert beim künstlichen Östrogen – wobei er eine relativ schnelle Lösung für möglich hält – und bei den Industriechemikalien.

Helhörig werden aber auch die Humantoxikologen, obwohl die „Östrogenhypothese“ noch nicht bewiesen ist“, wie Seibert betonte. Diese Hypothese

nimmt an, daß Beobachtungen wie die Verringerung der Spermindichte bei Männern, die in einigen Ländern ansteigende Hodenkrebstrate (wobei es bei diesen Ländern keine hervorste-chenden Gemeinsamkeiten bei der Umweltsituation gibt) und der noch definitiv zu klärende Anstieg von Hodenmißbildungen bei männlichen Babies auf eine einzige Ursache zurückgehen könnte: daß sie noch im Mutterleib einer übermäßigen Dosis an Östrogenen ausgesetzt waren.

Veränderungen bei Tieren hätten auch deshalb Bedeutung für den Menschen, weil die endokrine Kontrolle von Entwicklung, Fortpflanzung und Stoffwechsel viele Gemeinsamkeiten aufweise, betonte Petra Stahlschmidt-Allner von ECT Ökotoxikologie in Flörsheim.

Die hormonellen Steuerungsubstanzen wirken in geringsten Konzentrationen. „Mädchen haben einen Serumspegel an Östrogen von 0,6 Nanogramm je Liter, Knaben liegen um eine Zehnerpotenz niedriger“, erklärt Stahlschmidt-Allner. „Da fragt sich schon, ob eine Menge von einem bis 500 Nanogramm in Oberflächengewässern nicht irgendwann eine Rolle spielt.“

Salzburger Nachrichten

Freitag, 16. August 1996 **17****GESUNDHEIT / UMWELT / WISSENSCHAFT**

Erdbeeren: Früchte mit Hormonen

WWF Deutschland: Hinweise, daß Pestizidrückstände Fortpflanzung beeinträchtigen*Von Gertraud Leimüller,
SN-Redaktion Wien*

WIEN, BREMEN. Obst und Gemüse schädigen möglicherweise auch dann die Gesundheit, wenn es „erlaubte“ Mengen an Schadstoffen enthält. Darauf weist eine Untersuchung an Erdbeeren hin, die das Institut für Rückstandsanalytik in Bremen durchgeführt hat: Von den 54 in ganz Deutschland gezogenen Proben überschritt zwar keine einzige die für Pestizide geltenden Grenzwerte. Jedoch wurden bei einem Großteil — nämlich 85 Prozent — Stoffe gefunden, die bereits in Spuren wirken können und als Pestizide auch in Österreich zugelassen sind: Umwelthormone.

Noch stärker belastet als konventionell angebaute inländische Erdbeeren seien ausländische (aus Italien, Spanien, Frankreich und Belgien), betont der WWF (World Wide Fund for Nature), der den Test gemeinsam mit der Zeitschrift „TV-Hören und Sehen“ in Auftrag gegeben hat. Zahlreiche der gefundenen Pestizide stünden in Verdacht, entweder

wie das weibliche Sexualhormon Östrogen zu wirken oder männliche Sexualhormone zu blockieren. So hätte jede vierte der in ganz Deutschland gezogenen Proben Endosulfan (Östrogen-ähnlich, auch in Österreich erlaubt) enthalten. Bei zwei Dritteln sei Procymidon (antiantrogen wirksames Fungizid, hierzulande erlaubt) gefunden worden, bei 13 Prozent wiederum das Antipilzmittel Vinclozolin. Gar keine hormonellen Rückstände hätten hingegen biologisch angebaute Früchte enthalten.

Besonders bedenklich sei, so die Umweltorganisation, daß 60 Prozent der konventionellen Erdbeeren mehrere Wirkstoffe gleichzeitig enthalten hätten. Ihr Effekt würde sich möglicherweise summieren. Dabei stützt sich der WWF vor allem auf eine Studie (in Science Nr. 272, 1996), die zeigt, daß die Wirkung hormonähnlicher Umweltchemikalien sprunghaft ansteigen kann, wenn sie mit anderen zusammenwirken. Von Bedeutung ist dieser Befund auch deshalb, weil anzunehmen ist, daß Menschen wie Tiere immer mehreren verschiedenen

Chemikalien gleichzeitig ausgesetzt sind. Wie stark die hormonähnliche Wirkung des Schadstoff-Cocktails in Erdbeeren ist, wurde freilich nicht getestet. Denn noch fehlen Testmethoden, die sensibel genug sind. Routinemäßig wird derzeit lediglich geprüft, ob Substanzen akut giftig, krebserregend oder erbgutschädigend sind. Die Zulassungssysteme müßten dringend mit international standardisierten Tests ergänzt werden, die die Wirkung auf Hormonsysteme erfassen. Das sei Aufgabe der Behörden, betont der WWF. Für Industriechemikalien sollte außerdem so wie für Pestizide eine Zulassungspflicht eingeführt werden.

Denn neben Pestiziden stehen auch Weichmacher in PVC und Ausscheidungsprodukte von Human- und Tiermedikamenten in Verdacht, für in der Natur beobachtbare Veränderungen verantwortlich zu sein. Vermutet wird ein Zusammenhang mit Störungen des Immunsystems, der sexuellen Entwicklung sowie der Fortpflanzungsfähigkeit bei Menschen und freilebenden Tieren.

Salzburger Nachrichten

GESUNDHEIT / UMWELT / WISSENSCHAFT

Wenn Forellen die „Pille“ schlucken

Alarmierender Bericht: Arzneimittel sind Umweltrisiko

Von Gertraud Leimüller,
SN-Redaktion Wien

Die Natur ist sensibler, als der Mensch vermutet: Seit Jahrzehnten verwendete Chemikalien stehen in Verdacht, in der Natur als Hormone zu wirken — und dabei einiges durcheinanderzuwirbeln.

Lange blieb das Thema unbeachtet. Nun beginnen Forscher, systematisch Puzzleteile zusammenzuklauben: In mehreren europäischen Ländern, auch in Österreich, fanden bereits Symposien statt. Und demnächst wird das Berliner Umweltbundesamt (UBA) einen Bericht über Arzneimittel veröffentlichen, der zeigt, daß auch politisch gehandelt werden muß.

Die Vorgeschichte beginnt mit haarsträubenden Beobachtungen bei Tieren: In Florida fand man etwa in der Nähe einer früheren Pestizidfabrik Alligatoren mit verkrüppelten Sexualorganen; in England wiederum erzeugten männliche Forellen, die sich in Gewässern unterhalb von Kläranlagen tummelten, Dotterbestandteile (dies tun normalerweise nur Weibchen); Seeschwalben zeigten plötzlich ein abartiges Sexual- und Brutverhalten, und im Raum Berlin rätseln Wissenschaftler, warum 70 Prozent der Fische im Havelfluß weiblich sind.

Auch die Fortpflanzung der Menschen scheint beeinträchtigt. So konnten österreichische Ärzte in einer Studie zeigen, daß Obst- und Weinbauern, die mit Pestiziden hantieren, eine geringere Zeugungskraft besitzen als andere. Ob hingegen die generelle Zunahme ungewollt kinderloser Paare und die weltweit festgestellte Verringerung der Spermienzahl mit Umweltchemikalien zu tun hat, ist umstritten. Möglicherweise

haben Hormone und hormonähnliche Substanzen auch mit der Zunahme von Prostata-, Brust- und Hodenkrebs sowie Mißbildungen bei Babies wie Hodenhochstand zu tun.

Vorläufig ist das freilich erst eine Vermutung. Denn noch ist nicht bekannt, welche der langlebigen Stoffe genau hinter den Phänomenen stecken. In Verdacht stehen derzeit viele (siehe Kasten). Für Diskussionen in der Fachwelt sorgen insbesondere Medikamente, weil deren Inhaltsstoffe — original oder verändert — großteils wieder (über den Harn) ausgeschieden werden und so in großen Mengen in die Umwelt gelangen.

Rückstände: Hormonelle Wirkung noch möglich

So schlucken weltweit 60 bis 80 Millionen Frauen die Antibabypille. Der wirksamste Inhaltsstoff, Ethinylestradiol (Östrogen), sei zwar nur in Spuren in Gewässern nachweisbar (in Abwässern 15 bis 20 Milliardstel Gramm, in Flüssen und Seen in noch geringeren Mengen), sagt Jörg Römbke, einer der Autoren des deutschen Berichts. Die Konzentrationen würden aber ausreichen, um bei Lebewesen (z. B. Fischen) hormonelle Wirkungen hervorzurufen. Ein ähnliches Risiko würde auch bei dem in Lipidsenkern weit verbreiteten Wirkstoff Clofibrat bestehen. Er sei im gesamten Rhein, in Oberitalien und der Tschechischen Republik zu finden, sagt der Wissenschaftler des privaten Forschungsinstituts ECT Ökotoxikologie im deutschen Flörsheim — „wahrscheinlich überall dort, wo man mißt“.

Römbke fordert, daß vor der Zulassung von Human- und Tiermedikamenten deren Folgen für die Um-

welt überprüft werden müssen. Derzeit seien Medikamente die einzigen Chemikalien, wo dies noch nicht der Fall sei. Zwar habe es vor zweieinhalb Jahren schon den Entwurf für eine entsprechende EU-Richtlinie gegeben. Doch der Antrag sei wieder zurückgezogen worden.

Im Wiener Gesundheitsministerium weiß man von der Initiative, die auch das Wiener Umweltbundesamt fordert, noch nichts. „Ich höre das zum ersten Mal“, sagt Hugo Sedlak, einer der für Arzneimittel zuständigen Beamten.

Bereits Anfang der Achtziger seien Pillen-Stoffe im Abwasser nachgewiesen worden, sagt Petra Stahlschmidt-Allner, ebenfalls von der ECT Ökotoxikologie. Damals wäre die Diskussion jedoch eingeschlafen, weil man die Mengen mit medizinischen Dosen verglichen habe — „ein bedenklicher Ansatz“, sagt Stahlschmidt-Allner. Es gebe nämlich Hinweise für eine Wirksamkeit selbst in Spuren. Insbesondere in der vorgeburtlichen Phase reagierten Menschen wie Tiere weit empfindlicher als erwachsene Lebewesen auf Hormone, die im Bauplan der Natur nicht vorgesehen sind.

Extrem schwierig ist es, die geringen Mengen der biologisch hochaktiven Stoffe überhaupt nachweisen zu können, noch fehlen Tests für die Wirkung in Ökosystemen. Forscher der Uni für Bodenkultur in Wien tüfteln derzeit im Auftrag des Umweltministeriums an einem Schnelltest mit Hefezellen, der Östrogene in Abwässern, Boden-, aber auch Lebensmittelproben anzeigt — ein weiterer Schritt, um die extrem schlechte Datenlage verbessern zu können. Römbke: „Über die Umweltfolgen von Veterinärmedikamenten wissen wir noch so gut wie gar nichts.“

Mittwoch, 31. Juli 1996 **17**

Fische schlucken Medikamente, die für Menschen gedacht sind — in Dosen, die bereits hormonelle Wirkungen verursachen können. Bild: SN/Helmut Strauß

150 Chemikalien stehen unter „Hormonverdacht“

150 Stoffe sind bekannt, die ins Hormonsystem von Mensch und Tier eingreifen können.

★ **Pestizide:** DDT führte dazu, daß Vögel Eier mit dünnen Schalen legten, die schon beim Brüten kaputtgingen. Auch andere chlorierte Kohlenwasserstoffe stehen in Verdacht. Sie sind hierzulande verboten, außer Lindan (jährlich 16 Tonnen für die Beizung von Saatgut). Daneben zeigt aber auch Atrazin, ein im Maisanbau früher beliebtes, vereinzelt noch illegal verwendetes Spritzmittel, im Labor hormonähnliche Wirkung – so wie auch

★ **Industriechemikalien,** von denen jährlich Tausende Tonnen zum Einsatz kommen, etwa für die Herstellung von Polycarbonat-Kunststoffen für Milch- und Babyflaschen (Bisphenol A). Auch in PVC-Kunststoffen enthaltene Weichmacher (Phtalate) sowie Abbauprodukte von Industriereinigungsmitteln (Polyethoxylate). Während bei den bisher genannten Chemikalien Umweltprüfungen vorgesehen sind, ist das bei

★ **Medikamenten** nicht der Fall. Obwohl große Mengen über den Harn wieder ausgeschieden werden und so ins Abwasser gelangen. Im Mittelpunkt des Interesses der Ökotoxikologen steht die Antibabypille. Von ihr werden hierzulande jährlich fast drei Millionen Packungen verkauft; mehr als 400.000 Frauen verwenden sie. Die Hormone konnten im Abwasser nachgewiesen werden. Aber auch andere gängige Arzneien wie Lipidsenker mit dem Wirkstoff Clofibrat wirken vermutlich hormonähnlich.

MENSCH & UMWELT

6 DIEFURCHE

Nr. 32/8.AUGUST 1996

Folgen der Umweltverschmutzung

Hormone in der Umwelt: Gefahr für den Menschen?

Hormone sind neben dem Nervensystem die wichtigsten Informationsträger im Körper von Mensch und Tier. Es mehrten sich die Hinweise, daß ihre Funktion durch Umwelteinflüsse beeinträchtigt wird.

VON ROBERT SATTELBERGER

Neuere Publikationen und zahlreiche internationale Workshops über unerwünschte Hormonwirkungen, insbesondere von Umweltchemikalien, erwecken großes Interesse in der Fachwissenschaft und in der Öffentlichkeit.

Beim Menschen ist es denkbar, daß einige chemische Substanzen, obgleich sie chemisch keine Ähnlichkeit mit natürlichen Hormonen aufweisen, an der Entstehung von Erkrankungen wie Brustkrebs, Hodenkrebs, Fruchtbarkeitsstörungen und Hodenhochstand beteiligt sind. Auch für die Umwelt ist Gefahr in Verzug. Zahlreiche Veröffentlichungen in der Fachpresse berichten über Fortpflanzungsstörungen bei Säugern, Vögeln und Fischen, Veränderung des Sexual- und Brutverhaltens bei Vögeln und Verweiblichungserscheinungen bei Fischen, um nur einige Beispiele zu nennen.

Vom Umweltbundesamt Wien wurde im April dieses Jahres ein zweitägiges Fachsymposium zu diesem Thema veranstaltet. Das Symposium hatte das Ziel, einen Überblick über den gegenwärtigen Wissenstand zu bieten und gab den Teilnehmern Gelegenheit zum intensiven Meinungsaustausch und zur Diskussion. Derzeit, ist ein Tagungsbericht in Ausarbeitung, der im Herbst dieses Jahres vom Umweltbundesamt bezogen werden kann.

Von den zahlreichen Fremdstoffen in unserer Umwelt sind derzeit zirka 150 Substanzen als hormonell wirksam erkannt worden.

1. Pflanzenschutzmittel wie zum Beispiel Endosulfan, Lindan, Atrazin, 2,4-D und deren Abbauprodukte können durch deren landwirtschaftlichen Gebrauch ins Grundwasser und in Oberflächengewässer und letztendlich in unser Trinkwasser gelangen.

2. Industriechemikalien wie zum Beispiel Phthalate (chemischer Weichmacher in Kunststoffen), Bisphenol A (Ausgangsmaterial für die Kunststoffherstellung), Alkylphenoethoxylate (Abbauprodukte industrieller Waschmittel) werden in Kläranlagen nicht oder nur unzureichend ab-

gebaut und gelangen so über das Abwasser in Oberflächengewässer. Auch via Klärschlamm ist ein Eintrag derartiger Substanzen in die Umwelt denkbar.

3. Hormonell wirksame Ausscheidungsprodukte von Arzneimitteln, wie künstliche Sexualhormone, (Antibabypille), Lipidsenker (Clofibrinsäure, Fenofibrat) und auch einige Schmerzmittel werden in Kläranlagen nur unzureichend abgebaut. Gelangen sie so in Oberflächengewässer, können sie vor allem aquatische Organismen in ihrer Entwicklung und Fortpflanzung gefährden.

4. Hormonwirksame Substanzen entstehen auch bei Naturstoffverarbeitungen wie zum Beispiel Holzstoffverarbeitung und können im

Abwässer und Klärschlämme sind auf hormonell wirksame Substanzen zu prüfen

Abwasser in hohen Konzentrationen vorkommen.

Petra Stahl
schmied-Allner,
Expertin für hor-

monell wirksame Substanzen in der aquatischen Umwelt, berichtete auf dem Symposium des Umweltbundesamtes, daß »anthropogen bedingte Veränderungen des Hormonhaushaltes bei aquatischen Wirbeltieren Rückschlüsse auf eine mögliche Gefährdung des Menschen zulassen.« Das Resümee ihres Vortrages: »Zur

langfristigen Sicherstellung der Trinkwasserressourcen und zum Schutz der hormonellen Koordination der menschlichen Fertilität, ist in Anbetracht der niedrigen Wirkschwellen von endokrintoxischen (schädlich für den Hormonhaushalt) Fremdstoffen, jedwede Kontamination der Oberflächengewässer mit Xenobiotika (Umweltschadstoffe) zu vermeiden.«

Auch der Kieler Toxikologe Hasso Seibert ist der Meinung, daß »eine ganze Reihe von Industrie- und Umweltchemikalien sowie natürlich vorkommende Substanzen das Potential besitzen, Prozesse der endokrinen Regulation im Körper von Mensch und Tier zu beeinflussen. Seiner Meinung nach ist die Östrogenhypothese noch lange nicht bewiesen, sie sollte aber dennoch ernst genommen werden.

Die Östrogenhypothese besagt, daß Erkrankungen wie Brustkrebs, Hodenkrebs beziehungsweise eine verminderte Spermienproduktion eine gemeinsame Ursache haben, und diese Ursache in einer erhöhten vorgeburtlichen Exposition gegenüber exogenen Östrogenen besteht.

Guter Rat ist also teuer, wenn sich Experten nicht einmal in grundlegenden Fragen einig sind. Eines ist jedoch sicher, das Risikopotential einer unerwünschten Hormonwirkung durch diese Stoffe ist heute noch schwer zu beurteilen. Bei der Risikobewertung ist auch zu berücksichtigen, daß in der Umwelt eine Mischexposition vorliegt und additive Effekte von Einzelstoffen zu erwarten sind (Schäfer, Universitäts-Frauenklinik Freiburg).

Einig sind sich die Experten darüber, daß noch großer Forschungsbedarf, sowohl in den Bereichen der Human- als auch der in der Ökotoxikologie besteht. Vordringlich sind Forschungsvorhaben wie Entwicklung von Reproduzierbaren Teststrategien von Umweltchemikalien auf hormonelle Aktivität oder die Entwicklung von biologischen Testverfahren zur Prüfung von Abwasser und Klärschlamm auf hormonell

wirksame Substanzen erforderlich. In Österreich wird derzeit, mit Förderung des Umweltministeriums, von Alois Jungbauer an der Universität für Bodenkultur Wien ein neuartiges Verfahren zur Bestimmung der östrogenen Aktivität von Umweltchemikalien entwickelt. Auch im medizinischen Bereich fehlen grundlegende Daten über Ausmaß und Verbreitung von hormonabhängigen Krebsarten, Fehlbildungen von Fortpflanzungsorganen und Fruchtbarkeitsstörungen beim Menschen.

International bekannt gemacht, hat dieses brisante Thema die Hormonforscherin Theodora Colburn, die heftig angegriffen von ihren Kollegen, jüngst das populärwissenschaftliche

Buch »Our Stolen Future« (1996, Pinguin Group) veröffentlicht. Sie zeigt in ihrem Buch klar auf, daß bei die-

sem Problem Mensch und Umwelt gleichermaßen betroffen sind und Störungen des Hormonsystems nicht nur diese Generation beeinflussen, sondern auch alle weiteren. Besonders wichtig ist auch, daß nicht nur die Höhe der Dosis, sondern auch der Zeitpunkt der Einwirkung der Umwelthormone, insbesondere in der vorgeburtlichen Entwicklungsphase, von Bedeutung ist.

Auch das deutsche Nachrichtenmagazin »Der Spiegel« (9/1996) teilte jüngst »Nur noch halbe Männer – Werden die Spermien rar?«. Der Artikel befaßt sich hauptsächlich mit dem Problem der sinkenden männlichen Fruchtbarkeit aufgrund geringer Spermienzahl und mangelnder Qualität der Spermien zum Beispiel durch die geringe Beweglichkeit oder aufgrund morphologischer Deformationen.

Wie uns die Geschichte lehrt, vergeht zwischen dem ersten Verdacht einer Gefährdung von Mensch und Umwelt und dem tatsächlichen Verbot oder Verzicht derartiger Substanzen und Techniken ein langer Zeitraum, meistens 30 bis 40 Jahre.

Als Beispiel seien hier die chlorierten Kohlenwasserstoffe wie DDT, ein Insektizid, oder Pentachlorophenol (PCP), ein Holzschutzmittel, erwähnt. Im Problembereich »Umweltchemikalien mit, hormoneller Wirkung« ist die Lage derzeit besonders verfahren. Erstens sind unterschiedlichste Substanzgruppen betroffen, von den chlorierten Kohlenwasserstoffen bis hin zu den endokrin wirksamen Naturstoffen (zum Beispiel Sterole) und zweitens fehlen in großem Ausmaß noch theoretische und experimentelle Grundlagen.

Es ist zum Beispiel derzeit nicht bekannt, wieviel von den zahlreichen Chemikalien, die bereits in Ver-

wendung stehen, tatsächlich eine hormonelle Wirkung haben. Dies führt dazu, daß die Experten meinten über

»Was müßte geschehen?«, im Sinne einer politischen Vorgabe stark auseinandergehen. Eines ist jedenfalls sicher: Daß dieses Thema von Toxikologen, Umweltmedizinern, Ökologen, Epidemiologen und Biologen durchaus ernst genommen wird, zeigt die steigende Zahl an Publikationen in den letzten fünf Jahren.

*Der Autor ist
Mitarbeiter des
Umweltbundesamtes in Wien*

Östrogene aus der Umwelt: Begünstigen sie das Auftreten von Brustkrebs?

ANHANG B

Einführende Literatur

- COLBORN, T.; VOM SAAL, F.; SOTO, A. (1993): Developmental Effects of Endocrine-Disrupting Chemicals in Wildlife and Humans. *Environmental Health Perspectives*, Bd. 101, Nr. 5, 378-384.
- COLBORN, T.; DUMANOSKI, D.; MYERS, J. (1996): Die bedrohte Zukunft. Droemer Knauer, München.
- DAVIS, D. & BRADLOW, H. (1995): Verursachen Umwelt-Östrogene Brustkrebs? *Spektrum der Wissenschaft*, Nr. 12, 38-44.
- DER SPIEGEL (1996): „Nur noch halbe Männer“. Nr. 9, 226-239.
- RALOFF, J. (1994): The Gender Benders – Are environmental hormones emasculating wildlife? *Science News*, Bd. 145, 24-27.
- UMWELTBUNDESAMT BERLIN (1995): Fachgespräch – Umweltchemikalien mit endokriner Wirkung. Berlin, 9.-10. März 1995, Texte 65/95 und 3/96 (englische Version).
- UMWELTBUNDESAMT BERLIN (1996): Umweltprobleme durch Arzneimittel – Literaturstudie, Texte 60/96.

Schwerpunktthema: Endokrin wirksame Chemikalien in der Umwelt

In der Zeitschrift UWSF (Umweltwissenschaften und Schadstoff-Forschung) – Umweltchem. Ökotox.: 4/96, 5/96 und 6/96.

- Teil I: Forschungsstand und Konsequenzen für die Bewertung der Umweltrelevanz von Chemikalien. Aicha VACK (UWSF 4/96, 222-226).
- Teil II: Störungen der Entwicklung und Funktion des männlichen Reproduktionssystems. Hasso SEIBERT (UWSF 5/96, 275-284).
- Teil III: Störungen von Fortpflanzungs- und Entwicklungsprozessen durch hormonaktive Xenobiotika. Margret SCHLUMPF, Walter LICHTENSTEIGER (UWSF 6/96, 321-332).

Internet-Adressen zu diesem Thema

- <http://www.endocrine.org/> (Center for the Study of Environmental Endocrine Effects; *siehe Kopie der Homepage*).
- <http://www.liwa.de/rneed/> (Catalogue of the research activities on Endocrine Disruptors; *siehe Kopie der Homepage*).
- <http://www.tmc.tulane.edu/ECME/EEHome/default.html> (ECME: Environmental Estrogens).
- <http://www.worldmedia.com/edrc/pages/index.htm> (The Endocrine Disrupter Resource Center).
- <http://www.wwfcanada.org/hormone-disruptors/links.htm> (www action & resource links).

Center for the Study of Environmental Endocrine Effects

*Center for the Study of Environmental Endocrine Effects Database
references scientific and media materials on chemicals that may mimic
hormones and disrupt human or wildlife endocrine systems.*

Please note: the database will be expanded and updated regularly

▲ About the Center for the Study of Environmental Endocrine Effects

- Science Panel Members
- Principal Staff

▲ What's New

▲ Center Abstracts and Commentary

▲ Scientific Bibliographies

▲ Governmental Information

▲ Media Coverage and Other Informational Materials

▲ Recent and Upcoming Conferences and Other Events

▲ Participate in a Discussion Group On Environmental Endocrine Issues

▲ Send Comments and Scientific Material to the Center

About the Center for the Study of Environmental Endocrine Effects

Science Panel Members

Principal Staff

The Center for the Study of Environmental Endocrine Effects was established in 1994 to begin examining the emerging issue of potential effects of man-made or generated "endocrine disruptors" or "hormone mimics" on human and wildlife health -- principally cancers, reproductive system disorders, fertility, immune system dysfunction, and neurological problems. A draft paper containing an overview of the current state of scientific knowledge and uncertainties is available from the Center and is referenced in this database. At this time, the Center is still seeking comments on this initial Overview paper, and it will continue to welcome comments and new information after the initial paper is finalized, since the Center intends to update it periodically.

The research program of the Center is guided by a Science Panel comprised of academic scientists with recognized expertise in human health and environmental endocrine effects. The inside back cover of this report provides biographical information about individual Science Panel members and Center staff.

The fundamental mission of the Center is to provide objective and unbiased scientific information on the "environmental endocrine modulators" issue to government officials, the media, and the general public. It pursues this mission through the following mechanisms:

- preparation of periodic reports updating the state of the science
- identifying and clearly defining research needs, and funding studies that the Science Panel determines will meet those needs
- educating the media, including participation in programs carried out at schools of journalism, and funding such programs
- developing and maintaining a publicly-accessible database that includes key scientific studies and commentary, research under way, policy developments, media coverage, significant upcoming events, and involved organizations.

The Center receives funding from a variety of both public and private-sector sources. It is the policy of the Center to insulate its Science Panel from knowledge concerning sources in order to avoid any possible perception of outside influence.

Science Panel Members and Staff of the Center for the Study of Environmental Endocrine Effects

Science Panel

William J. Waddell, M.D. (Chair): Dr. Waddell is Professor and Chairman of the Department of Pharmacology & Toxicology, School of Medicine, University of Louisville. He is a Fellow of the Academy of Toxicological Sciences and a member of the Editorial Board of Human and Experimental Toxicology. He has over forty years of experience, and numerous publications, in the area of distribution, metabolism, and disposition of chemicals and pharmaceutical agents, including steroidal hormones and receptor-mediated effects, in humans and animals, and particularly in fetal and maternal tissues.

William H. Benson, Ph.D.: Dr. Benson is Professor of Pharmacology and Toxicology, School of Pharmacy, The University of Mississippi, and Coordinator of the School's Environmental Toxicology Research Program. He has been Chair of the Society of Environmental Toxicology and Chemistry (SETAC) Education Committee, and is SETAC President for 1995-96. He has conducted research and published extensively in the field of aquatic biology and chemistry, particularly with regard to organochlorine pesticides and PCBs.

Keith R. Solomon, Ph.D.: Dr. Solomon is Professor, Environmental Biology, and Director of the Centre for Toxicology, at the University of Guelph in Ontario, Canada. He has been researching, writing, and educating in the field of risks to aquatic ecosystems (and waterfowl), and particularly on the effects of "hormone" mimics" and chlorine compounds, for twenty years. The Centre for Toxicology which he heads currently has under way a program to study substances that may pose risks of reproductive or endocrine toxicity.

John A. Thomas, Ph.D.: Dr. Thomas is Vice President and Professor, Pharmacology, Health Science Center, University of Texas at San Antonio. He is also a Professor in the University's Department of Obstetrics/Gynecology, and holds professorships in toxicology and pharmacology at several other universities. He is the President-elect of the American College of Toxicology, a member of The Endocrine Society, and Editor-in-Chief of the Journal of Toxic Substances. Dr. Thomas has published over 300 scientific articles and books in the area of endocrine pharmacology and reproductive toxicology.

Principal Staff

Daniel M. Byrd, Ph.D., Executive Director: Dr. Byrd is a Diplomate of the American Board of Toxicology and formerly served as Executive Secretary for the Environmental Health Committee of the U.S.EPA's Science Advisory Board.

Joel A. Rosenblatt, Ph.D., Director of Development: Dr. Rosenblatt reviewed Federal agency environmental programs at the Office of Management and Budget and served as a senior staff member at the National Science Foundation and the Office of the Science Advisor to the President.

William G. Kelly, Jr., Director for Planning and Communications: Before joining the Center, Mr. Kelly was an attorney and advisor on natural resource and environmental matters at the U.S. Department of the Interior and a regulatory consultant concentrating on environmental risk assessment and risk management issues.

The address of the Center is:

**11 Dupont Circle
Washington, DC 20036.**

202-939-6962

Fax number is 202-939-6969

The "Bulletin Board" and "E-Mail" sections of this database describe other means for communicating with the Center and other interested parties on this subject.

Welcome to the Catalogue

The effort of building an inventory or catalogue of the research activities on Endocrine Disruptors outside America has been taken up by the German Environment Agency. It is part of a joint effort with the USA-EPA. If you live on the American continent please contact **Bob Kavlock**. He will take care of your information. There is a **paper** published by Kavlock et al. with the scientific background of the questionnaire.

The information gathered by **us** will be given to the USA-EPA as well as the USA-EPA will provide us with their informatio. We hope to be able to establish an up to date catalogue at both sides of the Atlantic until the beginning of 1997.

The system has been built to give as many people as possible the chance to register their research work. Due to its temporary scope it is not perfect. We therefore hope that everybody participating has the patience and the good will to supply as much as possible to the joint effort. If you have any problem entering data please let us know. We need to know if there are problems so we can fix them as soon as possible. You can simply drop us **a mail**.

The information you supplied is now available in a **database** with some search facilities. The database is still under construction and we will constantly update the structure of the interface as well as the contents of the database from the information entered by the questionnaire.

Please note that we dynamically generate pages. If you use cache techniques and do not check for expiration properly you might experience some delays before the title page reflects your changes.

We supplied a list of all **Users** already known to the catalogue as well as a list of all **Titles**.

After all this directory information you should **register yourself** and start putting something into the catalogue.

Please enter your Name and your Password
to view, modify or add our own entries.

Lippke und Wagner Online KG under contract of the German Federal Environmental Agency.

**ADRESSENLISTE DER TEILNEHMER AM SYMPOSIUM
"UMWELTCHEMIKALIEN MIT HORMONELLER WIRKUNG"
22. bis 23. APRIL 1996 in WIEN**

Name	Institution	Abteilung	Adresse	Tel./Fax-Nummer
Dr. Thomas Belazzi	Greenpeace Österreich	–	Auenbruggerg. 2 A-1030 Wien	Tel.: +43-1-71300-31 Fax: +43-1-71300-30
Dr. Werner Brüller	Bundesministerium für Gesundheit und Konsumentenschutz	Abteilung III/2 Toxikologie	Radetzkystraße 2 A-1030 Wien	Tel.: +43-1-71172-4861 Fax: +43-1-7137952
Doz. Dr. Wilfried Bursch	Inst. f. Tumorbologie-Krebsforschung	–	Borschkegasse 8a A-1090 Wien	Tel.: +43-1-40154-218 Fax: +43-1-4060790
Dr. Mag. Elisabeth Fassold	Umweltbundesamt	Abt. Umweltchemikalien	Spittelauer Lände 5 A-1090 Wien	Tel.: +43-1-31304-671 Fax: +43-1-31304-5400
Dr. Odo Feenstra	Amt der Kärntner Landesregierung	Abt. 12S Umweltmedizin	Hasnerstraße 8 A-9020 Klagenfurt	Tel.: +43-463-55194-77 Fax: +43-463-55194-20
Dr. Peter Frigo	Allg. Krankenhaus	Univ. f. Frauenheilkunde, Abt. Endokrinologie	Währinger Gürtel 18-20 A-1090 Wien	Tel.: +43-1-40400-2804 Fax: +43-1-40400-2817
Christa Gottschalk	Umweltbundesamt Berlin	FG II 1.3	Postfach 3330022 Mauerstraße 52 D-14191 Berlin	Tel.: +49-30-23145-815 Fax: +49-30-2315638
Dipl.-Ing. Klaus Graumann	Universität für Bodenkultur	Inst. f. angewandte Mikrobiologie	Muthgasse 18 A-1190 Wien	Tel.: +43-1-36006-6227 Fax: +43-1-3697618
Dr. Britta Grillitsch	Veterinärmedizinische Universität	Institut für Versuchstierkunde	Josef-Baumanng. 1 A-1210 Wien	Tel.: +43-1-250770-4603 Fax: –
Mag. Margit Grimm	Umweltbundesamt	Abt. Pflanzenschutzmittel	Spittelauer Lände 5 A-1090 Wien	Tel.: +43-1-31304-685 Fax: +43-1-31304-5400
Dr. Karin Gruber	Die Presse	Abt. Wissenschaft	Parkring 122 A-1010 Wien	Tel.: +43-1-51414-463 Fax: +43-1-51414-476
Marianne Heinrich	Umweltbundesamt	Abt. Umweltanalytik	Spittelauer Lände 5 A-1090 Wien	Tel.: +43-1-31304-5188 Fax: +43-1-31304-5400
Brigitte Heinz	Umweltbundesamt	Abt. Terrestrische Ökologie	Spittelauer Lände 5 A-1090 Wien	Tel.: +43-1-31304-3720 Fax: +43-1-31304-5400
Dr. Ines Janssen	Österreichisches Ökologieinstitut	–	Seidengasse 13 A-1070 Wien	Tel.: +43-1-5236105-30 Fax: +43-1-5235843
Doz. Dr. Alois Jungbauer	Universität für Bodenkultur	Inst. f. angewandte Mikrobiologie	Muthgasse 18 A-1090 Wien	Tel.: +43-1-36006-6226 Fax: +43-1-3697615
Dr. Karin Kratz	Umweltbundesamt	Abt. Umweltchemikalien	Spittelauer Lände 5 A-1090 Wien	Tel.: +43-1-31304-674 Fax: +43-1-31304-5400
Jürgen Langenbach	Standard	Abt. Wissenschaft	Herrngasse 1 A-1010 Wien	Tel.: +43-1-53170-192 Fax: +43-1-53170-258
Michael Lohmeyer	Die Presse	Abt. Wissenschaft	Parkring 122 A-1010 Wien	Tel.: +43-1-51414-316 Fax: +43-1-51414-401
Dr. Gundi Lorbeer	Umweltbundesamt	Abt. Umweltanalytik	Spittelauer Lände 5 A-1090 Wien	Tel.: +43-1-31304-5216 Fax: +43-1-31304-5400
Mag. Simone Lughofer	WWF Österreich	–	Ottakringer Straße 114-116 A-1160 Wien	Tel.: +43-1-4891641-34 Fax: +43-1-4891641-44
Sabine Mörchel	Universität Kiel	Abt. Toxikologie	Weimarerstraße 8, Haus 3 D-24106 Kiel	Tel.: +49-431-59749-33 Fax: +49-431-59749-37

Name	Institution	Abteilung	Adresse	Tel./Fax-Nummer
Dr. Stefan Napetschnig	Bundesministerium für Gesundheit und Konsumentenschutz	Abteilung III/2 Toxikologie	Radetzkystraße 2 A-1030 Wien	Tel.: +43-1-71172-4455 Fax: +43-1-7137952
Dipl.-Ing. Martina Oberlehner	Bundesministerium für Umwelt, Jugend und Familie	Abteilung I/2	Stubenbastei 5 A-1010 Wien	Tel.: +43-1-51522-2341 Fax: +43-1-51522-7334
Dr. Karin Plochberger	Ludwig Boltzmann Institut f. Biologischen Landbau	–	Rinnböckstr. 15 A-1110 Wien	Tel.: +43-1-79514-97946 Fax: +43-1-7951499-97940
Prof. Dr. Hans Pusch	Ambulatorium für Andrologie	–	Schmiedg. 40/2 A-8010 Graz	Tel.: +43-316-834683 Fax: +43-316-834683
Mag. Alarich Riss	Umweltbundesamt	Abt. Terrestrische Ökologie	Spittelauer Lände 5 A-1090 Wien	Tel.: +43-1-31304-3650 Fax: +43-1-31304-5400
Dr. Susanne Schragner	Bundesministerium für Gesundheit und Konsumentenschutz	Abteilung III/2	Radetzkystraße 2 A-1030 Wien	Tel.: +43-1-71172-4454 Fax: +43-1-7137952
Prim. Dr. Gunter Schultes	TransMed-Institut Karolina Klinik Wien	–	Karolinengasse 5 A-1040 Wien	Tel.: +43-1-50469-17 Fax: +43-1-5046917-18
Dr. Hermann Schweinfurth	Schering-AG	Institut für Experimentelle Toxikologie	Müllerstraße 178 D-13342 Berlin	Tel.: +49-30-468-4262 Fax: +49-30-468-5364
Dr. Hasso Seibert	Univeristät Kiel	Inst. f. Toxikologie	Weimarer Str. 8, Haus 3 D-24106 Kiel	Tel.: +49-431- 59749-31 Fax: +49-431-59749-37
Dr. Robert Spendling-Wimmer	Bundesversuchs- u. Forschungsanstalt	Abt. Hydrogeologie	Arsenal A-1030 Wien	Tel.: +43-1-79747-564 Fax: +43-1-79747-592
Dr. Petra Stahlschmidt-Allner	ECT-Ökotoxikologie Ges.m.b.H.	–	Böttgerstraße 2-14 D-65439 Flörsheim	Tel.: +49-6145-9564-11 Fax: +49-6145-9564-99
Dipl.-Ing. Angelika Steger	Bundesministerium für Land- u. Forstwirtschaft	Abteilung IIA1	Stubenring 1 A-1012 Wien	Tel.: +43-1-71100-6966 Fax: +43-1-71100-2142
Dr. Ernst Steiner	Universität Graz	Hygiene Institut	Universitätsplatz 4 A-8010 Graz	Tel.: +43-316-380-4364 Fax: +43-316-382050
Dipl.Ing. Sigrid Steinkellner	Universität für Bodenkultur Wien	Institut für Pflanzenschutz	Peter Jordanstr. 82 A-1190 Wien	Tel.: +43-1-47654-3351, 3350, 3352 Fax: +43-1-4789177
SL Dr. Fritz Unterpertinger	Bundesministerium für Umwelt, Jugend und Familie	Sektion II	Stubenbastei 5 A-1010 Wien	Tel.: +43-1-51522-2000 Fax: +43-1-51522-2003
Peter Wallner	Ärztewoche	–	Lange-gasse 67 A-1080 Wien	Tel.: +43-1-5131047 Fax: +43-1-5134783
Univ.-Prof. Dr. Renate Walter	Inst. f. Umweltmedizin der Stadt Wien	–	Feldgasse 9 A-1082 Wien	Tel.: +43-1-40413-87807 Fax: +43-1-40413-99-87800
Dr. Aleksander Zilberszac	Bundesministerium für Gesundheit und Konsumentenschutz	Sektion III	Radetzkystraße 2 A-1030 Wien	Tel.: +43-1-71172-4617 Fax: +43-1-7137952