

## XENO-OESTROGENE

### Hormonell aktive Substanzen in der Umwelt: Xeno-oestrogene, Stellungnahme der Beratungskommission der Gesellschaft für Toxikologie in der DGPT

#### Einleitung - Problematik

Als endokrine Modulatoren bzw. "endocrine disruptors" oder "Umwelthormone" werden heute Chemikalien synthetischer und natürlicher Herkunft bezeichnet, die entweder wie körpereigene Hormone (agonistisch) wirken oder deren Wirkung abschwächen (antagonisieren) können. In einem sehr umstrittenen Bericht [10] wurde die Hypothese aufgestellt, dass die Spermienzahlen beim Menschen absinken [10] und dass dafür sogenannte Xenoestrogene (Fremdstoffe mit oestrogenen Wirkung) verantwortlich sind [66, 67]. Auch Reproduktions- und Entwicklungsstörungen bei Tieren, insbesondere Feminisierungserscheinungen, und eine Zunahme bestimmter maligner Erkrankungen beim Menschen, wie Brust- und Hodenkrebs, werden mit Umweltoestrogenen in Verbindung gebracht [15, 16].

Endokrine Modulatoren können über verschiedene Mechanismen auf das endokrine System einwirken: Häufig treten Wechselwirkungen der Stoffe mit den körpereigenen Hormonrezeptoren ein; auch Biosynthese, Transport und Abbau körpereigener Hormone können moduliert werden [75, 80]. In der Diskussion um Umweltchemikalien mit endokriner Wirkung finden Substanzen mit oestrogenen und mit anti-androgenen Eigenschaften besondere Aufmerksamkeit. Es ist unstrittig, dass solche Stoffe in hormonell gesteuerte Prozesse eingreifen können und dass prinzipiell die Möglichkeit besteht, dass Entwicklung und Reproduktion gestört werden oder dass eine Krebserkrankung gefördert wird (Gefährdungspotential). Die Frage, inwieweit die bisher bekannten, meist niedrigen Konzentrationen dieser Stoffe in Lebensmitteln und Umwelt biologisch relevant sind, ob also sogenannte Umwelthormone unter realistischen Expositionsbedingungen tatsächlich schädigende (adverse) Wirkungen bei Mensch und Tier haben, wird aber kontrovers diskutiert. Dies hängt u.a. damit zusammen, dass eine Risikoabschätzung [2] gerade in Bezug auf ein so komplexes System wie das Endokrinium schwierig ist und dazu noch Forschungsbedarf besteht.

In einzelnen, gut untersuchten Fällen waren unerwünschte Wirkungen hormonartig wirkender Chemikalien auf die menschliche Gesundheit bzw. auf Lebewesen in der Umwelt eindeutig nachweisbar: So kann Diethylstilbestrol beim Menschen Mißbildungen und Tumorerkrankungen hervorrufen, wenn es in hohen (pharmakologischen) Dosen verabreicht wird (s. Abschnitt IV); in einigen lokal begrenzten Regionen führten hohe Konzentrationen an Oestrogen-Agonisten oder Anti-Androgenen in der Umwelt bei Tieren zu Störungen der Ausbildung der Geschlechtsfunktionen (s. Abschnitt V). Diese Schadwirkungen sind bisher nur bei hohen Belastungen beobachtet worden.

Auf internationalen Tagungen wurde inzwischen eine kritische Bestandsaufnahme und Bewertung der vorliegenden wissenschaftlichen Daten vorgenommen; ferner sind Wissenslücken und der daraus resultierende Forschungsbedarf definiert worden [22, 39, 76, 79]. Auf dieser Grundlage und unter Berücksichtigung neuer Publikationen hat die Beratungskommission "Toxikologie" der DGPT die vorliegende Stellungnahme erarbeitet. Ziel ist es, den Kenntnisstand zu beschreiben und die für eine toxikologische Bewertung hormonell aktiver Stoffe wesentlichen Elemente darzustellen. Dies soll zu einer Versachlichung der Diskussion beitragen.

## I. Exposition und Vorkommen

Oestrogenartige Effekte sind für Substanzen mit einer erstaunlichen strukturellen Vielfalt gefunden worden, nämlich zahlreiche von Pflanzen und Pilzen gebildete Stoffe (Phyto- und Myko-oestrogene) sowie eine Reihe von Industriechemikalien [48, 64]. Diese Xeno-oestrogene unterscheiden sich in ihrer Potenz und kommen in unterschiedlicher Menge in der Umwelt und in Lebensmitteln vor.

Zur Gruppe der Phytoestrogene gehören eine Vielzahl von Substanzen aus verschiedenen Stoffklassen: Beispiele sind Coumestrol (ein Coumestan), Daidzein und Genistein (Isoflavone), Apigenin und Naringenin (Flavone), Enterodiol und Enterolacton (Lignane) sowie beta-Sitosterol (ein Steroid) und Resveratrol, ein natürlich vorkommendes Stilbenderivat [58, 71]. Neben diesen Pflanzeninhaltsstoffen werden auch Schimmelpilzprodukte wie Zearalenon, eine Lebensmittelkontaminante, zu den Phytoestrogenen gerechnet.

Mengenmäßig für den Menschen bedeutsame Phytoestrogene sind insbesondere Isoflavone, die vorwiegend in Sojabohnen und daraus hergestellten Produkten vorkommen; in Leinsamen und in faserreichen Lebensmitteln finden sich vor allem Lignane [41]. Die Exposition gegenüber Phytoestrogenen hängt von den Ernährungsgewohnheiten ab. Japanerinnen verzehren 30-50 mal mehr Sojaprodukte als amerikanische Frauen; sie haben entsprechend höhere Isoflavon-Expositionen [2]. Die tägliche Aufnahme an Isoflavonen kann beim Erwachsenen nach Schätzungen der DFG-Senatskommission zur Beurteilung der gesundheitlichen Unbedenklichkeit von Lebensmitteln (SKLM) bis zu etwa 1 mg/kg Körpergewicht betragen [20].

Nach kürzlich publizierten Befunden [65] wurden bei Säuglingsernährung auf Sojabasis mittlere Plasmaspiegel an Genistein und Daidzein ermittelt, die erheblich höher (684 und 295 ng/ml) waren als die im Blut von gestillten oder mit Kuhmilch ernährten Säuglingen (ca. 3 und 2 ng/ml). Die zirkulierenden Isoflavonkonzentrationen liegen damit höher als bei erwachsenen Japanern (40 - 240 ng/ml). Sie lassen sich mit einer im Vergleich zu Erwachsenen höheren Nahrungsaufnahme auf Körpergewichtsbasis erklären; die tägliche Phyto-oestrogen-Exposition durch sojahaltige Säuglingsnahrung betrug ca. 4,5 - 8 mg/kg Körpergewicht.

Oestrogene Aktivitäten sind auch für viele Stoffe synthetischen Ursprungs beschrieben, u.a. verschiedene Pestizide, polychlorierte Biphenyle, Alkylphenole, Bisphenole und einige Phthalate, die als Verunreinigung in der Umwelt und in Lebensmitteln auftreten können. Beispiele sind: DDT, Endosulfan, Kepon, Methoxychlor, Toxaphen, 4-Hydroxy-2',4',6'-trichlorbiphenyl, p-tert-Octylphenol, 4-Nonylphenol, Bisphenol A, Butylbenzylphthalat und Di-n-butylphthalat. Persistente Stoffe wie Organochlorpestizide und polychlorierte Biphenyle können sich in der Nahrungskette anreichern und finden sich in Spuren praktisch überall [4]. Jedoch ist die Belastung mit diesen Stoffen rückläufig [35, 43]. Schätzungen der SKLM zufolge beträgt die durchschnittliche tägliche Aufnahme an polychlorierten Biphenylen mit der Nahrung ca. 0,1 Mikrogramm pro Körpergewicht, für Bisphenol A ist es maximal 1 Mikrogramm pro Kilogramm Körpergewicht [20]. Vergleichbar geringe Aufnahmen sind für Phthalate ermittelt worden [56, 57].

Fazit (1): Eine toxikologische Bewertung muss immer die verschiedenen Quellen für hormonartig wirkende Stoffe berücksichtigen und ihren Beitrag zur Gesamtbelastung abschätzen. Für den Menschen und für Tiere in verschiedenen Lebensräumen sind dabei teilweise recht unterschiedliche Expositionssituationen zu berücksichtigen. So sind Belastungen mit oestrogenartig wirkenden synthetischen Stoffen vor dem Hintergrund der unvermeidlichen Aufnahme an Phytoöstrogenen mit der Nahrung und der physiologischen Variation endogener Hormonspiegel zu sehen.

## II. Feststellung von Wirkung und Wirkungsstärke

Zur Prüfung von Stoffen auf oestrogene oder antioestrogene Aktivität können verschiedene *in vitro* und *in vivo* Methoden herangezogen werden. Sie sind unterschiedlich aufwendig und besitzen verschiedene Empfindlichkeit und Aussagekraft. Für eine ausführlichere Darstellung muss auf die Literatur verwiesen werden [21, 54, 61, 84]. *In vitro* Assays sind vor allem für ein Screening verdächtiger Stoffe und für Untersuchungen zum Wirkungsmechanismus von Bedeutung. Für die Ermittlung der Wirkungsstärke sind aber Befunde aus *in vivo* Tests unverzichtbar, denn alle *in vitro* Testsysteme sind dahingehend limitiert, dass Fragen zur Toxikokinetik einer Substanz unbeantwortet bleiben. Zudem lassen sich *in vivo* auch andere, nicht direkt Hormonrezeptor-vermittelte endokrine Wirkungen und gewebe-spezifische hormonelle Aktivitäten erfassen.

### *in vitro* Tests

für die Wirkung hormonell aktiver Stoffe ist deren Interaktion mit zellulären Rezeptoren von zentraler Bedeutung. Allerdings ist die Stärke der Interaktion sehr unterschiedlich: Phytoöstrogene wie Coumestrol, Daidzein und Genistein binden z.B. etwa 100 bis 1000 mal schwächer an den Oestrogenrezeptor als das körpereigene Hormon Oestradiol [51]. für synthetische Stoffe wie die o.g. Industriechemikalien und Pestizide wird erst bei Konzentrationen, die 10 000 bis 100 000-fach höher liegen als bei Oestradiol, eine Bindung messbar [27]. Die Affinität zum Rezeptor allein läßt jedoch keine Aussagen über die Wirkqualität (agonistisch oder antagonistisch) zu. Daher sind funktionale Tests entwickelt worden, mit denen sich die aus einer Rezeptorinteraktion resultierenden Effekte auf zellulärer oder molekularer Ebene messen lassen.

Mit dem als sehr sensitiv geltenden "E-Screen" sind z.B. etliche in der Umwelt vorkommende Chemikalien untersucht worden. In diesem Test wird ihre proliferations-fördernde Wirkung in der Oestrogen-sensitiven Brustkrebszelllinie (MCF-7) mit der von Oestradiol (E<sub>2</sub>) verglichen. Die synthetischen Stoffe waren alle deutlich schwächer wirksam als Phytoöstrogene und um Größenordnungen (4-6 Zehnerpotenzen) schwächer wirksam als Oestradiol (siehe Tabelle 1 und dort genannte Literatur).

In anderen *in vitro* Tests wird die Transaktivierung bestimmter Hormon-regulierter Gene (Reporter-gen-Assays) oder die vermehrte Produktion eines geeigneten Markerproteins bestimmt, z.B. Vitellogenin-Induktion in Fischhepatozyten [4].

## in vivo Untersuchungen

Die biologisch wirksame Konzentration und damit die oestrogene Wirkungsstärke einer Substanz wird im Organismus wesentlich von pharmakokinetischen Faktoren wie Resorption, Verteilung und Ausscheidung bestimmt, die in vitro nicht berücksichtigt werden. Zudem können in vitro Testsysteme häufig nicht oder nur bedingt Pro-oestrogene in eine aktive Form umwandeln, wie das Beispiel Methoxychlor zeigt: Die Substanz selbst ist in vitro inaktiv, wird aber im Nager-Bioassay nach Umwandlung in den aktiven Metaboliten (HPTE 5) als oestrogen wirksam erkannt [68].

Aus diesem Grund ist die Prüfung im Tierversuch unverzichtbar. Dazu wird meist die Wirkung eines Stoffes auf das Oestrogen-Zielorgan Uterus untersucht [54, 61]. Im Uterus-gewichts-Test mit juvenilen Ratten sind die Aktivitäten von o,p'-DDT und Kepon um 4 Zehnerpotenzen geringer als die von Oestradiol [14, 33]. Die relative Wirkungsstärke ist also in vivo deutlich höher, als die in vitro Daten es zunächst vermuten lassen, was jedoch in Einklang mit der langsamen Elimination dieser sehr lipophilen Stoffe steht.

Im Uterusgewichts-Test an juvenilen (präpubertären) CD-1 Mäusen sind bei subkutaner Gabe für p-Nonylphenol oder o,p'-DDT erst bei Dosierungen von mehr als 10 000 Mikrogramm pro Kilogramm KG uterotrophe Effekte nachweisbar; Endosulfan zeigte keine, Kepon nur eine sehr schwache Aktivität [68]. Weitere Versuche mit oraler Applikation der Stoffe, also dem in der Praxis bedeutsamsten Aufnahmepfad, stehen noch aus.

Für Phytoestrogene liegen ältere Daten aus einem Uterusgewichtstest an Mäusen vor (Tabelle 2). Die für Zearalenon, Coumestrol und Genistein ermittelten Aktivitäten lagen weit (4 bis 6 Zehnerpotenzen) unter denen von DES [71]. Auch wenn man berücksichtigt, dass DES bei oraler Gabe viel wirksamer ist als Oestradiol, ist die ermittelte Wirkstärke der Phytoestrogene im Vergleich zu körpereigenen Hormonen deutlich geringer. Bei entsprechend hoher Exposition kann aber durchaus eine endokrine Wirkung auftreten (s. Abschnitt IV). In diesem Kontext ist aber der Hinweis angebracht, dass "endokrine Wirkung" nicht von vornherein mit "adversen Effekt" gleichzusetzen ist.

Für eine toxikologische Bewertung der Umweltoestrogene sind neben Daten zur Wirkungsstärke (Dosis-Wirkungs-Beziehungen) auch Informationen zur Pharmakokinetik notwendig [9, 39]. In in vivo Studien wird deren Bioverfügbarkeit (resorbierte Anteile) anhand der Blutspiegel und das Bioakkumulationsverhalten der Stoffe ermittelt. Für repräsentative Umweltoestrogene werden im Rahmen verschiedener Forschungs-vorhaben solche Untersuchungen durchgeführt. Das Ziel, eine Datenbasis für Wirkungs-stärkenvergleiche und zur Pharmakokinetik dieser Stoffe zu schaffen, dürfte in den nächsten Jahren erreicht werden.

Fazit (2) : In vitro Testmethoden eignen sich vorrangig zur Prüfung (dem Screening) von Verdachtsstoffen und einer ersten Abschätzung ihrer hormonellen Aktivität; ihr Einsatz ist auch für Untersuchungen zum Wirkungsmechanismus geeignet. In vivo Versuche sind zur Bestimmung der relativen Wirkungsstärke und zur Aufklärung der Pharmakokinetik erforderlich und müssen neben Informationen zur Expositionshöhe als wichtige Elemente in eine Risikoabschätzung für Umweltoestrogene eingehen.

### III. Kombinationseffekte:

Aus der Interaktion eines Fremdstoffs mit dem Oestrogenrezeptor kann nicht nur eine agonistische, sondern auch eine antagonistische Wirkung resultieren. Diese ist erst feststellbar, wenn der fragliche Stoff in Kombination mit Oestradiol geprüft wird. Auch dann dürfte eine eindeutige Zuordnung zur Gruppe der "Xeno-Oestrogene" bzw. "Xeno-Anti-Oestrogene" nicht immer möglich sein, wie das Beispiel des Arzneimittels Tamoxifen zeigt: in MCF-7 (Brustkrebs-)Zellkulturen sind - je nachdem ob es allein oder in Kombination mit Oestradiol geprüft wird - oestrogene bzw. antioestrogene Wirkungen festzustellen. Am Endometrium, einem anderen "Zielgewebe", wirkt Tamoxifen überwiegend agonistisch [81]. Für Umweltoestrogene stehen Untersuchungen in Kombination mit Oestradiol noch aus; solche Untersuchungen haben dem Umstand Rechnung zu tragen, dass der weibliche und männliche Organismus selbst oestrogene Hormone produziert. Auch zur Frage gewebe-spezifischer Effekte von Fremdstoffen besteht noch weiterer Forschungsbedarf. In diesem Kontext sind neuere Erkenntnisse über molekulare Wirkmechanismen von Steroiden und Befunde über Oestrogenrezeptor-Subtypen mit unterschiedlicher Organverteilung von Interesse [42, 44].

Fazit (3) : Umweltstoffe pflanzlicher und synthetischer Herkunft können sowohl oestrogene als auch antioestrogene Eigenschaften haben. Zur weiteren Charakterisierung ihrer Wirkqualität (agonistisch / antagonistisch) sind Untersuchungen in verschiedenen Zielgeweben und in Kombination mit Oestradiol angezeigt. Ob Stimulation oder Hemmung zum Tragen kommt, kann von der Dosis, der Spezies, dem betrachteten Zielorgan und dem endokrinen Status des Organismus abhängen.

Eine andere in Verbindung mit der Bewertung von Umweltoestrogenen intensiv diskutierte Frage ist die nach überadditiven, synergistischen Effekten bei Mischexpositionen. Anlaß zur Besorgnis hatten 1996 publizierte Studien mit Gemischen umweltrelevanter Fremdstoffe gegeben: es wurde berichtet, dass in einem Reporter-gen-Assay in Hefe zwei oder drei einzeln nur schwach wirksame Stoffe in Kombination tausendfach wirksamer waren [ 5 ] . Diese Befunde ließen sich jedoch bei Wiederholungsexperimenten in anderen Laboratorien in keinem Fall reproduzieren [6, 60a,b], und kürzlich ist von den Autoren selbst ein offizieller Widerruf der o.g. Publikation veröffentlicht worden [46].

Fazit (4): Es gibt keine Anhaltspunkte dafür, dass bei gleichzeitiger Exposition gegenüber mehreren Umweltoestrogenen überadditive Wirkungen auftreten.

### IV. Erfahrungen beim Menschen :

Für die biologische Plausibilität einer Gefährdung durch Umweltstoffe mit oestrogener Aktivität wird meist das Beispiel Diethylstilbestrol (DES) angeführt. Dieses oral stark wirksame Oestrogen wurde schwangeren Frauen in der irrigen Annahme verabreicht, es könne zum Erhalt der Schwangerschaft beitragen und Fehlgeburten verhindern. DES wurde in massiven Dosierungen verordnet: üblicherweise anfangs 5 mg täglich, dann alle zwei Wochen um weitere 5 mg täglich gesteigert, also z.B. im achten Monat  $\geq 125$  mg/Tag [37]. In tierexperimentellen Studien [52] und in ausgedehnten epidemiologischen Untersuchungen (s.u.) wurde zweifelsfrei bewiesen, dass sehr hohe Dosen von DES in der Schwangerschaft die Entwicklung des Foeten schwerwiegend beeinträchtigen können.

Bei jungen Frauen traten als Folge einer vorgeburtlichen DES-Einwirkung (mit einer Inzidenz von 0,1-1 von 1000) Adenokarzinome der Scheide und der Cervix auf. Bei einem viel höheren Prozentsatz der sogenannten "DES-Töchter" wurden eine vaginale Adenose und andere, nicht-tumorigene Veränderungen des Genitaltraktes diagnostiziert [36, 50]. Derzeit können keine Aussagen darüber gemacht werden, ob in dieser Gruppe noch mit Spätfolgen, z.B. einem erhöhtem Tumorrisiko nach der Menopause, zu rechnen ist.

In der Gruppe der "DES-Mütter" wurde eine geringe, aber statistisch signifikante Erhöhung der Brustkrebs-Inzidenz gefunden, die erst nach einer langen zeitlichen Latenz auftrat [30]. Nach neueren Studien [17] steigt das relative Risiko mit dem Alter nicht weiter an; es liegt mehr als 30 Jahre nach der DES-Einnahme bei etwa 1,35.

Bei den männlichen Nachkommen DES-behandelter Frauen wurden Epididymis-Zysten, Kryptorchismus und andere Genitaltraktanomalien (u.a. hypoplastische Hoden) viel häufiger festgestellt als bei nicht exponierten Vergleichspersonen (etwa 30 % gegenüber 8 %). Die durchschnittliche Spermienzahl war bei den DES-exponierten Männern nur geringfügig niedriger als bei den Kontrollen ( $91 \times 10^6$  /ml gegenüber  $115 \times 10^6$  /ml); allerdings war bei den "DES-Söhnen" die Spermienqualität (nach Eliasson) eindeutig schlechter [28]. Dies wurde mit einer höheren Inzidenz hypoplastischer Hoden in der DES-Gruppe in Verbindung gebracht. Dieselben Personen wurden nochmals im Alter von 38-41 Jahren untersucht und dabei keine Anzeichen für eine verminderte Fertilität gefunden [83]. Frühere Hinweise auf eine erhöhte Inzidenz an Hodenkrebs wurden in umfangreichen neueren Studien nicht bestätigt [63, 80].

In Kohorten von "DES-Söhnen", die vergleichsweise niedrigen maternalen DES-Dosen ausgesetzt waren (z. B. in der Mayo-Clinic) fanden sich interessanterweise keine Anzeichen für unerwünschte Effekte, wie sie in den Studien von Hochdosis-Kohorten (z.B. der University of Chicago) als Folge einer DES-Exposition in utero beschrieben sind [29, Review]. Im Mausmodell waren bei unterschiedlich hohen DES Gaben nur in der höchsten Dosisgruppe Genitaltraktveränderungen in männlichen Nachkommen feststellbar [47, 53]. Tierexperimentelle Studien und epidemiologische Befunde zeigen übereinstimmend die Existenz einer eindeutigen Dosis-Wirkungsbeziehung; offenbar kommt es unterhalb einer bestimmten (Frage: welcher?) maternalen DES-Dosis nicht mehr zur Auslösung unerwünschter Effekte.

Fazit (5) : Ein kausaler Zusammenhang zwischen der Einwirkung eines hormonell wirksamen Fremdstoffs und adversen Effekten auf die menschliche Gesundheit ist mit wenigen Ausnahmen, z.B. DES, nicht nachgewiesen. Die Annahme, dass gleichartige Gesundheitsschäden wie nach hohen Dosen des stark wirksamen Stoffes DES auch infolge sehr niedriger Exposition des Foeten in utero mit gering wirksamen Xenooestrogenen eintreten, ist extrem unwahrscheinlich.

Bei der Abschätzung von Risiken für niedrig konzentrierte Xenooestrogene ist die Betrachtung in der Therapie üblicher Dosierungen von Steroidhormonen nützlich. Sie können Anhaltspunkte dafür liefern, bei welchen Hormonmengen mit einer Wirkung auf das Endokrinium zu rechnen ist. Bei oralen Kontrazeptiva liegen die Ethinylöstradioldosen bei 10 - 50 Mikrogramm/Tag. Zur Hormonsubstitution in der Menopause werden verschiedene (meist geringer wirksame) oestrogene Steroide in höheren Dosen (meist 1-2 mg/Tag) eingesetzt.

Bereits vor etlichen Jahren ist die Sorge geäußert worden, von Mensch und Tier ausgeschiedene Steroidhormone, die ins Trinkwasser gelangen, könnten zu einer relevanten Oestrogenbelastung des Menschen führen. ältere Messungen in Trinkwasserproben ergaben Werte von maximal 22 ng Ethinyloestradiol pro Liter [62]. Bei einer täglichen Aufnahme von 2 Litern entspräche das einer Zufuhr von ca. 50 ng Ethinyloestradiol pro Tag. Diese Menge ist weit niedriger als die geringste Dosis, bei der - selbst bei Kindern - eine Hormon-wirkung nachweisbar ist, nämlich 2 - 5 Mikrogramm täglich [74]. Somit ist sogar bei dieser (relativ hohen) Belastung im Trinkwasser eine Auswirkung auf den Mensch sehr unwahrscheinlich. Nach neuen Untersuchungen über das Vorkommen von Umweltoestrogenen im Wasser lag die Summe an freiem und konjugiertem Ethinyloestradiol bei maximal 2,5 ng/L; dabei überwogen in der Mehrzahl der Stichproben natürliche Oestrogene (Oestriol) [38]. Allerdings ist nicht auszuschließen, dass von Mensch und Tier ausgeschiedene natürliche und synthetische Steroidhormone mit oestrogener Aktivität u.U. bei aquatischen Organismen endokrine Effekte auslösen (s. Abschnitt V).

Obwohl die Wirkstärke der Phytoöstrogene deutlich geringer ist als diejenige von körpereigenen Oestrogenen, kann bei entsprechender Exposition durchaus eine Wirkung auf das endokrine System auftreten, wie neuere Studien gezeigt haben. Bei jungen Frauen, die während eines Menstruationszyklus täglich 60 g Sojaprotein (mit 45 mg Isoflavonen) erhielten, kam es zur Verlängerung des Zyklus, insbesondere der folliculären Phase, und zu deutlich erniedrigten LH- und FSH-Gipfeln in der Zyklusmitte, also zu Effekten auf gonado-trope Hormone und ferner zu einer Senkung der Serum-Cholesterol-Spiegel [12, 13]. Das Beispiel illustriert, dass eine endokrine Wirkung nicht automatisch mit "unerwünschtem Effekt" gleichzusetzen ist: In der Follikelphase ist die Zell-teilungsrate in der Brustdrüse niedriger als in den übrigen Zyklusphasen [24] und für Frauen mit einem längeren Zyklus wird ein niedrigeres Brustkrebsrisiko erwartet [11]. In Japan, wo der Verzehr von Sojaprodukten 30-50-mal höher ist als in den USA, sind die Brustkrebsraten niedrig, in den USA aber hoch. Sojaprodukte bzw. die darin enthaltenen Phytoöstrogene haben also möglicherweise eine Schutzwirkung; eine Vorstellung, die durch Befunde in verschiedenen tierexperimentellen Tumormodellen gestützt wird [Reviews 2, 11].

Besonders hohe Belastungen mit Phytoöstrogenen können bei Säuglingen und Klein-kindern bestehen. Säuglinge, die Babynahrung auf Sojabasis erhalten, verzehren auf körper-gewichtsbasis mit 4,5-8 mg/kg das 6-11 fache der täglichen Isoflavon-Dosis (0,7 mg/kg), die in erwachsenen Frauen eine Zyklusverlängerung bewirkte [12]. Da die gemessenen Isoflavon-Plasmaspiegel (Genistein plus Daidzein ca. 980 ng/ml) auch erheblich höher sind als die endogenen Oestrogenspiegel in Säuglingen [65], ist trotz der geringeren Wirkstärke (ca. 1/1000 der von Oestradiol ) nicht auszuschließen, dass die Phytoöstrogene biologisch wirksam werden. Es besteht also noch Unsicherheit in Hinblick auf endokrine Effekte und mögliche Konsequenzen bei diesem Personenkreis. Andererseits werden Sojadiäten seit etwa 30 Jahren bei Säuglingen mit Kuhmilchallergien eingesetzt; die damit bestehende Erfahrung hat bisher keine nachteiligen Effekte auf die Entwicklung dieser Kinder erkennen lassen. Genauere Untersuchungen an diesen Personen stehen aus.

Zu einer ähnlichen Bewertung kam die DFG-Senatskommission zur Beurteilung der gesundheitlichen Unbedenklichkeit von Lebensmitteln: Danach spielen unter den in Lebens-mitteln vorkommenden Stoffen mit hormonellem Potential pflanzliche Oestrogene die größte Rolle. Sie weist auch darauf hin, dass die Bedeutung ihres Vorkommens in Lebensmitteln für die Gesundheit des Menschen in verschiedenen Lebensphasen noch nicht endgültig geklärt ist und eine hohe Exposition im frühkindli-

chen Alter besondere Beachtung verdient. Ferner kam die SKLM zu dem Schluß, dass Stoffe anthropogenen Ursprungs, die oestrogene Eigenschaften besitzen, mit Lebensmitteln in viel geringeren Mengen als Phytoöstrogene aufgenommen werden und die in Lebensmitteln vorkommenden geringen Konzentrationen der synthetischen Stoffe nach gegenwärtigem Stand kein gesundheitliches Risiko darstellen [20].

Fazit (6) : Die Erfahrungen mit Phytoöstrogenen und therapeutisch genutzten Steroidhormonen zeigen (zum einen), dass eine endokrine Wirkung nicht gleichbedeutend mit "unerwünschtem Effekt" ist. Sie zeigen aber auch, wie schwierig es ist, eine Wirksamkeitsschwelle zu definieren.

#### V. ökotoxikologische Aspekte

Umweltoestrogene sind in unterschiedlichem Umfang in den Lebensräumen (Habitat) verschiedener Tierarten nachweisbar. An Orten mit erheblicher Kontamination sind bei einigen Spezies Reproduktions- und Entwicklungsstörungen beobachtet worden, die auf eine Belastung mit synthetischen Chemikalien mit hormonartiger Wirkung zurückgeführt worden sind. Ein bekanntes Beispiel ist der Apopka-See in Florida, in den bei einem Unfall hohe Mengen des DDT-haltigen Insektizids Dicofol gelangten. Es fiel auf, dass an diesem See viele Alligatoreier unbefruchtet blieben und die Alligatormännchen einen kleineren Penis hatten [31, 32]. Die Feminisierung der männlichen Alligatoren wurde anfangs auf die oestrogenen Eigenschaften von DDT - Isomeren zurückgeführt; inzwischen ist für den persistierenden Metaboliten p,p'-DDE eine ausgeprägte anti-androgene Wirkung nachgewiesen worden [40].

Lipophile Stoffe wie DDT werden im Körperfett gespeichert; am stärksten akkumulieren sie bei Tierarten, die am Ende der Nahrungskette stehen. Seemöwen gehörten daher zu den ersten Spezies, bei denen deutlich verminderte Bruterfolge beobachtet und auf hohe Körpergehalte an Organochlorverbindungen zurückgeführt wurden [26]. In anderen Fällen ist oft noch unklar, inwieweit adverse Effekte auf Reproduktion und Entwicklung bei wildlebenden Tieren tatsächlich auf eine erhöhte Exposition gegenüber Umwelthormonen zurückzuführen sind, zumal auch andere Stoffklassen und nicht-chemische Veränderungen im Lebensraum dabei eine Rolle spielen können [77]. Daraus ergibt sich die Notwendigkeit einer sorgfältigen Erforschung von Ursache-Wirkungs-Zusammenhängen.

Ähnlich wie beim Menschen ist auch für Tiere in verschiedenen Lebensräumen neben synthetischen Umwelthormonen eine Exposition gegen andere Stoffe natürlicher Herkunft wie Phytoöstrogene und Steroide in Betracht zu ziehen. So ist die Beobachtung einer stark verminderten Fertilität bei australischen Schafen nach Aufnahme bestimmter Kleesorten mit hohen Gehalten an Isoflavonen und Coumestrol ein deutlicher Hinweis auf deren endokrine Wirksamkeit in Säugetieren [1]. Phytoöstrogene sind auch im Abwasser von Papiermühlen nachgewiesen worden. Es wird diskutiert, dass sie bei Fischen, die an solchen Standorten leben, für Feminisierungserscheinungen verantwortlich sind [49].

Die Ausscheidung von Steroidoestrogenen durch Menschen und Nutztiere ist eine weitere wichtige Ursache für die Exposition mit Hormonen bei aquatischen Organismen, z.B. Fischen in Abwässern aus Kläranlagen [59]. In neueren britischen Untersuchungen wurde eine chemische Fraktionierung mittels HPLC mit einem Bioassay für "Oestrogenität" kombiniert. Es ergab sich, dass ganz überwiegend (zu > 80 %) Steroidoestrogene natürlicher Herkunft für die oestrogene Aktivität in Kläranlagenabläu-



fen verantwortlich waren [73]. Auch in Proben aus verschiedenen Stufen des Wasserkreislaufs in Deutschland überwogen natürliche Oestrogene und deren Metabolite; gelegentlich waren auch nennenswerte Konzentrationen an Ethinyloestradiol (EE 2 ) messbar [38, 72]. Die gefundenen Steroid-Konzentrationen lagen teilweise in Bereichen, die für eine Auslösung hormoneller Effekte, z.B. Vitellogenin-Induktion in männlichen Regenbogenforellen, hinreichend sind, nämlich im Bereich von 0,3 ng/L für EE 2 ; für Alkylphenole tritt dies erst bei 10 Mikrogramm pro Liter und darüber auf [34]. Inwieweit natürliche oder andere Stoffe mit oestrogener Aktivität für endokrine Effekte an Fischen verantwortlich sind, hängt weitgehend vom Eintrag und damit vom untersuchten Gewässer ab. Zur Beurteilung der Relevanz in Gewässern vorkommender Stoffkonzentrationen für die Entfaltung endokriner Wirkungen werden weitere Daten benötigt; Vitellogenin-Induktion ist ein Biomarker für Exposition, steht aber noch nicht für Schädigung einer Population. Expositions-Wirkungsdaten in adäquaten Prüfsystemen liegen bisher nur für wenige Substanzen mit endokriner Aktivität vor; als adäquat werden dabei primär in vivo Teste an aquatischen Organismen angesehen [79].

Die Komplexität der ökotoxikologischen Aufgabenstellung spiegelt sich auch in der Forderung nach einer Prüfung von Verdachtsstoffen in verschiedenen Tierarten wider [3, 4] . Folgende Gesichtspunkte sind hierbei u.a. zu berücksichtigen. Speziesunterschiede in der Metabolisierung : sie können z.B. zu einer mehr oder weniger effizienten Inaktivierung von Umweltoestrogenen und damit zu unterschiedlich hohen inneren Wirkspiegeln führen. Ferner sind Unterschiede in Hinblick auf die eine sexuelle Differenzierung prägenden Hormone bekannt: bei Säugern sind es primär Oestrogene, bei Vögeln Oestrogene und Androgene, bei einigen Reptilien und Fischen auch andere Faktoren, wie z.B. Temperatur [4, 77]. Zudem gibt es deutliche Unterschiede bei den endogenen Hormonspiegeln zwischen den Arten: sie lassen unterschiedliche Empfindlichkeiten gegenüber möglichen Störungen ihrer endokrinen Regulationsmechanismen erwarten.

Die Sorge, dass Stoffe mit Wirkung auf das endokrine System den Reproduktionserfolg einzelner Spezies in bestimmten Lebensräumen gefährden können, wird von Wissenschaft und Politik ernst genommen. Dort, wo klare Ursache-Wirkungs-Zusammenhänge aufgezeigt worden sind, hat dies bereits früher zu Stoffverboten und zu Anwendungsbeschränkungen geführt (z.B. DDT-Verbot; PCB-Regulation; Beschränkung von Antifouling-Anstrichen mit Tributylzinn). Eine Forderung nach einem prophylaktischen Stoffverbot von Chemikalien, für die hormonähnliche Eigenschaften (ein Gefährdungspotential) nachgewiesen wurden, sollte nur unter bestimmten Bedingungen in Erwägung gezogen werden, nämlich wenn Expositionsmaß und in vivo nachgewiesene Wirkungsstärke eine Gefährdung erwarten lassen. Hormonelle Aktivität allein bedeutet nicht Toxizität, die ein Verbot begründen könnte (s. Abschnitt IV. ). Bei einem Stoff mit geringer hormoneller Aktivität ohne Kumulationsneigung sind Zweifel angebracht, ob in der Praxis auftretende Mengen zu relevanten biologischen Wirkungen führen können.

(Fazit 7): Die ökotoxikologie steht vor der schwierigen Aufgabe, mögliche Ursachen bei der Beeinflussung hormoneller Steuerungen und deren Wirkungen auf Organismen (bzw. Populationen) in sehr unterschiedlichen Lebensräumen zu ermitteln. Außer der oestrogenen Aktivität von natürlichen und synthetischen Umwelthormonen müssen dabei auch antiandrogene Wirkungen berücksichtigt werden. Besondere Beachtung verdienen Stoffe, die zur Bioakkumulation neigen.

Unter Berücksichtigung tierartlicher Unterschiede und aus der Erkenntnis, dass auch nicht-chemische Veränderungen in der Umwelt den Reproduktionserfolg einzelner Spezies deutlich beeinflussen können, ergibt sich die Notwendigkeit einer sorgfältigen Erforschung von Ursache-Wirkungs-Zusammenhängen.

#### Schlussbemerkungen

Beobachtungen über die Beeinflussung hormoneller Regulationsmechanismen bei Mensch und Tier haben die Aufmerksamkeit auf eine mögliche Gefährdung durch Umweltstoffe mit hormoneller, insbesondere solche mit oestrogener Aktivität gelenkt. Die verfügbaren Informationen über Wirkungsweise, Dosis-Abhängigkeit und Art der Exposition (Expositionsszenarien) lassen das Ausmaß der Gefährdung für den Menschen gering erscheinen. Die ökotoxikologischen Auswirkungen sind demgegenüber weniger klar.

Für eine fundierte Risikocharakterisierung und Risikoabschätzung sind weitergehende Untersuchungen erforderlich. Dem tragen zahlreiche Forschungsprogramme in verschiedenen Ländern Rechnung. Auch in Deutschland wird Forschung auf diesem Gebiet unterstützt: etliche Vorhaben zum Thema "Chemikalien in der Umwelt mit Wirkung auf das endokrine System (Umwelthormone)" mit Mitteln der Bundesregierung [18] und weitere Projekte durch den Verband der Chemischen Industrie und einzelne Bundesländer. Weitere Informationen zu abgeschlossenen und zu laufenden Projekten sind beim Umweltbundesamt erhältlich, das auch die nationalen Aktivitäten koordiniert.

G.H. Degen\*, H. Foth, R. Kahl, H. Kappus, H.G. Neumann,

F. Oesch, R. Schulte-Hermann

\* Korrespondenz-Adresse: Frau Prof. Dr. Gisela Degen, Institut für Arbeitsphysiologie an der Universität Dortmund, Ardeystr. 67, D-44139 Dortmund

#### Literatur

[1] Adams NR (1989) Phytoestrogens. In: Toxicants of Plant Origin, Vol 4: Phenolics (Cheeke PR, ed), CRC Press, Boca Raton, Florida, pp. 23-51

[2] Adlercreutz H (1995) Phyto-estrogens: Epidemiology and a possible role in cancer protection. Environm Health Perspect 103 (suppl 7): 103-112

[3] Ankley GT, Johnson RD, Detenbeck NE, Bradbury SP, Toth G, Folmar LC (1997) Development of a research strategy for assessing the ecological risk of endocrine disruptors. Rev Toxicol 1: 231-267

[4] Ankley GT, Mihaich E, Stahl R, Tillitt D, Colborn T, McMaster S, Miller R et al (1998) Overview of a workshop on screening methods for detecting potential (anti-) estrogenic/ androgenic chemicals in wildlife. Environm Toxicol Chem 17: 68-87

- [5] Arnold SF, Klotz D, Collins BM, Vonier PM, Guillette LJ, McLachlan JA (1996) Synergistic activation of estrogen receptor with combinations of environmental chemicals. *Science* 272: 1489-1492
- [6] Ashby J, Lefevre PA, Odum J, Harris CA, Routledge EJ, Sumpter JP (1997) Synergy between synthetic estrogens ? *Nature* 385: 494
- [7] Bahadur G, Ling KLE, Katz M (1996) Statistical modelling reveals demography and time are the main contributing factors in global sperm count changes between 1938 and 1996. *Human Reproduction* 11: 2635-2639
- [8] Bromwich P, Cogen J, Stewart I, Walker A (1994) Decline in sperm counts: an artefact of changed reference range of "normal" ? *Brit Med J* 309: 19-22
- [9] Bundesministerium für Justiz (Hrsg.) Ausschreibung von Forschungsvorhaben zum Thema "Chemikalien in der Umwelt mit Wirkung auf das endokrine System ("Umwelthormone"). *Bundesanzeiger*, Jahrgang 48: Nr 243, (1996)
- [10] Carlsen E, Giwercman A, Keiding N, Skakkebaek NE (1992) Evidence for decreasing quality of semen during past 50 years. *Brit Med J* 305: 609-613
- [11] Cassidy A (1996) Physiological effects of phyto-estrogens in relation to cancer and other human health risks. *Proceedings of the Nutrition Society* 55: 399-417
- [12] Cassidy A, Bingham S, Setchell KDR (1994): Biological effects of soy protein rich in isoflavones on the menstrual cycle of premenopausal women. *Am J Clin Nutr* 60: 333-340
- [13] Cassidy A, Bingham S, Setchell KDR (1995) Biological effects isoflavones in young women: importance of the chemical composition of soyabean products. *Brit J Nutr* 74: 587-601
- [14] Cecil HC, Bitman J, Harris SJ (1971) Estrogenicity of o,p'-DDT in rats. *Agr Food Chem* 19: 61-65
- [15] Colburn T, Clement C, Eds. (1992) Chemically-induced alterations in sexual and functional development: The wildlife/ human connection Princeton Scientific Publ Co., New Jersey
- [16] Colburn T, Dumanoski D, Myers JP (1996) Die bedrohte Zukunft. Droemer Knauer, München
- [17] Colton T, Greenberg ER, Noller K et al (1993) Breast cancer in mothers prescribed diethylstilbestrol in pregnancy. Further follow-up. *J Amer Med Ass* 269: 2096-2100
- [18] Deutscher Bundestag, Drucksache 13/10606 vom 06.05.1998
- [19] Deutsche Forschungsgemeinschaft (1983) rückstände in Lebensmitteln tierischer Herkunft. Mitteilung X der Kommission zur Prüfung von rückständen in Lebensmitteln. Verlag Chemie, Weinheim

- [20] Deutsche Forschungsgemeinschaft (1998) *Hormonally Active Agents in Food*, Symposium, DFG-Senatskommission zur Beurteilung der gesundheitlichen Unbedenklichkeit von Lebensmitteln, Wiley-VCH, Weinheim
- [21] European Centre for Ecotoxicology and Toxicology of Chemicals (1996) ECETOC Task Force on Environmental Oestrogens: "Environmental oestrogens: male reproduction and reproductive development" Report, ECETOC Document No. 32
- [22] European Community (1997) *European workshop on the impact of endocrine disruptors on human health and wildlife*. Workshop publication EUR 17549, Paris
- [23] Farrow S (1994) Falling sperm quality: fact or fiction ? *Brit. Med J* 309: 1-2
- [24] Ferguson DJP, Anderson TJ (1981) Morphological evaluation of cell turnover in relation to menstrual cycle in the "resting" human breast. *Brit J Cancer* 44: 177-181
- [25] Fish H, Feldshuh J, Goluboff ET, Broder SJ, Olsen JH, Barad DH (1996) Semen analysis in 1,283 men from the United States over a 25-year period: no decline in semen quality. *Fertil Steril* 65: 1009-1014
- [26] Fry DM, Toone CK (1981) DDT-induced feminization of gull embryos. *Science* 213: 922-924
- [ 27 ] Gaido KW, Leonard LS, Lovell S, Gould JC, Babai D, Portier CJ, McDonnell DP (1997) Evaluation of chemicals with endocrine modulating activity in a yeast-based steroid hormone receptor gene transcription assay. *Tox Appl Pharmacol* 143:205-212
- [28] Gill WB, Schuhmacher FB, Bibbo M, Straus FH & Schoenberg HW (1987) Association of diethylstilbestrol exposure in utero with cryptorchidism, testicular hypoplasia and semen abnormalities. *J Urol* 122: 36-39
- [29] Golden RJ, Noller KL, Titus-Ernsthoff L, Kaufman RH, Mittendorf R, Stillman R, Reese EA (1998) Environmental endocrine modulators and human health: an assessment of the biological evidence. *Crit Rev Toxicology* 28: 109-227
- [30] Greenberg ER, Barnes AB, Ressegue L et al (1984) Breast cancer in mothers given diethylstilbestrol in pregnancy. *N Engl J Med* 311: 1393-1398
- [31] Guillette L, Gross T, Mason GR, Matter JM, Percival HF, Woodward AR (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: 680-688
- [32] Guillette L, Pickford DB Crain DA Rooney AA, Percival HF (1996) Reduction in penis size and plasma testosterone concentrations in juvenile alligators living in a contaminated environment. *Gen Comp Endocrinol* 101: 32-34

- [33] Hammond B, Katzenellenbogen BS, Krauthammer N, McDonnell J (1979) Estrogenic activity of the insecticide chlordecone (Kepone) and interaction with uterine estrogen receptors. *Proc Natl Acad Sci* 76: 6641-6645
- [34] Harries JE, Sheahan DA, Jobling S, Mathiessen P, Neall P, Routledge E, Rycroft R, Sumpter JP, Tyler T (1996): A survey of estrogenic activity in United Kingdom inland waters. *Environ Toxicol Chem* 15: 1993-2002
- [35] Heinrich-Hirsch B, Beck H (1994) Bestandsaufnahme von Daten zur Belastung von Frauenmilch mit Organochlorpestiziden und polychlorierten Bphenylen in der Bundesrepublik Deutschland. In: *tätigkeitsbericht des Bundesgesundheitsamtes 1993*. MMV Medizin Verlag, München, pp 265-269
- [36] Herbst AL (1981) Clear cell adenocarcinoma and the current status of DES-exposed females. *Cancer* 48: 484-488
- [37] Hogan MD, Newbold RR, McLachlan JA (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, pp 257-269
- [38] Kalbfus W (1998) Hormonaktive Substanzen in (bayerischen) Gewässern - Herkunft und Gefährdungspotential. In: *GSF-Bericht 16/98*, pp. 25-30
- [39] Kavlock RJ, Daston GP, DeRosa C, Fenner-Crisp, Gray LE, Kaatari S, Lucier G, et al (1996) Research needs for the risk assessment of health and environmental effects of endocrine disruptors: A report of the U.S. EPA-sponsored Workshop. *Environm Health Perspect* 104 (Suppl. 4): 715-740
- [40] Kelce WR, Stone CR, Laws SC, Gray LE, Kemppainen JA, Wilson EM (1995) Persistent DDT metabolite p,p'-DDE is a potent androgen receptor antagonist. *Nature* 375: 581-585
- [41] Knight DC, Eden JA (1996) A review of the clinical effects of phytoestrogens. *Obstet Gynecol* 87: 897-904
- [42] Kuiper GGJM, Carlsson B, Grandien K, Enmark E, Nilsson S, Gustafsson JA (1997) Comparison of the ligand binding specificity and transcript tissue distribution of estrogen receptors  $\alpha$  and  $\beta$ . *Endocrinology* 138: 863-870
- [43] Lackmann GM, Goen T, Schaller KH, Angerer J (1996) PCBs and HCB in serum of full-term German neonates. *Lancet* 348: 1035
- [44] Lindzay J, Korach KS (1998) Molecular actions of steroids: the estrogen receptor knockout mouse as a model for the study of endocrine disruptors. In: *UBA Texte 50*, pp. 27-33
- [45] Mayr U, Butsch A, Schneider S (1992) Validation of two in vitro test systems for estrogenic activities with zearalenone, phytoestrogens and cereal extracts. *Toxicology* 74: 135-149

- [46] McLachlan JA (1997) Synergistic effect of environmental estrogens: report withdrawn. *Science* 277: 462-463
- [47] McLachlan JA, Newbold R, Bullock B (1975) Reproductive tract lesions in male mice exposed prenatally to diethylstilbestrol. *Science* 190: 991-992
- [48] McLachlan JA, Korach, KS, Newbold RR, Degen GH (1984) Diethylstilbestrol and other estrogens in the environment. *Fundam Appl Toxicology* 4: 686-691
- [49] Mellanen P, Petänen T, Lehtimäki J, Mükela S, Bylund G, Holmbom B, Mannila E, Oikari A, Santti R (1996) Wood-derived estrogens: studies in vitro with breast cancer cell lines and in vivo in trout. *Tox Appl Pharmacol* 136: 381-388
- [50] Melnick S, Cole P, Anderson D, Herbst A (1987) Rates and risks of diethylstilbestrol-related clear-cell adenocarcinoma of the vagina and cervix. An update. *N Engl J Med* 316: 514-516
- [51] Micsicek RJ (1994) Interaction of naturally occurring nonsteroidal estrogens with expressed recombinant human estrogen-receptor. *J Steroid Biochem Molec Biol* 49: 153-160
- [52] Newbold R (1995) Cellular and molecular effects of the developmental exposure to diethylstilbestrol: Implications for other environmental estrogens. *Environ Health Perspect* 103 (Suppl 7): 83-87
- [53] Newbold R, Bullock B, McLachlan JA (1985) Lesions of the rete testis in mice exposed prenatally to diethylstilbestrol. *Cancer Res* 45: 5145-5150
- [54] O Connor JC, Cook JC, Craven SC, Van Pelt CS, Obourn JD (1996) An in vivo battery for identifying endocrine modulators that are estrogenic or dopamine regulators . *Fund Appl Toxicol* 33: 182-195
- [55] Paulsen CA, Berman NG, 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: 1015-1020
- [56] Pfannhauser W, Leitner E, Mayer I, Siegl H (1994) Forschungsbericht "Phthalate in österreichischen Lebensmitteln" für das BMGK. GZ 353.064/0-III/9
- [57] Pfannhauser W, Leitner E, Mayer I, Schaffer A (1997) Forschungsbericht "Phthalate in Süßwasserfischen österreichischer Herkunft", Schriftenreihe des BMUJF, Band 18
- [58] Price KR, Fenwick GR (1985) Naturally occurring oestrogens in foods a review. *Food Add Contam* 2: 73-106
- [59] Purdom CE, Hardiman PA, Bye VJ, Eno NC, Tyler CR, Sumpter JP (1994) Estrogenic effects of effluents from sewage treatment works. *Chem & Ecology* 8: 275-285

- [60a] Ramamoorthy K, Wang F, Chen IC, Norris JD, McDonell DP, Leonard LS, Gaido KW, Bocchinfuso WP, Korach KS, Safe S (1997) Estrogenic activity of a dieldrin / toxaphene mixture in the mouse uterus, MCF-7 human breast cancer cells, and yeast-based estrogen receptor assays: no apparent synergism. *Endocrinology* 138: 1520-1527
- [60b] Ramamoorthy K, Wang F, Chen IC, Safe S, Norris JD, McDonell DP, Gaido KW, Bocchinfuso WP, Korach KS (1997) Potency of combined estrogenic pesticides. *Science* 275: 405-406
- [61] Reel JR, Lamb J, Neal BH (1996) Survey and assessment of mammalian estrogen biological assays for hazard characterization. *Fund Appl Toxicol* 34: 288-305
- [62] Rurainski RD, Theiss HJ, Zimmermann W (1977):über das Vorkommen von natürlichen und synthetischen östrogenen in Trinkwasser. *gwf-Wasser/Abwasser* 118: 287-291
- [63] SEER (1993) SEER Cancer Statistics Review:1973-1990. (Miller BA, Ries LAG, Hankey BF, Kosary CL, Hurray A, Devesa SS, Edwards BK, eds), National Cancer Institute, National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, USA
- [64] Seibert H (1996) Störungen der Entwicklung und Funktion des männlichen Reproduktionssystems. *Z Umweltchem ökotox* 8: 275-284
- [65] Setchell KDR, Zimmer-Nechemias L, Cai J, Heubl JE (1997) Exposure of infants to phytoestrogens from soy-based infant formula.. *Lancet* 350: 23-27
- [66] Sharpe, RM (1993) Declining sperm counts in men - is there an endocrine cause ? *J Endocrin* 136: 357-360
- [67] Sharpe RM, Skakkebaek NE (1993) Are oestrogens involved in falling sperm counts and disorders of the male reproductive tract ? *Lancet* 341: 1392-1395
- [68] Shelby M, Newbold RR, Tully, DB, Chae K, Davis VL (1996) Assessing environmental chemicals for estrogenicity using a combination of in vitro and in vivo assays. *Environm Health Perspect* 104: 1296-1300
- [69] Soto A, Lin T, Justicia H, Silvia RM, Sonnenschein C (1992) An "in culture" bioassay to assess the estrogenicity of xenobiotics (E-Screen). In: *Chemically-induced alterations in sexual and functional development : The human wildlife connection* (Colburn T, Clement C, eds), Princeton Scientific Publishing, Princeton, NJ, pp. 295-309
- [70] Soto A, Chung KL, Sonnenschein C (1994) The pesticides endosulfan, toxaphen, and dieldrin have estrogenic effects on human estrogen sensitive cells. *Environm Health Perspect* 102: 380-383
- [71] Stob M (1983) Naturally occurring food toxicants: estrogens. In: *Handbook of Naturally Occurring Food Toxicants*. CRC Press, New York, pp. 81-100

- [72] Stumpf M, Ternes TA, Haberer K, Baumann W (1996) Nachweis von natürlichen und synthetischen östrogenen in Kläranlagen und Fließgewässern. *Vom Wasser* 87: 251-261
- [73] Sumpter JP (1998) Reproductive effects from oestrogen activity in polluted water. *Arch Toxicol.*, Suppl. 20: 143-150
- [74] Taubert HD, Kuhl H (1995) Postscriptum. In: *Kontrazeption mit Hormonen*, 2nd ed, Georg Thieme Verlag, Stuttgart
- [75] Thierfelder W, Mehnert WH, Laußmann D, Arndt D, Reineke HH (1995) Der Einfluß umweltrelevanter östrogenen oder östrogenartiger Substanzen auf das Reproduktionssystem. *Bundesgesundheitsblatt* 38: 337-341
- [76] Toppari J, Larsen JC, Christiansen P, Giwercman A, Grandjean P, Guillette L, Jegou B et al (1996) Male reproductive health and environmental xenoestrogens. *Environm Health Perspect* 104 (Suppl. 4): 741-803
- [77] Tyler CR, Jobling S, Sumpter JP (1998) Endocrine disruption in wildlife: a critical review of the evidence. *Crit Rev Toxicology* 28: 319-361
- [78] Umweltbundesamt (1995) Umweltchemikalien mit endokriner Wirkung (Fachgespräch) UBA Texte, Band 65
- [79] Umweltbundesamt (1997) Umweltchemikalien mit endokriner Wirkung in Oberflächengewässern. Forschungsbericht von G?lden M, Turan A, Seibert H. UBA Texte, Band 46
- [80] United States Environmental Protection Agency (1997) US EPA Special Report on Environmental Endocrine Disruption: An effects assessment and analysis. EPA/ 630/R-96/012 (und im Internet unter [www.epa.gov/endocrine](http://www.epa.gov/endocrine) )
- [81] Wakeling AE (1995) Tissue specific actions of antioestrogens. *Mutation Res* 333: 45-49
- [82] Welshons WV, Rottinghaus BE, Nonneman DJ, Dolan-Timpe M, Ross PF (1990) A sensitive bioassay for detection of dietary estrogens in animal feeds. *J Vet Diagn Invest* 2: 268-273
- [83] Wilcox AJ, Baird DD, Weinberg CR, Hornsby PP, Herbst AL (1995) Fertility in men exposed prenatally to diethylstilbestrol. *N Engl J Med* 332: 1411-1416
- [84] Zacharewski T (1997) In vitro bioassays for assessing estrogenic substances. *Environm Sci Techn* 31: 613-623



Tabelle 1: Relative Wirkstärke einiger oestrogener Substanzen

in vitro in MCF-7 Zellen (E-Screen)

Substanz Studie A Studie B Studie C,D

[45] [82] [69, 70]

---

Oestradiol 1.0 1.0 1.0

DES - 0.7 10

Zearalenon 0.04 0.0086 0.01

Zearalanol - 0.4786 0.01

Coumestrol 0.0003 0.00111 0.00001

Genistein 0.0001 0.00080 -

Daidzein 0.00002 0.000007 -

Biochanin A 0.000012 0.000048 -

o,p? -DDT - - 0.000001

Kepon - - 0.000001

NP (techn.) -