

Stellungnahmen

Hormonell aktive Substanzen in der Umwelt: Xenoöstrogene

Stellungnahme der Beratungskommission der Sektion Toxikologie der Deutschen Gesellschaft für experimentelle und klinische Pharmakologie und Toxikologie (DGPT)¹

1 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 Bericht² wurde die Hypothese aufgestellt, daß die Spermienzahlen beim Menschen absinken (CARLSEN et al. 1992) und daß dafür sog. Xenoöstrogene (Fremdstoffe mit östrogenen Wirkung) verantwortlich sind (SHARPE 1993, SHARPE und SKAKKEBAEK 1993). Auch Reproduktions- und Entwicklungsstörungen bei Tieren, insbesondere Feminisierungserscheinungen, und eine Zunahme bestimmter maligner Erkrankungen beim Menschen, wie Brust- und Hodenkrebs, werden mit Umweltöstrogener in Verbindung gebracht (COLBURN und CLEMENT 1992, COLBURN et al. 1996).

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 (THIERFELDER et al. 1995, US-EPA 1997). In der Diskussion um Umweltchemikalien mit endokriner Wirkung finden Substanzen mit östrogenen und mit antiandrogenen 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 sog. 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 Risikoabschätzung³ gerade in Bezug auf ein so komplexes System wie das Endokrinium schwierig ist und dazu noch Forschungsbedarf besteht.

¹ Diese Stellungnahme wurde bereits im DGPT-Forum veröffentlicht (Nr. 24, S. 30-36, 1999)

² Die Metaanalyse, die einen Rückgang der Spermienzahlen signalisierte (CARLSEN et al. 1992), ist verschiedentlich kritisiert worden (BAHADUR et al. 1996, BROMWICH et al. 1994, FARROW 1994), und in weiteren Studien wurde entweder kein Rückgang bzw. sogar ein Anstieg der Spermiedichte beobachtet (FERGUSON und ANDERSON 1981, PAULSEN et al. 1996).

³ Der *qualitativen* Charakterisierung einer *Gefährdung*, die von einer Chemikalie ausgehen kann, wird das *Risiko* gegenübergestellt. Dabei wird *quantitativ* angegeben, wie groß die Wahrscheinlichkeit ist, daß eine bestimmte Schädigung eintritt. Die Abschätzung gesundheitlicher Risiken, die von Chemikalien ausgehen können, ist in den letzten Jahrzehnten zu einer der wichtigsten Aufgaben der Toxikologie geworden.

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 (→ Kap. 5); in einigen lokal begrenzten Regionen führten hohe Konzentrationen an Östrogen-Agonisten oder Anti-Androgenen in der Umwelt bei Tieren zu Störungen der Ausbildung der Geschlechtsfunktionen (→ Kap. 6). Diese Schädigungen 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 (European Community 1997, KAVLOCK et al. 1996, TOPPARI et al. 1996, UBA 1997). 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.

2 Exposition – Vorkommen

Östrogenartige Effekte sind für Substanzen mit einer erstaunlichen strukturellen Vielfalt gefunden worden, nämlich zahlreiche von Pflanzen und Pilzen gebildete Stoffe (Phyto- und Mykoöstrogene) sowie eine Reihe von Industriechemikalien (MC LACHLAN et al. 1984, SEIBERT 1996). Diese Xenoöstrogene⁴ unterscheiden sich in ihrer Potenz und kommen in unterschiedlicher Menge in der Umwelt und in Lebensmitteln vor.

Zur Gruppe der Phytoöstrogene 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 β -Sitosterol (ein Steroid) und Resveratrol, ein natürlich vorkommendes Stilbenderivat (PRICE und FENWICK 1985, STOB 1983). Neben diesen Pflanzeninhaltsstoffen werden auch Schimmelpilzprodukte wie Zearalenon, eine Lebensmittelkontaminante, zu den Phytoöstrogenen gerechnet.

⁴ Der Begriff *Xenoöstrogene* wird im Schrifttum nicht einheitlich verwendet: eigentlich sollten damit östrogene Fremdstoffe natürlichen und synthetischen Ursprungs bezeichnet werden, doch er wird auch als Synonym nur für synthetische Chemikalien mit östrogenen Aktivität verwendet.

Mengenmäßig für den Menschen bedeutsame Phytoöstrogene sind insbesondere Isoflavone, die vorwiegend in Sojabohnen und daraus hergestellten Produkten vorkommen; in Leinsamen und in faserreichen Lebensmitteln finden sich vor allem Lignane (KNIGHT und EDEN 1996). Die Exposition gegenüber Phytoöstrogenen hängt von den Ernährungsgewohnheiten ab. Japanerinnen verzehren 30-50 mal mehr Sojaprodukte als amerikanische Frauen; sie haben entsprechend höhere Isoflavon-Expositionen (ADLERCREUTZ 1995). 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 (DFG 1998).

Nach kürzlich publizierten Befunden (SETCHELL et al. 1997) 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 Phytoöstrogen-Exposition durch sojahaltige Säuglingsernährung betrug ca. 4,5-8 mg/kg Körpergewicht.

Östrogene 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 überall⁵. Jedoch ist die Belastung mit diesen Stoffen rückläufig (HEINRICH-HIRSCH und BECK 1994, LACKMANN et al. 1996). Schätzungen der SKLM zufolge beträgt die durchschnittliche tägliche Aufnahme an polychlorierten Biphenylen mit der Nahrung ca. 0,1 µg/kg Körpergewicht, für Bisphenol A ist es maximal 1 µg/kg KG (DFG 1998). Vergleichbar geringe Aufnahmen sind für Phthalate ermittelt worden (PFANNHAUSER et al. 1994, PFANNHAUSER et al. 1997).

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 östrogenartig wirkenden synthetischen Stoffen vor dem Hintergrund der unvermeidlichen Aufnahme an Phytoöstrogenen mit der Nahrung und der physiologischen Variation endogener Hormonspiegel zu sehen.

⁵ siehe u.a. die Mitteilungen der Kommission zur Prüfung von Rückständen in Lebensmitteln (DFG 1983)

3 Feststellung von Wirkung und Wirkungsstärke

Zur Prüfung von Stoffen auf östrogene oder antiöstrogene 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 (ECETOC 1996, O'CONNOR et al. 1996, REEL et al. 1996, ZACHAREWSKI 1997). *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 gewebespezifische hormonelle Aktivitäten erfassen.

3.1 *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 Östrogenrezeptor als das körpereigene Hormon Östradiol (MICSICEK 1994). 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 Östradiol, eine Bindung meßbar (GAIDO et al. 1997). 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 proliferationsfördernde Wirkung in der Östrogen-sensitiven Brustkrebszelllinie (MCF-7) mit der von Östradiol (E_2) verglichen. Die synthetischen Stoffe waren alle deutlich schwächer wirksam als Phytoöstrogene und um Größenordnungen (vier bis sechs Zehnerpotenzen) schwächer wirksam als Östradiol (\rightarrow Tabelle 1, S. 369 und dort genannte Literatur).

In anderen *in vitro* Tests wird die Transaktivierung bestimmter Hormon-regulierter Gene (Reportergen-Assays) oder die vermehrte Produktion eines geeigneten Markerproteins bestimmt, z.B. die Vitellogenin-Induktion in Fischhepatozyten (ANKLEY et al. 1998).

3.2 *In vivo* Untersuchungen

Die biologisch wirksame Konzentration und damit die östrogene 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 Proöstrogene in eine aktive Form umwandeln, wie das Beispiel Methoxychlor

Tabelle 1: Relative Wirkstärke einiger östrogenen Substanzen *in vitro* in MCF-7 Zellen (E-Screen)

Substanz	Studie A MAYR et al. 1992	Studie B WELSHONS et al. 1990	Studie C, D SOTO et al. 1992; SOTO et al. 1994
Östradiol	1,0	1,0	1,0
DES	-	0,7	10
Zearalenon	0,04	0,0086	0,01
Zearalenol	-	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.)	-	-	0,000003
4-t-Butylphenol	-	-	0,000003

zeigt: Die Substanz selbst ist *in vitro* inaktiv, wird aber im Nager-Bioassay nach Umwandlung in den aktiven Metaboliten (HPTE: 2,2-bis(p-Hydroxyphenyl)-1,1,1-Trichlorethan) als östrogen wirksam erkannt (SHELBY et al. 1996).

Aus diesem Grund ist die Prüfung im Tierversuch unverzichtbar. Dazu wird meist die Wirkung eines Stoffes auf das Östrogen-Zielorgan Uterus untersucht (O'CONNOR et al. 1996, REEL et al. 1996). Im Uterusgewichtstest mit juvenilen Ratten sind die Aktivitäten von o,p'-DDT und Kepon um vier Zehnerpotenzen geringer als die von Östradiol (CECIL et al. 1971, HAMMOND et al. 1979). 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 Uterusgewichtstest 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 µg/kg KG uterotrophe Effekte nachweisbar; Endosulfan zeigte keine, Kepon nur eine sehr schwache Aktivität (SHELBY et al. 1996). Weitere Versuche mit *oralen* Applikation der Stoffe, also dem in der Praxis bedeutsamsten Aufnahmepfad, stehen noch aus.

Für Phytoöstrogene liegen ältere Daten aus einem Uterusgewichtstest an Mäusen vor (→ *Tabelle 2*). Die für Zearalenon, Coumestrol und Genistein ermittelten Aktivitäten lagen weit

Tabelle 2: Wirkstärken von Phytoöstrogenen *in vivo* im Maus-Bioassay bei peroraler Gabe (STOB 1983)

Substanz	Dosis, die ein Uterusgewicht von 25 mg erzeugt	Relative Potenz
DES	0,083 µg	100 000
Östron	1,2 µg	6 900
Coumestrol	240 µg	35
Genistein	8 mg	1,0
Daidzein	11 mg	0,75
Biochanin A	18 mg	0,46
Formononetin	32 mg	0,26

(vier bis sechs Zehnerpotenzen) unten denen von Diethylstilbestrol, DES (STOB 1983). Auch wenn man berücksichtigt, daß DES bei oraler Gabe viel wirksamer ist als Östradiol, ist die ermittelte Wirkstärke der Phytoöstrogene im Vergleich zu körpereigenen Hormonen deutlich geringer. Bei entsprechend hoher Exposition kann aber durchaus eine endokrine Wirkung auftreten (→ *Kap. 5*). In diesem Kontext ist aber der Hinweis angebracht, daß "endokrine Wirkung" nicht von vornherein mit "adversen Effekt" gleichzusetzen ist.

Für eine toxikologische Bewertung der Umweltöstrogene sind neben Daten zur Wirkungsstärke (Dosis-Wirkungs-Beziehungen) auch Informationen zur Pharmakokinetik notwendig (BMJ 1996, KAVLOCK et al. 1996). In *in vivo* Studien wird deren Bioverfügbarkeit (resorbierte Anteile) anhand der Blutspiegel und das Bioakkumulationsverhalten der Stoffe ermittelt. Für repräsentative Umweltöstrogene werden im Rahmen verschiedener Forschungsvorhaben solche Untersuchungen durchgeführt. Das Ziel, eine Datenbasis für Wirkungsstärkenvergleiche 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 Umweltöstrogene eingehen.*

4 Kombinationseffekte

Aus der Interaktion eines Fremdstoffs mit dem Östrogenrezeptor kann nicht nur eine *agonistische*, sondern auch eine *antagonistische* Wirkung resultieren. Diese ist erst feststellbar, wenn der fragliche Stoff in Kombination mit Östradiol geprüft wird. Auch dann dürfte eine eindeutige Zuordnung zur Gruppe der Xenoöstrogene bzw. "Xeno-Antiöstrogene" nicht immer möglich sein, wie das Beispiel des Arzneimittels Tamo-

xifen zeigt: in MCF-7 (Brustkrebs-)Zellkulturen sind – je nachdem ob es allein oder in Kombination mit Östradiol geprüft wird – östrogene bzw. antiöstrogene Wirkungen festzustellen. Am Endometrium, einem anderen "Zielgewebe", wirkt Tamoxifen überwiegend agonistisch (WAKELING 1995). Für Umweltöstrogene stehen Untersuchungen in Kombination mit Östradiol noch aus; solche Untersuchungen haben dem Umstand Rechnung zu tragen, daß der weibliche und männliche Organismus selbst östrogene Hormone produziert. Auch zur Frage gewebespezifischer Effekte von Fremdstoffen besteht noch weiterer Forschungsbedarf. In diesem Kontext sind neuere Erkenntnisse über molekulare Wirkmechanismen von Steroiden und Befunde über Östrogenrezeptor-Subtypen mit unterschiedlicher Organverteilung von Interesse (KUIPER et al. 1997, LINDZAY und KORACH 1998).

Fazit (3): *Umweltstoffe pflanzlicher und synthetischer Herkunft können sowohl östrogene als auch antiöstrogene Eigenschaften haben. Zur weiteren Charakterisierung ihrer Wirkqualität (agonistisch / antagonistisch) sind Untersuchungen in verschiedenen Zielgeweben und in Kombination mit Östradiol 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 Umweltöstrogenen 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 (ARNOLD et al. 1996). Diese Befunde ließen sich jedoch bei Wiederholungsexperimenten in anderen Laboratorien in keinem Fall reproduzieren (ASHBY et al. 1997, RAAMAMOORTHY et al. 1997a, b), und kürzlich ist von den Autoren selbst ein offizieller Widerruf der oben genannten Publikation veröffentlicht worden (MCLACHLAN 1997).

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

5 Erfahrungen beim Menschen

Für die biologische Plausibilität einer Gefährdung durch Umweltstoffe mit östrogenen Aktivität wird meist das Beispiel **Diethylstilbestrol (DES)** angeführt. Dieses oral stark wirksame Östrogen wurde schwangeren Frauen in der irigen 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 mindestens 125 mg/Tag (HOGAN et al. 1987). In tierexperimentellen Studien (NEWBOLD 1995) 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 sog. "DES-Töchter" wurden eine vaginale Adenose und andere, nicht-tumorogene Veränderungen des Genitaltraktes diagnostiziert (HERBST 1981, MELNICK et al. 1987). 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 (GREENBERG et al. 1984). Nach neueren Studien (COLTON et al. 1993) 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 ($91 \times 10^6/\text{ml}$ gegenüber $115 \times 10^6/\text{ml}$); allerdings war bei den "DES-Söhnen" die Spermienqualität (nach Eliasson) eindeutig schlechter (GILL et al. 1987). 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 (WILCOX et al. 1995). Frühere Hinweise auf eine erhöhte Inzidenz an Hodenkrebs⁶ wurden in umfangreichen neueren Studien nicht bestätigt (SEER 1993, US-EPA 1997).

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 (vgl. den Review von GOLDEN et al. 1998). Im Mausmodell waren bei unterschiedlich hohen DES-Gaben nur in der höchsten Dosisgruppe Genitaltraktveränderungen in männlichen Nachkommen feststellbar (MCLACHLAN et al. 1984, NEWBOLD et al. 1985). 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 Xenoöstrogenen eintreten, ist extrem unwahrscheinlich.*

⁶ Allerdings ist unbehandelter Kryptorchismus ein bekannter Risikofaktor für Hodenkrebs

Bei der Abschätzung von Risiken für niedrig konzentrierte Xenoöstrogene 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 µg/Tag. Zur Hormonsubstitution in der Menopause werden verschiedene (meist geringer wirksame) östrogene Steroide in höheren Dosen (meist 1-2 mg/Tag) eingesetzt.

Bereits vor etlichen Jahren wurde die Sorge geäußert, von Mensch und Tier ausgeschiedene Steroidhormone, die ins Trinkwasser gelangen, könnten zu einer relevanten Östrogenbelastung des Menschen führen. Ältere Messungen in Trinkwasserproben ergaben Werte von maximal 22 ng Ethinylöstradiol pro Liter (RURAINSKI et al. 1977). Bei einer täglichen Aufnahme von zwei Litern entspräche das einer Zufuhr von ca. 50 ng Ethinylöstradiol pro Tag. Diese Menge ist weit niedriger als die geringste Dosis, bei der – selbst bei Kindern – eine Hormonwirkung nachweisbar ist, nämlich 2-5 µg täglich (TAUBERT und KUHLE 1995). Somit ist sogar bei dieser (relativ hohen) Belastung im Trinkwasser eine Auswirkung auf den Mensch sehr unwahrscheinlich. Nach neuen Untersuchungen über das Vorkommen von Umweltöstrogenen im Wasser lag die Summe an freiem und konjugiertem Ethinylöstradiol bei maximal 2,5 ng/l; dabei überwogen in der Mehrzahl der Stichproben natürliche Östrogene (Östriol) (KALBFUS 1998). Allerdings ist nicht auszuschließen, daß von Mensch und Tier ausgeschiedene natürliche und synthetische Steroidhormone mit östrogenen Aktivität u.U. bei aquatischen Organismen endokrine Effekte auslösen (→ Kap. 6).

Obwohl die Wirkstärke der **Phytoöstrogene** deutlich geringer ist als diejenige von körpereigenen Östrogenen, 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 gonadotrope Hormone und ferner zu einer Senkung der Serumcholesterol-Spiegel (CASSIDY et al. 1994, 1995). Das Beispiel illustriert, daß eine endokrine Wirkung nicht automatisch mit "unerwünschtem Effekt" gleichzusetzen ist: In der Follikelphase ist die Zellteilungsrate in der Brustdrüse niedriger als in den übrigen Zyklusphasen (FERGUSON und ANDERSON 1981) und für Frauen mit einem längeren Zyklus wird ein niedrigeres Brustkrebsrisiko erwartet (CASSIDY 1996). 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: ADLERCREUTZ 1995, CASSIDY 1996).

Besonders hohe Belastungen mit Phytoöstrogenen können bei Säuglingen und Kleinkindern bestehen. Säuglinge, die Babynahrung auf Sojabasis erhalten, verzehren auf Körpergewichtsbasis 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 (CASSIDY et al. 1994). Da die

gemessenen Isoflavon-Plasmaspiegel (Genistein plus Daidzein ca. 980 ng/ml) auch erheblich höher sind als die endogenen Östrogenspiegel in Säuglingen (SETCHELL 1997), ist trotz der geringeren Wirkstärke (ca. 1/1000 der von Östradiol) 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 Lebensmitteln vorkommenden Stoffen mit hormonellem Potential pflanzliche Östrogene 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 frühkindlichen Alter besondere Beachtung verdient. Ferner kam die SKLM zu dem Schluß, daß Stoffe anthropogenen Ursprungs, die östrogene 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 (DFG 1998).

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.*

6 Ökotoxikologische Aspekte

Umweltöstrogene sind in unterschiedlichem Umfang in den Lebensräumen (Habitaten) 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 (GUILLETTE et al. 1994, 1996). Die Feminisierung der männlichen Alligatoren wurde anfangs auf die östrogenen Eigenschaften von DDT-Isomeren zurückgeführt; inzwischen ist für den persistierenden Metaboliten *p,p'*-DDE eine ausgeprägte antiandrogene Wirkung nachgewiesen worden (KELCE et al. 1995).

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 Bruterfolge⁷

⁷ Infolge eines verschobenen Geschlechterverhältnisses (mehr Weibchen); schon früher war eine von DDT verursachte Verminderung der Eischalendicke aufgefallen, in deren Folge es bei einigen Greifvogelarten zu Bestands-einbrüchen kam.

beobachtet und auf hohe Körpergehalte an Organochlorverbindungen zurückgeführt wurden (FRY und TOONE 1981). 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 (TYLER et al. 1998). 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 (ADAMS 1989). 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 (MELLANEN et al. 1996).

Die Ausscheidung von Steroidöstrogenen durch Menschen und Nutztiere ist eine weitere wichtige Ursache für die Exposition mit Hormonen bei aquatischen Organismen, z.B. Fischen in Abwässern aus Kläranlagen (PURDOM et al. 1994). In neueren britischen Untersuchungen wurde eine chemische Fraktionierung mittels HPLC mit einem Bioassay für "Östrogenität" kombiniert. Es ergab sich, daß ganz überwiegend (zu > 80%) Steroidöstrogene natürlicher Herkunft für die östrogene Aktivität in Kläranlagenabläufen verantwortlich waren (SUMPTER 1998). Auch in Proben aus verschiedenen Stufen des Wasserkreislaufs in Deutschland überwogen natürliche Östrogene und deren Metabolite; gelegentlich waren auch nennenswerte Konzentrationen an Ethinylöstradiol (EE₂) meßbar (KALBFUS 1998, STUMPF et al. 1996). Die gefundenen Steroidkonzentrationen 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 EE₂; für Alkylphenole tritt dies erst bei 10 µg/l und darüber auf (HARRIES et al. 1996). Inwieweit natürliche oder andere Stoffe mit östrogenen 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* Tests an aquatischen Organismen angesehen (UBA 1997).

Die Komplexität der ökotoxikologischen Aufgabenstellung spiegelt sich auch in der Forderung nach einer Prüfung von Verdachtsstoffen in verschiedenen Tierarten⁸ wider (ANKLEY

et al. 1997, 1998). Folgende Gesichtspunkte sind hierbei u.a. zu berücksichtigen: *Speziesunterschiede in der Metabolisierung*: sie können z.B. zu einer mehr oder weniger effizienten Inaktivierung von Umweltöstrogenen 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 Östrogene, bei Vögeln Östrogene und Androgene, bei einigen Reptilien und Fischen auch andere Faktoren, wie z.B. Temperatur (ANKLEY et al. 1998, TYLER et al. 1998). 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 Expositionsausmaß und *in vivo* nachgewiesene Wirkungsstärke eine Gefährdung erwarten lassen. Hormonelle Aktivität allein bedeutet nicht Toxizität, die ein Verbot begründen könnte (→ Kap. 5). 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 östrogenen 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.*

7 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 östrogenen Aktivität gelenkt. Die verfügbaren Informationen über Wirkungsweise, Dosisabhängigkeit und Art der Exposition (Expositionsszenarien) lassen das Ausmaß der Gefährdung für den Menschen gering erscheinen. Die ökotoxikologischen Auswirkungen sind demgegenüber weniger klar.

⁸ Es werden *in vivo* Modelle mit einzelnen Spezies aus der Klasse der Säuger, Fische, Vögel, Reptilien, Amphibien und Invertebraten diskutiert.

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 (Deutscher Bundestag 1998) 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.

8 Literatur

- ADAMS NR. Phytoestrogens. In: CHEEKE PR, editor. Toxicants of Plant Origin, Vol 4: Phenolics. Boca Raton, Florida: CRC Press; 1989. p. 23-51.
- ADLERCREUTZ H. Phyto-estrogens: Epidemiology and a possible role in cancer protection. Environ Health Perspect 1995; 103 Suppl 7: 103-112.
- ANKLEY GT, JOHNSON RD, DETENBECK NE, BRADBURY SP, TOTH G, FOLMAR LC. Development of a research strategy for assessing the ecological risk of endocrine disruptors. Rev Toxicol 1997; 1: 231-267.
- ANKLEY GT, MIHAICH E, STAHL R, TILLITT D, COLBORN T, McMASTER S, MILLER R et al. Overview of a workshop on screening methods for detecting potential (anti-) estrogenic/ androgenic chemicals in wildlife. Environ Toxicol Chem 1998; 17: 68-87.
- ARNOLD SF, KLOTZ D, COLLINS BM, VONIER PM, GUILLETTE LJ, McLACHLAN JA. Synergistic activation of estrogen receptor with combinations of environmental chemicals. Science 1996; 272: 1489-1492.
- ASHBY J, LEFEVRE PA, ODUM J, HARRIS CA, ROUTLEDGE EJ, SUMPTER JP. Synergy between synthetic estrogens? Nature 1997; 385: 494.
- BAHADUR G, LING KLE, KATZ M. Statistical modelling reveals demography and time are the main contributing factors in global sperm count changes between 1938 and 1996. Human Reproduction 1996; 11: 2635-2639.
- BROMWICH P, COGEN J, STEWART I, WALKER A. Decline in sperm counts: an artefact of changed reference range of "normal"? Brit Med J 1994; 309: 19-22.
- BMJ, Bundesministerium für Justiz, editor: Ausschreibung von Forschungsvorhaben zum Thema "Chemikalien in der Umwelt mit Wirkung auf das endokrine System ("Umwelthormone"). Bundesanzeiger, Jahrgang 48: Nr 243, 1996.
- CARLSEN E, GIWERCMAN A, KEIDING N, SKAKKEBAEK NE. Evidence for decreasing quality of semen during past 50 years. Brit Med J 1992; 305: 609-613.
- CASSIDY A. Physiological effects of phyto-estrogens in relation to cancer and other human health risks. Proceedings of the Nutrition Society 1996; 55: 399-417.
- CASSIDY A, BINGHAM S, SETCHELL KDR. Biological effects of soy protein rich in isoflavones on the menstrual cycle of premenopausal women. Am J Clin Nutr 1994; 60: 333-340.
- Cassidy A, Bingham S, Setchell KDR. Biological effects isoflavones in young women: importance of the chemical composition of soyabean products. Brit J Nutr 1995; 74: 587-601.
- CECIL HC, BITMAN J, HARRIS SJ. Estrogenicity of o,p'-DDT in rats. Agr Food Chem 1971; 19: 61-65.
- COLBURN T, CLEMENT C, editors. Chemically-induced alterations in sexual and functional development: The wildlife/ human connection. New Jersey: Princeton Scientific Publ Co; 1992.
- COLBURN T, DUMANOSKI D, MYERS JP. Die bedrohte Zukunft. München: Droemer Knauer; 1996.
- COLTON T, GREENBERG ER, NOLLER K et al. Breast cancer in mothers prescribed diethylstilbestrol in pregnancy. Further follow-up. J Amer Med Ass 1993; 269: 2096-2100.
- Deutscher Bundestag, Drucksache 13/10606 vom 06.05.1998.
- DFG, Deutsche Forschungsgemeinschaft. Rückstände in Lebensmitteln tierischer Herkunft. Mitteilung X der Kommission zur Prüfung von Rückständen in Lebensmitteln. Weinheim: Verlag Chemie; (1983).
- DFG, Deutsche Forschungsgemeinschaft. Hormonally Active Agents in Food, Symposium, DFG-Senatskommission zur Beurteilung der gesundheitlichen Unbedenklichkeit von Lebensmitteln. Weinheim: Wiley-VCH; 1998.
- ECETOC, European Centre for Ecotoxicology and Toxicology of Chemicals. ECETOC Task Force on Environmental Oestrogens: "Environmental oestrogens: male reproduction and reproductive development" Report. ECETOC Document No. 32; 1996.
- European Community. European workshop on the impact of endocrine disruptors on human health and wildlife. Workshop publication EUR 17549, Paris; 1997.
- FARROW S. Falling sperm quality: fact or fiction? Brit. Med J 1994; 309: 1-2.
- FERGUSON DJP, ANDERSON TJ. Morphological evaluation of cell turnover in relation to menstrual cycle in the 'resting' human breast. Brit J Cancer 1981; 44: 177-181.
- FISH H, FELDSHUH J, GOLUBOFF ET, BRODER SJ, OLSEN JH, BARAD DH. Semen analysis in 1,283 men from the United States over a 25-year period: no decline in semen quality. Fertil Steril 1996; 65: 1009-1014.
- FRY DM, TOONE CK. DDT-induced feminization of gull embryos. Science 1981; 213: 922-924.
- GAIDO KW, LEONARD LS, LOVELL S, GOULD JC, BABAI D, PORTIER CJ, McDONELL DP. Evaluation of chemicals with endocrine modulating activity in a yeast-based steroid hormone receptor gene transcription assay. Tox Appl Pharmacol 1997; 143: 205-212.
- GILL WB, SCHUHMACHER FB, BIBBO M, STRAUS FH, SCHOENBERG HW. Association of diethylstilbestrol exposure in utero with cryptorchidism, testicular hypoplasia and semen abnormalities. J Urol 1987; 122: 36-39.
- GOLDEN RJ, NOLLER KL, TITUS-ERNSTHOFF L, KAUFMAN RH, MITTENDORF R, STILLMAN R, REESE EA. Environmental endocrine modulators and human health: an assessment of the biological evidence. Crit Rev Toxicology 1998; 28: 109-227.
- GREENBERG ER, BARNES AB, RESSEGUE L et al. Breast cancer in mothers given diethylstilbestrol in pregnancy. N Engl J Med 1984; 311: 1393-1398.
- GUILLETTE L, GROSS T, MASON GR, MATTER JM, PERCIVAL HF, WOODWARD AR. Developmental abnormalities of the gonad and abnormal sex hormone concentrations in juvenile alligators from contaminated and control lakes in Florida. Environ Health Perspect 1994; 102: 680-688.
- GUILLETTE L, PICKFORD DB, CRAIN DA, ROONEY AA, PERCIVAL HF. Reduction in penis size and plasma testosterone concentrations in juvenile alligators living in a contaminated environment. Gen Comp Endocrinol 1996; 101: 32-34.
- HAMMOND B, KATZENELLENBOGEN BS, KRAUTHAMMER N, McDONELL J. Estrogenic activity of the insecticide chlordecone (Kepone) and interaction with uterine estrogen receptors. Proc Natl Acad Sci 1979; 76: 6641-6645.
- HARRIES JE, SHEAHAN DA, JOBLING S, MATHIESSEN P, NEALL P, ROUTLEDGE E, RYCROFT R, SUMPTER JP, TYLER T. A survey of estrogenic activity in United Kingdom inland waters. Environ Toxicol Chem 1996; 15: 1993-2002.
- HEINRICH-HIRSCH B, BECK H. Bestandsaufnahme von Daten zur Belastung von Frauenmilch mit Organochlorpestiziden und polychlorierten Biphenylen in der Bundesrepublik Deutschland. In: Tätigkeitsbericht des Bundesgesundheitsamtes 1993. München: MMV Medizin Verlag; 1994. p. 265-269.
- HERBST AL. Clear cell adenocarcinoma and the current status of DES-exposed females. Cancer 1981; 48: 484-488.
- HOGAN MD, NEWBOLD RR, McLACHLAN JA. 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, 1987. p. 257-269.
- KALBFUS W. Hormonaktive Substanzen in (bayerischen) Gewässern – Herkunft und Gefährdungspotential. In: GSF-Bericht 16/98; 1998. p. 25-30.
- KAVLOCK RJ, DASTON GP, DeROSA C, FENNER-CRISP, GRAY LE, KAATARI S, LUCIER G, et al. Research needs for the risk assessment of health and environmental effects of endocrine disruptors: A report of the U.S. EPA-sponsored Workshop. Environ Health Perspect 1996; 104 (Suppl. 4): 715-740.

- KELCE WR, STONE CR, LAWS SC, GRAY LE, KEMPPALNEN JA, WILSON EM. Persistent DDT metabolite *p,p'*-DDE is a potent androgen receptor antagonist. *Nature* 1995; 375: 581-585.
- KNIGHT DC, EDEN JA. A review of the clinical effects of phytoestrogens. *Obstet Gynecol* 1996; 87: 897-904.
- KUIPER GGJM, CARLSSON B, GRANDIEN K, ENMARK E, HÄGGBLAD J, NILSSON S, GUSTAFSSON JA. Comparison of the ligand binding specificity and transcript tissue distribution of estrogen receptors α and β . *Endocrinology* 1997; 138: 863-870.
- LACKMANN GM, GOEN T, SCHALLER KH, ANGERER J. PCBs and HCB in serum of full-term German neonates. *Lancet* 1996; 348: 1035.
- LINDZAY J, KORACH KS. Molecular actions of steroids: the estrogen receptor knockout mouse as a model for the study of endocrine disruptors. In: UBA Texte 50; 1998. p. 27-33.
- MAYR U, BUTSCH A, SCHNEIDER S. Validation of two in vitro test systems for estrogenic activities with zearalenone, phytoestrogens and cereal extracts. *Toxicology* 1992; 74: 135-149.
- MCLACHLAN JA. Synergistic effect of environmental estrogens: report withdrawn. *Science* 1997; 277: 462-463.
- MCLACHLAN JA, NEWBOLD R, BULLOCK B. Reproductive tract lesions in male mice exposed prenatally to diethylstilbestrol. *Science* 1975; 190: 991-992.
- MCLACHLAN JA, KORACH KS, NEWBOLD RR, DEGEN GH. Diethylstilbestrol and other estrogens in the environment. *Fundam Appl Toxicol* 1984; 4: 686-691.
- MELLANEN P, PETÄNEN T, LEHTIMÄKI J, MÄKELÄ S, BYLUND G, HOLMBOM B, MANNILA E, OIKARI A, SANTTI R. Wood-derived estrogens: studies in vitro with breast cancer cell lines and in vivo in trout. *Tox Appl Pharmacol* 1996; 136: 381-388.
- MELNICK S, COLE P, ANDERSON D, HERBST A. Rates and risks of diethylstilbestrol-related clear-cell adenocarcinoma of the vagina and cervix. An update. *N Engl J Med* 1987; 316: 514-516.
- MICSICEK RJ. Interaction of naturally occurring nonsteroidal estrogens with expressed recombinant human estrogen-receptor. *J Steroid Biochem Molec Biol* 1994; 49: 153-160.
- NEWBOLD R. Cellular and molecular effects of the developmental exposure to diethylstilbestrol: Implications for other environmental estrogens. *Environm Health Perspect* 1995; 103 (Suppl 7): 83-87.
- NEWBOLD R, BULLOCK B, MCLACHLAN JA. Lesions of the rete testis in mice exposed prenatally to diethylstilbestrol. *Cancer Res* 1985; 45: 5145-5150.
- O'CONNOR JC, COOK JC, CRAVEN SC, VAN PELT CS, OBOURN JD. An *in vivo* battery for identifying endocrine modulators that are estrogenic or dopamine regulators. *Fund Appl Toxicol* 1996; 33: 182-195.
- PAULSEN CA, BERMAN NG, WANG C. 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* 1996; 65: 1015-1020.
- PFANNHAUSER W, LEITNER E, MAYER I, SIEGL H. Phthalate in österreichischen Lebensmitteln. Forschungsbericht für das BMGK. GZ 353.064/0-III/9; 1994.
- PFANNHAUSER W, LEITNER E, MAYER I, SCHAFFER A. Phthalate in Süßwasserfischen österreichischer Herkunft. Schriftenreihe des BMUJF, Band 18; 1997.
- PRICE KR, FENWICK GR. Naturally occurring oestrogens in foods – a review. *Food Add Contam* 1985; 2: 73-106.
- PURDOM CE, HARDIMAN PA, BYE VJ, ENO NC, TYLER CR, SUMPTER JP. Estrogenic effects of effluents from sewage treatment works. *Chem & Ecology* 1994; 8: 275-285.
- RAAMAMOORTHY K, WANG F, CHEN IC, NORRIS JD, McDONELL DP, LEONARD LS, GAIDO KW, BOCCHINFUSO WP, KORACH KS, SAFE S. 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* 1997; 138: 1520-1527.
- RAAMAMOORTHY K, WANG F, CHEN IC, SAFE S, NORRIS JD, McDONELL DP, GAIDO KW, BOCCHINFUSO WP, KORACH KS. Potency of combined estrogenic pesticides. *Science* 1997; 275: 405-406.
- REEL JR, LAMB J, NEAL BH. Survey and assessment of mammalian estrogen biological assays for hazard characterization. *Fund Appl Toxicol* 1996; 34: 288-305.
- RURAINSKI RD, THEISS HJ, ZIMMERMANN W. Über das Vorkommen von natürlichen und synthetischen Östrogenen in Trinkwasser. *gwf-Wasser/Abwasser* 1977; 118: 287-291.
- SEER. SEER Cancer Statistics Review:1973-1990. In: MILLER BA, RIES LAG, HANKEY BF, KOSARY CL, HARRAS A, DEVESA SS, EDWARDS BK, editors. National Cancer Institute, National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, USA; 1993.
- SEIBERT H. Störungen der Entwicklung und Funktion des männlichen Reproduktionssystems. *Z Umweltchem Ökotox* 1996; 8: 275-284.
- SETCHELL KDR, ZIMMER-NECHEMIAS L, CAI J, HEUBL JE. Exposure of infants to phytoestrogens from soy-based infant formula. *Lancet* 1997; 350: 23-27.
- SHARPE, RM. Declining sperm counts in men - is there an endocrine cause? *J Endocrin* 1993; 136: 357-360.
- SHARPE RM, SKAKKEBAEK NE. Are oestrogens involved in falling sperm counts and disorders of the male reproductive tract? *Lancet* 1993; 341: 1392-1395.
- SHELBY M, NEWBOLD RR, TULLY, DB, CHAE K, DAVIS VL. Assessing environmental chemicals for estrogenicity using a combination of in vitro and in vivo assays. *Environm Health Perspect* 1996; 104: 1296-1300.
- SOTO A, LIN T, JUSTICIA H, SILVIA RM, SONNENSCHNEIN C. An "in culture" bioassay to assess the estrogenicity of xenobiotics (E-Screen). In: COLBURN T, CLEMENT C, editors. Chemically-induced alterations in sexual and functional development: The human wildlife connection. Princeton: Princeton Scientific Publishing; 1992. p. 295-309.
- SOTO A, CHUNG KL, SONNENSCHNEIN C. The pesticides endosulfan, toxaphen, and dieldrin have estrogenic effects on human estrogen sensitive cells. *Environm Health Perspect* 1994; 102: 380-383.
- STOB M. Naturally occurring food toxicants: estrogens. In: Handbook of Naturally Occurring Food Toxicants. New York: CRC Press; 1983. p. 81-100.
- STUMPF M, TERNES TA, HABERER K, BAUMANN W. Nachweis von natürlichen und synthetischen Östrogenen in Kläranlagen und Fließgewässern. *Vom Wasser* 1996; 87: 251-261.
- SUMPTER JP. Reproductive effects from oestrogen activity in polluted water. *Arch Toxicol., Suppl.* 1998; 20: 143-150.
- TAUBERT HD, KUHHL H. Postscriptum. In: Kontrazeption mit Hormonen, 2nd ed. Stuttgart: Georg Thieme Verlag; 1995.
- THIERFELDER W, MEHNERT WH, LAUßMANN D, ARNDT D, REINEKE HH. Der Einfluß umweltrelevanter östrogenen oder östrogenartiger Substanzen auf das Reproduktionssystem. *Bundesgesundheitsblatt* 1995; 38: 337-341.
- TOPPARI J, LARSEN JC, CHRISTIANSEN P, GIWERCMAN A, GRANDJEAN P, GUILLETTE L, JEGOU B *et al.* Male reproductive health and environmental xenoestrogens. *Environm Health Perspect* 1996; 104 (Suppl. 4): 741-803.
- TYLER CR, JOBLING S, SUMPTER JP. Endocrine disruption in wildlife: a critical review of the evidence. *Crit Rev Toxicology* 1998; 28: 319-361.
- UBA, Umweltbundesamt. Umweltchemikalien mit endokriner Wirkung. Fachgespräch, UBA Texte, Band 65; 1995.
- UBA, Umweltbundesamt. Umweltchemikalien mit endokriner Wirkung in Oberflächengewässern. Forschungsbericht von GÜLDEN M, TURAN A, SEIBERT H. UBA Texte, Band 46; 1997.
- US-EPA, United States Environmental Protection Agency. US EPA Special Report on Environmental Endocrine Disruption: An effects assessment and analysis. EPA/ 630/R-96/012; 1997. (im Internet unter www.epa.gov/endocrine)
- WAKELING AE. Tissue specific actions of antioestrogens. *Mutation Res* 1995; 333: 45-49.
- WELSHONS WV, ROTTINGHAUS BE, NONNEMAN DJ, DOLAN-TIMPE M, ROSS PF. A sensitive bioassay for detection of dietary estrogens in animal feeds. *J Vet Diagn Invest* 1990; 2: 268-273.
- WILCOX AJ, BAIRD DD, WEINBERG CR, HORNSBY PP, HERBST AL. Fertility in men exposed prenatally to diethylstilbestrol. *N Engl J Med* 1995; 332: 1411-1416.
- ZACHAREWSKI T. In vitro bioassays for assessing estrogenic substances. *Environm Sci Techn* 1997; 31: 613-623.

Für die Beratungskommission:

G.H. Degen, H. Foth, R. Kahl, H. Kappus, H.G. Neumann, F. Oesch, R. Schulte-Hermann

Korrespondenzautorin: Prof. Dr. Gisela Degen

Institut für Arbeitsphysiologie an der Universität Dortmund

Ardeystr. 67, D-44139 Dortmund

e-mail: degen@arb-phys.uni-dortmund.de