

***Hormonell wirksame Verbindungen in
der Umwelt Baden-Württembergs***

H. Kuch, K. Ballschmiter

Arbeitsbericht Nr. 151 / September 1999

Arbeitsbericht

ISBN 3-932013-93-x

ISSN 0945-9553

***Akademie für Technikfolgenabschätzung
in Baden-Württemberg***

Industriestr. 5, 70565 Stuttgart
Tel.: 0711 • 9063-0, Fax: 0711 • 9063-299
email: info@ta-akademie.de
<http://www.ta-akademie.de>

Die *Akademie für Technikfolgenabschätzung in Baden-Württemberg* gibt in loser Folge Aufsätze und Vorträge von Mitarbeitern sowie ausgewählte Zwischen- und Abschlußberichte von durchgeführten Forschungsprojekten als *Arbeitsberichte der Akademie* heraus. Diese Reihe hat das Ziel, der jeweils interessierten Fachöffentlichkeit und dem breiten Publikum Gelegenheit zu kritischer Würdigung und Begleitung der Arbeit der Akademie zu geben. Anregungen und Kommentare zu den publizierten Arbeiten sind deshalb jederzeit willkommen.

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
1.1	Was sind Umwelthormone ?.....	1
1.2	Die Rolle von Hormonen bei Wirbeltieren.....	4
1.3	Negative Einflüsse von Umwelthormonen auf das Reproduktionssystem von Mensch und Tier	5
1.3.1	Reproduktionsstörungen bei Tieren.....	5
1.3.2	Reproduktionsstörungen beim Menschen.....	6
1.3.3	Verhaltensstörungen bei Tieren	8
2	Testmethoden zur Identifikation und Festlegung hormoneller Aktivität ...	9
2.1	Wirkung und Effekte körpereigener Hormone	9
2.2	Tests auf östrogen wirksame Verbindungen.....	10
2.2.1	In vivo Tests	10
2.2.1.1	Allen-Doisy-Test	10
2.2.1.2	Glykogen im Uterus.....	10
2.2.1.3	Uterusgewichts-Test	11
2.2.1.4	Ornithindecaboxylase-Test.....	11
2.2.1.5	Oviduktgewichts-Test.....	11
2.2.1.6	Geschlechtsdifferenzierung bei Reptilien.....	11
2.2.1.7	Geschlechtsdifferenzierung bei Vögeln.....	12
2.2.1.8	Geschlechtsdifferenzierung bei Mäusen und Ratten	12
2.2.1.9	Vitellogeninsynthese bei Fischen	12
2.2.2	In vitro Tests	13
2.2.2.1	Affinität am Östrogenrezeptor.....	13
2.2.2.2	Östrogensensitive Brustkrebszellen.....	14
2.2.2.3	Genexpression genetisch manipulierter Zellen.....	15
2.2.2.4	Vitellogeninsynthese in Fischleberzellen	15
2.2.2.5	Zonagenese in Fischleberzellen	15
2.3	Tests auf antiöstrogen wirksame Verbindungen.....	16
2.3.1	In vivo Tests	16
2.3.2	In vitro Tests	16
2.4	Tests auf androgen wirksame Verbindungen.....	16
2.5	Tests auf antiandrogen wirksame Verbindungen.....	17
2.5.1	In vivo Tests	17
2.5.1.1	Geschlechtsdifferenzierung männlicher Ratten	17
2.5.2	In vitro Tests	17
2.5.2.1	Bindung an den Androgenrezeptor	17
2.5.2.2	Transkription in genetisch manipulierte Zellen	17

3	Übersicht über identifizierte Verbindungen mit hormoneller Aktivität ...	18
3.1	Östrogene	18
3.1.1	Endogene Steroidhormone.....	18
3.1.2	Exogene Steroidhormone	19
3.1.3	Alkylphenole.....	20
3.1.4	Phthalsäureester	23
3.1.5	Biphenyle	24
3.1.5.1	Polychlorierte Biphenyle (PCBs).....	24
3.1.5.2	Hydroxybiphenyle (Phenylphenole)	25
3.1.6	Polychlorierte Terphenyle (PCTs)	26
3.1.7	1,1-Diphenylethane.....	27
3.1.7.1	DDT und Derivate	27
3.1.7.2	Methoxychlor und Derivate	28
3.1.7.3	Bis(hydroxyphenyl)methane und Derivate	29
3.1.8	1,2-Diphenylethane und 1,2-Diphenylethene	31
3.1.9	1,3-Diphenylpropane	32
3.1.10	Triphenylmethane	32
3.1.11	Triphenylethene	33
3.1.12	Diphenylether	33
3.1.13	Polyzyklische aromatische Kohlenwasserstoffe (PAK)	33
3.1.14	Naphthole.....	34
3.1.15	Phenylsiloxane	35
3.1.16	Chlorierte Cyclodiene und Camphene.....	35
3.1.17	Anisole (Phenylmethylether)	38
3.1.18	Parabene.....	39
3.1.19	Phytoöstrogene	40
3.2	Antiöstrogene.....	42
3.2.1	Polychlorierte Dibenzodioxine (PCDDs)	43
3.2.2	Polychlorierte Dibenzofurane (PCDFs).....	44
3.2.3	Polychlorierte Biphenyle (PCBs).....	44
3.2.4	Polyzyklische aromatische Kohlenwasserstoffe (PAK)	45
3.3	Androgene.....	46
3.3.1	Tributylzinnverbindungen (TBT)	46
3.4	Antiandrogene.....	47
3.4.1	Phenylharnstoffe	47
3.4.2	Vinclozolin	48
3.4.3	p,p'-DDE	49
3.4.4	1,1,1-Trichlor-2,2-bis(4-hydroxyphenyl)ethan (HTPE)	49

4	Qualitative und quantitative Analytik der hormonähnlichen Verbindungen in der Umwelt	50
4.1	Anreicherungsverfahren aus verschiedenen Matrices.....	51
4.2	Trennverfahren.....	51
4.3	Detektionsprinzipien.....	52
5	Vorkommen hormonell wirksamer Stoffe in der Umwelt Baden-Württembergs	54
5.1	Verbindungen mit östrogenen Wirkung	54
5.1.1	Steroidhormone endogenen und exogenen Ursprungs	54
5.1.2	Alkylphenole in Kläranlagenabläufen und Sedimenten	56
5.1.3	Phthalsäureester in Kläranlagenabläufen.....	57
5.1.4	Biphenyle	59
5.1.4.1	Polychlorierte Biphenyle (PCBs).....	59
5.1.4.2	Hydroxybiphenyle (Phenylphenole)	61
5.1.5	Polychlorierte Terphenyle (PCTs)	62
5.1.6	1,1-Diphenylethane.....	62
5.1.6.1	DDT und Derivate	62
5.1.6.2	Methoxychlor und Derivate.....	64
5.1.6.3	Bis-(hydroxyphenyl)-methane und Derivate	65
5.1.7	1,2-Diphenylethane, 1,2-Diphenylethene und 1,3-Diphenylpropane	66
5.1.8	Triphenylmethane	66
5.1.9	Triphenylethene	67
5.1.10	Diphenylether	67
5.1.11	Polyzyklische aromatische Kohlenwasserstoffe (PAK)	67
5.1.12	Naphthole.....	69
5.1.13	Phenylsiloxane.....	69
5.1.14	Chlorierte Cyclodiene und Camphene.....	70
5.1.15	Anisole.....	72
5.1.16	Parabene.....	72
5.1.17	Phytoöstrogene	73
5.2	Verbindungen mit antiöstrogenen Wirkung	74
5.2.1	Polychlorierte Dibenzodioxine (PCDDs) und -furane (PCDFs).....	74
5.2.2	Polychlorierte Biphenyle (PCBs).....	75
5.2.3	Polyzyklische aromatische Kohlenwasserstoffe (PAK)	76
5.3	Verbindungen mit androgenen Wirkung	77
5.3.1	Tributylzinnverbindungen (TBT)	77

5.4	Verbindungen mit antiandrogener Wirkung	79
5.4.1	Phenylharnstoffe	79
5.4.2	Vinclozolin	80
5.4.3	p,p'-DDE	81
5.4.4	1,1,1-Trichlor-2,2-bis(4-hydroxyphenol)ethan (HTPE)	81
6	Überblick über die gegenwärtig laufenden nationalen und internationalen Forschungsprojekte zum Thema 'Endokrine Disruptoren'	82
7	Empfehlungen zum weiteren Forschungsbedarf	87
7.1	Entwicklung und Validierung von effektbezogenen Methoden	87
7.2	Entwicklung und Validierung von Modellen.....	88
7.3	Messungen zur Schaffung der Datengrundlage	89
8	Beurteilung der Umweltrelevanz.....	92
9	Zusammenfassung	95
10	Literaturverzeichnis	97
11	Anhang.....	109
11.1	Liste der identifizierten und potentiellen Chemikalien mit endokriner Wirkung mit CAS-Nummer	109

1 Einleitung

1.1 Was sind Umwelthormone ?

Von der Öffentlichkeit bisher nur wenig beachtet, haben sich international abgestimmt in der Wissenschaft rege Aktivitäten entwickelt, die das Vorkommen und die Auswirkungen von hormonähnlichen Stoffen in weiten Bereichen der Natur einschließlich der Umwelt des Menschen auf ihre Bedeutung hin einordnen wollen. Es werden Stoffe angesprochen, die in geringsten Konzentrationen vorliegen, aber bereits in diesen eine biologische Wirkung ausüben können.

Synthetische Chemikalien sind heute unauflöslich mit dem modernen Leben unserer Gesellschaft verflochten. Der Gebrauch in signifikanten Mengen und der damit unweigerlich verbundene Eintrag dieser anthropogenen Verbindungen in die Stoffkreisläufe der Natur erfolgt jedoch erst seit etwa 50 Jahren. Nach dem zweiten Weltkrieg führte die Entdeckung und Produktion immer neuer Wirk- und Werkstoffe zu einem immensen Wachstum der chemischen Industrie weltweit. Auf der ganzen Welt sind derzeit rund 100.000 Chemikalien auf dem Markt und jedes Jahr werden etwa tausend neue Verbindungen eingeführt.

Im Laufe weniger Jahrzehnte wurde die Erde mit all ihren Pflanzen, Tieren und Menschen mit zahllosen, anthropogenen Stoffen konfrontiert, mit denen sie niemals zuvor Kontakt gehabt hatten. Allein in den USA wurden 1992 knapp 200.000.000 t Kohlenwasserstoffe synthetisiert, was einer Pro-Kopf-Menge von 720 kg entspricht. Die weltweite Jahresproduktion wird auf den vier- bis fünffachen Wert geschätzt. Hierunter spielen die Pestizide mit ungefähr 1.600 Verbindungen bei ca. 2.300.000 t Jahresproduktion eine quantitativ untergeordnete Rolle. In Anbetracht ihrer grundsätzlichen biologischen Wirksamkeit und teilweise hohen Persistenz (Stabilität gegen Abbau) wird diesen Chemikalien jedoch seit Jahrzehnten besondere Beachtung geschenkt.

Bei Tests und Gutachten im Rahmen der Zulassungsverfahren wurden in der Vergangenheit nur die akut toxischen Eigenschaften sowie die Karzinogenität (Bildung von Krebs), Mutagenität (Veränderung des Erbguts) und Teratogenität (Verursachen von Mißbildungen) bezogen auf den Menschen untersucht. Mögliche Einflüsse auf den Enzym- und Hormonhaushalt von Mensch und Tier waren bisher nicht Gegenstand solcher Zulassungsuntersuchungen.

Seit Mitte der 80er Jahre finden sich in der wissenschaftlichen Literatur vermehrt Berichte über Brutstörungen und Reproduktionsprobleme bei wildlebenden Tierpopulationen, die zum Teil mit subtilen Mißbildungen der Sexualorgane

einhergehen. 1992 erregte eine dänische Studie zur Spermienqualität von Männern öffentliches Aufsehen, nach der in den letzten 60 Jahren die Spermienzahl in Europa um bis zu 50 % abgenommen haben soll (Carlsen et al., 1992). Zur selben Zeit entdeckten Wissenschaftler die hormonelle Wirkung einiger Industriechemikalien wie Nonylphenol, DDT, Bisphenol A oder Kongenere der komplexen Gruppe der Polychlorierten Biphenyle (PCBs). Diese Stoffe wurden über Jahrzehnte hinweg produziert, in den Verkehr gebracht und sind aufgrund ihrer teilweise hochgradigen Persistenz inzwischen ubiquitär in allen Umweltkompartimenten nachzuweisen. Mittlerweile sind weit mehr als 200 solcher Substanzen mit hormoneller Wirksamkeit entdeckt worden und ständig kommen Verbindungen aus weiteren Substanzklassen hinzu.

Die Thematik der hormonell wirksamen Industriechemikalien erweckte 1996 mit dem Erscheinen des viel beachteten, allgemeinverständlichen Buches von Dr. Theo Colborn mit dem Titel "Die bedrohte Zukunft" (engl. Originaltitel "Our stolen future") öffentliche Aufmerksamkeit und brachte das Schlagwort von der 'Verweiblichung' in das gesellschaftliche Bewußtsein. Darin werden die Zusammenhänge zwischen Fortpflanzungsstörungen bei Mensch und Tier und der Belastung mit anthropogenen Umweltchemikalien (Xenobiotika) anschaulich dargelegt (Colborn, Dumanoski, Myers, 1996).

Zu den sogenannten 'Endokrinen Disruptoren' (engl. 'endocrine disruptors' (EDs) oder 'endocrine disrupting chemicals' (EDCs)), auch Umwelt- oder Ökohormone genannt, zählen Substanzen und deren Metaboliten, die mit der Produktion, der Freisetzung, dem Transport und dem Abbau körpereigener Hormone sowie mit der Wirkung von Hormonen auf deren Rezeptoren konkurrieren. Es handelt sich um Umweltchemikalien, die in sonst nicht toxischen Konzentrationen in das hormonelle System von Menschen und Tieren eingreifen können.

Auf der im Dezember 1996 in Weybridge, England, abgehaltenen Konferenz "European workshop on the impact of endocrine disruptors on human health and wildlife" unter Federführung der EU-Kommission DG XII, der European Environment Agency und dem European Center for Environmental Health der WHO hat man sich auf folgende Definition für "Endokrine Disruptoren" geeinigt:

"An endocrine disruptor is an exogenous substance that causes adverse health effects in an intact organism, or its progeny, secondary (consequent) to changes in endocrine functions."

("Bei Endokrinen Disruptoren handelt es sich um körperfremde Verbindungen, die in das endokrine System eines gesunden Organismus

oder das seiner Nachkommen eingreifen und zu signifikanten Gesundheitsstörungen führen.")

Davon zu unterscheiden sind "potentielle Endokrine Disruptoren":

"A potential endocrine disruptor is a substance, that possesses properties that might be expected to lead to endocrine disruption in an intact organism."

("Bei potentiellen Endokrinen Disruptoren handelt es sich um Verbindungen, die über die Möglichkeit verfügen, in das endokrine System eines gesunden Organismus einzugreifen zu können.")

Nach dieser Weybridge-Definition gilt ein Stoff nur dann als ED, wenn an gesunden Organismen *in vivo* deutliche Gesundheitsschäden als Folge von Veränderungen endokriner Funktionen aufgetreten sind. Der alleinige Nachweis, daß eine Verbindung einen Einfluß auf das endokrine System ausüben kann, reicht demnach nicht für eine Einstufung als ED aus.

Für einen potentiellen ED konnten demnach *in vivo* solche Schadwirkungen noch nicht belegt werden. Es können jedoch im Körper endokrin aktive Stoffwechselprodukte (Metaboliten) gebildet werden, *in vitro* kompetitiver Agonismus (Bindung und Auslösen der Wirkung) oder Antagonismus (Bindung und kein Auslösen der Wirkung) an Rezeptoren vorliegen oder *in vitro* an hormonsensitiven Zellkulturen hormonelle Wirksamkeit nachgewiesen worden sein.

Etwas umfassender ist die Definition der US-Umweltbehörde EPA aus dem Jahre 1997:

"An environmental endocrine disruptor is defined as an exogenous agent that interferes with the synthesis, secretion, transport, binding, action or elimination of natural hormones in the body that are responsible for the maintenance of homeostatis, reproduction, development, and/or behavior."

("Unter einem in der Umwelt relevanten Endokrinen Disruptor versteht man eine körperfremde Substanz, die mit der Synthese, der Ausscheidung, dem Transport, der Bindung, der Wirkung oder dem Abbau der natürlichen Hormone im Körper konkurriert, welche für die Aufrechterhaltung der physiologischen Körperfunktionen, die Fortpflanzung, die Entwicklung und/oder das Verhalten verantwortlich sind.")

Nach der EPA-Definition werden also alle Chemikalien als EDCs bezeichnet, die in irgendeiner Weise auf das natürliche Hormonsystem Einfluß nehmen. Im Gegensatz zur engeren Weybrigde-Definition werden auch jene Verbindungen eingeschlossen, die Änderungen der Hormonkonzentrationen auslösen, die Aktivität endokriner Drüsen und Gewebe beeinflussen sowie hormonspezifische Effekte auslösen bzw. hemmen.

Die vorliegende Literaturstudie soll den Stand der wissenschaftlichen und umweltpolitischen Diskussion beschreiben und die mögliche Relevanz der Thematik für ein Land wie Baden-Württemberg aufzeigen. Dabei wird versucht, die als hormonell wirksam identifizierten Verbindungsklassen so weit möglich vollständig zusammenzustellen und ihrer Wirkweise gemäß den Östrogenen, Antiöstrogenen, Androgenen und Antiandrogenen zuzuordnen. Darüber hinaus soll der Leser in die aktuellen Testmethoden und Verfahren zur Identifizierung und Einstufung von Umwelthormonen eingeführt werden. Das Vorkommen und die Gehalte der behandelten Verbindungen im Wasser, Sediment und gebunden an Schwebstoffe der Fließgewässer und Seen in Deutschland wird anhand von Meßergebnissen der letzten Jahre diskutiert. Dabei wird bei ausreichender Datenlage der Schwerpunkt auf Baden-Württemberg gelegt. Zum besseren Verständnis ist ein einführendes Kapitel zur Analytischen Chemie von Umweltchemikalien und deren Methoden enthalten. Aufgrund der Komplexität der Thematik ist dieser Arbeitsbericht eher für die interessierte Fachöffentlichkeit, als für ein breites Publikum bestimmt.

1.2 Die Rolle von Hormonen bei Wirbeltieren

Hormone werden von speziellen endokrinen Drüsen und Geweben wie Testes (Hoden), Ovarien (Eierstöcke), Hypothalamus, Hypophyse, Nebennierenrinde etc. produziert und an den Blutkreislauf abgegeben. Mit dem Blut werden sie ihren Zielorganen und -geweben zugeführt, wo sie an Rezeptoren binden, diese aktivieren und ihre spezifische Wirkung auf die Gene der Zellkerne ausüben.

Sie spielen eine vielfältige Schlüsselrolle in Entwicklung, Stoffwechsel und Fortpflanzung von Mensch und Tier. Dabei haben sie unterschiedliche Einflüsse und Wirkstärke je nach Lebensphase vom Beginn der Fetalentwicklung bis hin zur Geschlechtsreife. Man spricht in diesem Zusammenhang auch von zeitlichen Sensibilitätsfenstern. Dabei kann eine adverse Wirkung durch Umwelthormone erst deutlich verzögert nach der Exposition auftreten, z. B. wird angenommen, daß Anomalien der Genitalentwicklung und Fertilität nach der Pubertät bereits durch Störungen während der Embryonalentwicklung verursacht werden und erst deutlich zeitverzögert auftreten. Diese Schadwirkungen sind oft irreversibel - eine kurzzeitige

Exposition während einer sensiblen Phase kann für das ganze Leben lang prägend sein.

Bei Hormonen handelt es sich um organische Verbindungen, die in mehrere Verbindungsklassen wie die Steroid-, die Peptid-, die Proteo- oder die Terpenhormone eingeteilt werden. Bemerkenswert an diesen Signalstoffen sind die äußerst geringen Wirkkonzentrationen im Picogramm/L- bis Femtogramm/L-Bereich (10^{-12} - 10^{-15} g/L) im Blut. Eine besondere Rolle kommt den Steroidhormonen zu, denn zu dieser Stoffklasse werden die typisch weiblichen und männlichen Sexualhormone, die Östrogene bzw. die Androgene, gezählt.

Die Aktivität der endokrinen Drüsen wird über einen `feedback`-Mechanismus auf einem relativ konstanten Niveau gehalten, jedoch können äußere Faktoren wie Wetter, Streß und Krankheit Einfluß auf das Gleichgewicht nehmen.

Werden Hormone in zu geringer Menge oder im Überschuß produziert, resultieren oft schwere Krankheiten wie z. B. die Ausbildung hormonabhängiger Tumoren (Brustkrebs) oder Diabetes. Endokrin wirksame Chemikalien können, wie mittlerweile bekannt, an vielen kritischen Stellen des Hormonsystems angreifen und die natürlichen, hormonell induzierten Prozesse stören, indem sie als Östrogene, Antiöstrogene, Androgene oder Antiandrogene wirken. Außerdem sind einige Umwelthormone in der Lage, die natürlichen Abbauwege endogener Hormone in der Leber zu beeinflussen, was ebenfalls zu einer empfindlichen Störung des Hormonhaushaltes führen kann (Schmidt, Thews, 1995).

1.3 Negative Einflüsse endokriner Disruptoren auf das Reproduktionssystem von Mensch und Tier

1.3.1 Reproduktionsstörungen bei Tieren

Kurz nach dem Beginn der intensiven Anwendung von Pestiziden und weiteren halogenierten Industriechemikalien wie den Polychlorierten Biphenylen (PCBs) Ende der 40er Jahre wurden erste Berichte über gestörtes Brut- und Paarungsverhalten bei Greifvögeln publik. Die Tatsache, daß lokal ganze Wildtierpopulationen durch Reproduktionsstörungen dezimiert und an den Rand der Ausrottung gebracht wurden, blieb anfangs noch auf Vögel und Räuber, die am Ende einer Nahrungskette standen, beschränkt.

Das fast vollständige Aussterben des Weißkopfseeadlers in weiten Teilen entlang der Ostküste Kanadas und den USA war der Anlaß für erste Ursachenforschungen

(Broley et al., 1958). Seitdem sind eine Vielzahl von Studien über Mißbildungen der Sexualorgane, Verhaltensanomalien, Fruchtbarkeitsstörungen, hohe Sterblichkeitsraten beim Nachwuchs und weitere Fertilitätsprobleme von verschiedensten Tierpopulationen aufgrund vom Menschen verursachter Umweltverschmutzung erschienen. Als populärste Beispiele seien hier nur das Massensterben von Belugawalen im St. Lawrence River ab Mitte der 80er Jahre (Béland et al., 1993), das Auffinden von Alligatormännchen mit stark verkümmertem Penis 1993 im Apopka-See in Florida (Guillette Jr. et al., 1996) oder 1994 die Berichte über hermaphroditische (zum Zwitter gewordene) Fische in englischen Flüssen, die Zulauf von geklärten Abwässern erhalten (Purdom et al., 1994), genannt.

1.3.2 Reproduktionsstörungen beim Menschen

Inzwischen mehren sich die Anzeichen, daß Fertilitätsstörungen, welche zunächst nur in der Tierwelt beobachtet wurden, auch beim Menschen auftreten können (Thierfelder et al., 1995). Ausgelöst wurde die Debatte 1992 durch eine dänische Studie, der zufolge die *Spermienzahl* beim Mann seit 1938 von durchschnittlich 113 Millionen auf 66 Millionen pro Milliliter Ejakulat um bis zu 50 % abgenommen haben soll (Carlson et al., 1992). Die Beweislage dieser Literaturstudie basierte jedoch auf alten Untersuchungen und lieferte somit berechtigten Anlaß zu Kritik. Eine vorsichtige Einschätzung der neuesten Datenlage, u. a. gestützt durch eine Metaanalyse aus 56 verschiedenen Studien (Swan et al., 1997), kommt auch bei Berücksichtigung regionaler Unterschiede und weiterer Variablen wie Probandenauswahl, Häufigkeit des Geschlechtsverkehrs etc. zu dem Ergebnis, daß die Spermienzahlen in den USA um 1,5 %, in Europa gar um 3,1 % pro Jahr abnehmen. Darüber hinaus verschlechtert sich zunehmend die *Qualität der* noch verbleibenden *Spermien* (Comhaire et al., 1996), ein Phänomen, welches schon seit längerem bei Männern mit hoher Organochlorexposition am Arbeitsplatz beobachtet wurde (Thrupp, 1991).

Eine aktuelle Studie aus Frankreich stellt diese Resultate jedoch in Frage und weist auf die breite natürliche Streuung der Spermienzahl hin. Neben gegebenen geographischen und regionalen Unterschieden wird auch eine unzureichende Kenntnis der Lebensgewohnheiten der Probanden und die technische Durchführung der oft älteren Studien bemängelt (Eustache et al., 1999).

In einigen westlichen Ländern, die seit längerem ein Krebsregister führen, kann ein starker Anstieg der Zahl von *Hodenkrebs-* und *Prostatakrebs*fällen verzeichnet werden. Die Prostata stellt ein besonders anfälliges Zielorgan hormonell wirksamer Chemikalien dar. In den USA hat sich die Zahl der jährlichen Prostatakrebs-

erkrankungen zwischen 1982 und 1994 verdreifacht, was Kritiker der Disruptortheorie auf die verbesserte Krebsdiagnostik zurückführen. Dieses Argument kann für Hodenkrebs nicht geltend gemacht werden, denn dieser kann schon viel länger zuverlässig diagnostiziert werden. Bei beiden Krebsarten deuten neue Experimente darauf hin, daß eine Störung des endokrinen Systems während der frühkindlichen Entwicklung verantwortlich sein dürfte. Als eine Folge ungenügender Androgenexposition treten bei Männern die Phänomene *Cryptorchismus* (Hodenhochstand) und *Hypospadie* (angeborene Fehlbildung der Harnröhre) auf. Verlässliche Angaben über eine Zunahme liegen noch nicht vor, jedoch tritt Hodenkrebs in Verbindung mit Cryptorchismus verstärkt auf (Weybridge, 1996).

Der *Geschlechterquotient* [Jungen / (Jungen + Mädchen)] bei Neugeborenen ist im Allgemeinen eine konstante Größe; er liegt mit 0,515 bei einem Übergewicht der männlichen Nachkommen. Neun Monate nach dem Dioxinunfall in Seveso 1984 war der Geschlechterquotient bei den Kindern stark exponierter Bewohner auf 0,35 gesunken und stieg bis 1994 wieder auf 0,48 an. Unter den 76 in diesem Zeitraum geborenen Kindern waren 48 Mädchen und nur 26 Jungen (Mocarelli et al., 1996). Auch in einigen mitteleuropäischen Ländern wird seit den 50er Jahren eine geringe, wenn auch stetige Abnahme des Quotienten verzeichnet (Möller et al., 1996).

Bisherige Publikationen über Reproduktionsstörungen beim Menschen konzentrierten sich im Wesentlichen auf den männlichen Geschlechtsapparat. Studien zum Zusammenhang zwischen *Brustkrebs* oder *Endometriose* (Vorkommen von Gebärmutter-ähnlichem Gewebe außerhalb der Gebärmutterhöhle) bei Frauen und Umwelthormonen sind erst in den letzten Jahren angelaufen. Gerade Brustkrebserkrankungen haben seit den 30er Jahren in den Industrienationen um 1 - 2 % jährlich zugenommen. Neben der Zunahme der üblichen Risikofaktoren werden immer mehr körperfremde Hormone als Auslöser diskutiert (Platt et al., 1995).

Außer den Auswirkungen auf das Reproduktionssystem des Menschen werden auch neurologische und immunologische Effekte vermutet. Kinder, deren Mütter ernährungsbedingt in der Muttermilch eine deutlich erhöhte Belastung an Organochlorverbindungen aufwiesen, zeigten in der Schule auffällige Lern- und Sprachstörungen sowie Hyperaktivität. Ihr Intelligenzquotient lag durchschnittlich um etwa fünf Punkte unter dem 'unbelasteter' Kinder. Außerdem zeigten diese Kinder bereits als Säuglinge eine deutliche Schwächung ihrer Reflexe sowie langsamere Entwicklung der Grob- und Feinmotorik im Vergleich mit normalen Altersgenossen (Jacobsen et al., 1984; Gladen et al., 1988; Rogan et al., 1986).

1.3.3 Verhaltensstörungen bei Tieren

Neben der reinen Physiologie der Reproduktion spielt bei Tieren das damit in Zusammenhang stehende Balzverhalten eine zentrale Rolle. Ohne eine festgelegte Abfolge von dadurch ausgelösten Verhaltensweisen kommt es nicht zur Paarung. Verhaltensstörungen bei der anschließenden Brutpflege gefährden das Überleben und die Aufzucht der Nachkommen. Störungen in diesen Bereichen sind besonders subtil, da sie wenig auffällig sind.

Zur Veranschaulichung sei das Beispiel 'homosexueller' Seemöwen im Ontario-See der Great Lakes erwähnt. Hier wurden deutliche Populationseinbrüche Anfang der 70er Jahre festgestellt. Wie sich herausstellte, waren die an der Spitze der Nahrungskette stehenden Vögel mit Organochlorverbindungen wie den Polychlorierten Biphenylen (PCBs) oder DDT hoch belastet, die sie über die Fische des kontaminierten Sees aufgenommen und angereichert hatten. Männliche Möwen hatten das Interesse zur Paarung verloren. Als Folge davon fand man immer mehr weibliche Möwenpaare, die zusammen ein Nest bebrüteten anstatt der natürlichen Paare aus Männchen und Weibchen. Die meisten Eier blieben unbefruchtet und lieferten keinen Nachwuchs. Die angeborenen Verhaltensweisen, die Eier zu bebrüten oder das Nest zu verteidigen, nahmen ebenfalls ab, wodurch viele entwicklungsfähige Eier Freßfeinden zum Opfer fielen (Fox et al, 1978). Als Ursache hierfür wird mittlerweile die hormonelle Wirksamkeit einiger Vertreter der PCBs verantwortlich gemacht.

2 Testmethoden zur Identifikation und Festlegung endokriner Aktivität

2.1 Wirkung und Effekte körpereigener Hormone

Als die typisch weiblichen Sexualhormone steuern die endogenen **Östrogene** bei Mensch und Tier die Entwicklung des charakteristisch weiblichen Körperbaus und der sekundären Geschlechtsmerkmale. Darüber hinaus regeln sie den weiblichen Menstruationszyklus und zusammen mit den Gestagenen den Verlauf einer Schwangerschaft. Am Ende der Pubertät beenden sie das Längenwachstum. Durch eine gesteigerte Eiweißsynthese weisen die Östrogene analog den Androgenen eine 'anabole' Wirkkomponente auf.

Bei Anwesenheit von körperfremden (exogenen) **Antiöstrogenen** wird die Wirkung der körpereigenen (endogenen) Östrogene inhibiert oder teilweise vermindert. Dies kann auf direktem Wege durch Antagonismus am Östrogenrezeptor, d. h. durch Bindung an den Rezeptor ohne die entsprechende Wirkung auszulösen, geschehen. Daneben können aber auch indirekt der Metabolismus von Östrogenen oder die Synthese von Östrogenrezeptoren beeinflusst werden. In beiden Fällen tritt eine verminderte Konzentration an endogenen Östrogenen im Zielgewebe auf.

Die **Androgene** stellen die klassisch männlichen Sexualhormone dar. Ihre 'androgene' Wirkung beruht auf der Stimulation spezifischer Stoffwechselfvorgänge in den Zielorganen. Dazu gehört die Kehlkopfvergrößerung in der Pubertät (Stimmbruch), der Haarwuchs, die Ausbildung der männlichen Geschlechtsorgane wie Prostata, Hoden, Samenblasen usw. sowie die Steuerung der Spermienbildung. Während der Schwangerschaft bewirken sie die Differenzierung des Sexualzentrums des Embryos. Darüber hinaus sind sie für die Aufrechterhaltung der Libido bei Mann und Frau verantwortlich und steuern durch eine zentrale Wirkung auf das Gehirn maßgeblich das Verhalten von Mensch und Tier. Die 'anabole' Wirkkomponente der Androgene führt zu einem gesteigerten Proteinmetabolismus, wodurch Längen-, Nieren- und Muskelwachstum angeregt werden.

Die Effekte und Wirkungen von körperfremden **Antiandrogenen** stehen in völliger Analogie zu den Antiöstrogenen.

2.2 Tests auf östrogen wirksame Verbindungen

2.2.1 In vivo Tests

Eine therapeutische oder unbeabsichtigte Exposition mit synthetischen Östrogenen oder deren anthropogenen Agonisten kann auf den Genitaltrakt weiblicher Wirbeltiere, die Vagina (Scheide), der Uterus (Gebärmutter), die Ovarien (Eierstöcke) und das Ovidukt (Eileiter), deutliche Auswirkungen zeigen, was zur Bestimmung der Potenz östrogen aktiver Verbindungen ausgenutzt wird.

2.2.1.1 Allen-Doisy-Test

Im sogenannten Allen-Doisy-Test werden weibliche Mäuse und Ratten, denen die Eierstöcke entfernt wurden, als Versuchstiere eingesetzt. Nach der Entfernung der Ovarien müssen die Tiere zur Aufrechterhaltung der Östrogensensitivität regelmäßig mit Östrogenen versorgt werden. Die zu testenden Verbindungen werden ein- oder mehrmalig subkutan, intramuskulär oder intravaginal verabreicht. Als Nachweis östrogenener Wirkung gilt die Bildung einer Verhornung des Vaginalepithels. Die verhornten Zellen treten dabei zwei bis drei Tage nach Beginn der Exposition im Vaginalabstrich auf. Durch Applikation verschiedener Dosierungen und Einsatz mehrerer Tiere pro Dosisgruppe kann die Dosis-Häufigkeitsbeziehung ermittelt werden. Der Allen-Doisy-Test dient seit Beginn der 30er Jahre zur Erfassung östrogenener Aktivität und war lange Zeit die einzige Methode (Cook et al., 1933). Die Resultate mit unterschiedlichen Tierlinien variieren stark, wodurch eine gleichzeitige Paralleluntersuchung mit einer Referenzsubstanz wie 17β -Östradiol (E2) oder Diethylstilböstrol (DES) (vgl. Kap. 3.1.8) erforderlich wird, um eine quantitative Interpretation zuzulassen.

2.2.1.2 Glykogen im Uterus

Vor allem viele DDT- und Methoxychlor-Metaboliten wurden mit Hilfe der Zunahme des Glykogengehalts im Uterus bei weiblichen, juvenilen Ratten untersucht. Dabei trat ein Anstieg 18 Stunden, nachdem einmalig subkutan die entsprechende Verbindung injiziert wurde, auf (Bitman et al., 1978).

2.2.1.3 Uterusgewichts-Test

Auch hier dienen juvenile und/oder ovariectomierte Ratten bzw. Mäuse als Versuchstiere. Nach Verabreichung der zu untersuchenden Verbindung über mehrere Tage hindurch wird das Tier getötet, der Uterus entnommen und gewogen. Der Nachweis östrogenen Wirkung ist bei einer Erhöhung des Uterusgewichts im Vergleich zu unbehandelten Tieren der gleichen Linie erbracht. Der Uterusgewichts-Test ist der am häufigsten und in zahlreichen Variationen ausgeführte Test auf östrogen wirksame Chemikalien. Mit seiner Hilfe konnten u. a. o,p'-DDT, Methoxychlor, einige PCBs, Kepon sowie die Phytoöstrogene Coumestrol und Daidzein als Östrogene identifiziert werden.

2.2.1.4 Ornithindecaboxylase-Test

Bei der Ornithindecaboxylase handelt es sich um ein Enzym, welches die Biosynthese der Polyamine katalysiert. Die Polyamine selbst spielen eine wichtige Rolle bei Proteinsynthese und Zellwachstum. Östrogene bewirken im Uterus die Erhöhung der Ornithindecaboxylase-Aktivität, was ebenfalls zur Einstufung von DDT und Methoxychlor als Östrogene beigetragen hat (Bulger et al., 1978).

2.2.1.5 Oviduktgewichts-Test

Dieser Test wurde zunächst mit Hühnerküken, später auch mit juvenilen Wachteln durchgeführt. Östrogene lösen bei jungen Vögeln im Ovidukt eine intensive Zunahme der Zellteilung und somit eine Gewichtszunahme aus. Die Testverbindungen werden den Vögeln über mehrere Wochen mit dem Futter verabreicht. Nach dem Töten der Tiere wird das Gewicht des Ovidukts gemessen, das je nach Dosis und Einnahmedauer bis auf das Hundertfache erhöht sein kann. Der Oviduktgewichts-Test wurde vor allem zur Untersuchung von DDT und Kepon angewandt (Eroschenko et al., 1980).

2.2.1.6 Geschlechtsdifferenzierung bei Reptilien

Bei vielen eierlegenden Schildkröten-, Eidechsen- und Alligatorarten ist das Geschlecht des Embryos nicht genetisch festgelegt, sondern wird während der Brutphase durch die Inkubationstemperatur der befruchteten Eier bestimmt. Zum Beispiel entwickeln sich während der Phase der Geschlechtsdifferenzierung die Eier

der Schildkrötenart *Trachemys scripta* bei 26°C zu männlichen, bei 32°C zu weiblichen Exemplaren. Bringt man während dieser Phase Östrogene auf die Eierschale, so entwickeln sich auch bei den niedrigeren Temperaturen weibliche Individuen. Auch diverse PCB, Terphenyle, Phenylphenole und Diphenylether lösen eine weibliche Differenzierung kalt inkubierter Eier aus, so daß diese Methode als Test auf östrogene Verbindungen vorgeschlagen wurde (Bergeron et al., 1994).

2.2.1.7 Geschlechtsdifferenzierung bei Vögeln

Werden Pestizide wie o,p'-DDT, p,p'-DDE, p,p'-DDT oder Methoxychlor in befruchtete Eier von Möwen injiziert, so treten bei den männlichen Nachkommen deutliche Erscheinungen der Verweiblichung auf. Die Hoden sind stark degeneriert und es bilden sich den weiblichen Vögeln analog Ovidukte aus (Fry et al., 1981).

2.2.1.8 Geschlechtsdifferenzierung bei Mäusen und Ratten

Durch die Injektion von Östrogenen in Nagetiere während der neonatalen Phase kommt es bei weiblichen Nachkommen zu signifikanten Störungen in der endokrinen Entwicklung. Bei weiblichen Ratten und Mäusen tritt die Geschlechtsreife früher als üblich ein. Nach einer Phase gewöhnlicher Fortpflanzungszyklen kommt es aufgrund einer dauerhaften Verhornung des Vaginalepithels zu einer Störung des Reproduktionszyklus und der Ovulation. Offensichtlich induzieren Östrogene während der neonatalen Phase Veränderungen der Geschlechtsorgane sowie der Hypothalamus- und Hypophysenfunktion.

Ähnliche Effekte wie endogene Östrogene lösten auch o,p'-DDT, das PCB-Gemisch Arochlor 1221, Kepon und Methoxychlor aus (Takasugi et al., 1988). Dieser Test eignet sich jedoch nur bedingt zur Bewertung östrogen wirksamer Xenobiotika, da auch Androgene im Tierversuch ähnliche Ergebnisse liefern können.

2.2.1.9 Vitellogeninsynthese bei Fischen

Als Biomarker für die östrogene Aktivität anthropogener Stoffe in der aquatischen Umwelt haben sich die Vitellogene, spezielle Lipoproteine, durchgesetzt. Vitellogene sind Vorläufer der Eidotterproteine und werden nach ihrer Bildung in der Leber nach der Addition einer Lipid- und einer Phosphateinheit mit dem Blutkreislauf in das Ovar transportiert, wo sie in einer bestimmten Speicherform dem

heranwachsenden Embryo als Energielieferant dienen. Die Vitellogeninsynthese in der Leber wird normalerweise nur unter dem Einfluß von 17β -Östradiol während des Fortpflanzungszyklus bei weiblichen Fischen induziert.

Männliche Fische bilden diese Lipoproteine nicht, unter Einwirkung von 17β -Östradiol oder anderen östrogenen Chemikalien kann aber auch bei diesem Geschlecht die Bildung von Vitellogeninen stimuliert werden. Der Anstieg der Blutplasmakonzentration von Vitellogenin in männlichen Versuchstieren wie der Regenbogenforelle *Oncorhynchus mykiss* wird seit Anfang der 90er Jahre in ökotoxikologischen Studien zum Nachweis östrogenen Chemikalien *in vivo* herangezogen (Sheahan et al., 1994; Harries et al., 1994). Besonders die Umweltöstrogene 4-Nonylphenol, 17α -Ethinylöstradiol und Mestranol werden für die verweiblichenden Effekte von geklärten Abwässern auf Fische verantwortlich gemacht (Purdom et al., 1994).

2.2.2 In vitro Tests

Es existieren eine Reihe von Laborexperimenten, um östrogene und antiöstrogene Wirkungen und deren Mechanismen im Organismus zu untersuchen. Mehrere dieser zellbiologischen, biochemischen und molekularbiologischen Methoden wurden in den letzten Jahren verstärkt zur Einschätzung der endokrinen Potenz von Xenobiotika eingesetzt.

2.2.2.1 Affinität am Östrogenrezeptor

Östrogene lösen im Organismus die für sie spezifische Wirkung durch die Bindung an einen Östrogenrezeptor aus. Die Rezeptoraffinität körperfremder Verbindungen wird meist anhand der Verdrängung von gebundenem, radioaktiv markiertem [^3H]- 17β -Östradiol gemessen. Daneben kann auch die Inhibierung der Bindung von [^3H]- 17β -Östradiol an rezeptorreiches Gewebe durch Xenoöstrogene ermittelt werden. Diese östrogenrezeptorreichen Gewebe werden meist aus Uterusextrakten von Ratten, Mäusen oder Kaninchen, aus Leberextrakten von Forellen oder aus menschlichen Brustkrebszellen erhalten. Zu beachten bei diesen Rezeptorbindungsexperimenten ist jedoch, daß hieraus keine Rückschlüsse über die östrogene Potenz einer Verbindung gezogen werden dürfen. Ein positives Bindungsergebnis darf nicht mit östrogenen Aktivität gleichgesetzt werden, ebenso wenig wie eine fehlende Affinität zum Rezeptor mit einer nicht vorhandenen Aktivität. Eine Vielzahl von Verbindungen wie z. B. Tamoxifen binden mit hoher

Affinität an den Östrogenrezeptor, zeigen aber antagonistisches Verhalten und nur geringe östrogene Potenz. Andere Chemikalien wie z. B. Methoxychlor binden *in vitro* kaum an den Rezeptor, weisen aber *in vivo* deutlich östrogene Wirkungen auf, weil im Stoffwechsel hoch wirksame Metaboliten gebildet werden. Daher können solche Xenooestrogene mit diesen Testmethoden nicht identifiziert werden.

2.2.2.2 Östrogensensitive Brustkrebszellen

Östrogensensitive Brustkrebszelllinien wurden seit Beginn der 70er Jahre aus Brustkrebspatientinnen isoliert. Durch ihre Kultivierung sollten in erster Linie nähere Erkenntnisse über die Entstehung und die Wachstumsfaktoren von Brustkrebskarzinomen gewonnen werden. Rein zufällig entdeckten dabei einige Forschergruppen die östrogene Aktivität von 4-Nonylphenol oder Bisphenol A, welche aus den Kunststoff-Reagenzgläsern in die Versuchslösung migrierten und dort die Experimente mit den Brustkrebszellen störten (Soto et al., 1991).

Seither kommen am häufigsten MCF-7-Zellen und ZR-71-1-Zellen zum Einsatz, um die östrogene Aktivität von Pseudohormonen zu untersuchen. Die Wirkung von Östrogenen auf die Krebszellen beruht in erster Linie auf einer Stimulation der Proliferation, der Synthese verschiedener Enzyme und der Steigerung des Wachstums von Progesteronrezeptoren. Als Folge davon wird die Zellteilung beschleunigt, die Krebszellen vermehren sich schneller. Durch Kultivierung unter verschiedensten Selektionsbedingungen und durch Klonierung sind in den letzten 20 Jahren viele Sublinien der ursprünglichen Zelllinien entstanden, so daß vergleichende Experimente zwischen verschiedenen Laboratorien kaum noch möglich sind. Der sogenannte "E-screen" (estrogen-screen) (Soto et al., 1992) zur Bestimmung der östrogenen Potenz von Verbindungen basiert auf der Verwendung klonierter MCF-7-Zellen, welche die Fähigkeit besitzen, sich auch in östrogenfreien Medien stark zu vermehren (Proliferation). Setzt man östrogenfreies Humanserum zu, so wird die Proliferation durch einen noch unbekanntem Serumbestandteil inhibiert. Diese Hemmung kann durch Zugabe von Östrogenen aufgehoben werden. Der E-screen basiert also nicht auf dem Nachweis der proliferationsstimulierenden Wirkung der Östrogene, sondern auf der Aufhebung einer Hemmwirkung.

2.2.2.3 Genexpression genetisch manipulierter Zellen

Mit Hilfe einer gentechnischen Methode, der sogenannten Transfektion von Genen, ist es gelungen, östrogensensitive Zellen herzustellen. Dabei werden u. a. Gene für Östrogenrezeptoren und Reportergene in den Zellkern eingeschleust. Bei Anwesenheit östrogen wirksamer Verbindungen wird die Genexpression der Zellen aktiviert. Oft kommen dabei transfizierte Hefezellen (*Saccharomyces cerevisiae*) in sehr empfindlichen Östrogentests (YES = yeast estrogen system) zum Einsatz, aber auch MCF-7-Zellen oder Hühnerembryofibroblasten wurden transfiziert. Mit den Hefestämmen wurden einige abwasserrelevante Detergentien und deren Abbauprodukte wie 4-Nonylphenol oder 4-Octylphenol untersucht (Routledge et al., 1996). Die Östrogenität der Hydroxybiphenyle OPP und PPP konnte mit transfizierten Uteruskarzinomzellen gezeigt werden (Arnold et al., 1996).

2.2.2.4 Vitellogeninsynthese in Fischleberzellen

Analog zu den *in vivo* entwickelten Studien können auch *in vitro* kultivierte Leberzellen von Fröschen und Fischen bei Zugabe von Östrogenen zur Synthese von Vitellogeninen stimuliert werden. Dieses Testsystem konnte u. a. erfolgreich zur Untersuchung der Alkylphenolpolyethoxylate (APnEO) und deren Abbauprodukte (4-Nonyl- und 4-Octylphenol) eingesetzt werden (Jobling et al., 1993). Daneben werden auch die Fischzelllinien RTG-2 (aus den Gonaden der Regenbogenforelle) und PLHC-1 (aus der Leber von *Poeciliopsis lucida*) bei empfindlichen *in vitro*-Testsystemen verwendet. Fent et al. (1999) verwenden in neuen *in vitro*-Testsystemen diese Zellen zur Detektion des östrogen-induzierten Anstiegs der Vitellogenin mRNA oder von Reportergenen.

2.2.2.5 Zonagenese in Fischleberzellen

Ein erst kürzlich entwickelter *in vitro*-Test basiert auf der gesteigerten Synthese des Eischalenbausteins Zonagenin unter dem Einfluß von Östrogenen und Xenoöstrogenen in Fischleberzellen. Die Zonagenese wird analog der Vitellogenese, z. B. in der Leber des Atlantischen Lachses, stimuliert, jedoch tritt die Induktion bereits bei niedrigeren Östrogenkonzentrationen auf (Walther, 1999; Celius et al., 1999).

2.3 Tests auf antiöstrogen wirksame Verbindungen

2.3.1 In vivo Tests

In Kap. 3.1.1 sind einige Testmethoden aufgeführt, die auf dem Einfluß von Östrogenen auf die Geschlechtsorgane weiblicher Nagetiere basieren. Hierzu zählen die Zunahme des Uterusgewichts, die Steigerung der Zellproliferation im Endometrium (Gebärmutter) oder die Erhöhung der Östrogenrezeptorzahl. Zur Untersuchung antiöstrogener Effekte von Umweltchemikalien wird eine Hemmung der obigen Östrogenwirkungen erfaßt (Safe et al., 1991).

2.3.2 In vitro Tests

Bei den *in vitro* Methoden werden insbesondere östrogensensitive Brustkrebszellen (MCF-7-Zelllinien) verwendet. Auch hier wird die Hemmwirkung der antiöstrogen wirkenden Xenobiotika auf Effekte von Östrogenen beobachtet. Dazu gehören die Verminderung der Zellteilungsrate, eine Reduktion der Synthese und Ausschüttung spezifischer Enzyme oder eine Herabsetzung der Progesteronrezeptorzahl (Krishnan et al., 1993).

2.4 Tests auf androgen wirksame Verbindungen

Da bisher lediglich Tributylzinn (TBT), welches als Schutzanstrich für Bootsrümpfe eingesetzt wird, als androgen wirksam identifiziert werden konnte, sind alle bisherigen Untersuchungen auf diese Substanz zugeschnitten. Bei *in vivo* Experimenten wurde TBT dem Wasser weiblicher Vorderkiemenschnecken zugesetzt. Dabei kam es je nach Wirkkonzentration zur teilweisen Ausbildung männlicher Geschlechtsorgane (Pseudohermaphroditismus) analog den Effekten bei Zugabe von Testosteron (Bettin et al., 1996; Oehlmann et al., 1996).

2.5 Tests auf antiandrogen wirksame Verbindungen

2.5.1 In vivo Tests

2.5.1.1 Geschlechtsdifferenzierung männlicher Ratten

Die Wirkung antiandrogen wirkender Chemikalien variiert je nach Entwicklungsphase des Tieres während der Exposition. Jedoch treten stets eine Reihe von Demaskulinierungserscheinungen auf. Während der pränatalen Phase wird vorwiegend die Differenzierung und Ausbildung der Geschlechtsorgane in der später erfolgenden Pubertät gestört. Werden juvenile Ratten mit Antiandrogenen behandelt, so sind Auswirkungen auf das Wachstum und die Funktion der akzessorischen und sekundären Geschlechtsorgane festzustellen. Abhängig vom Zeitpunkt der Exposition kann eine Entwicklung von Brustwarzen, ein Fehlen oder die Mißbildung von Genitalien und verzögerte Pubertät auftreten.

Über die antiandrogene Wirkung von Xenobiotika sind bislang nur wenige Arbeiten publiziert worden, die meist auf dem Auftreten eines der oben genannten Symptome bei der Exposition von Ratten basieren (Kelce et al., 1995, 1999).

2.5.2 In vitro Tests

2.5.2.1 Bindung an den Androgenrezeptor

Analog zu den Bindungsexperimenten am Östrogenrezeptor wird hier radioaktiv markiertes [³H]-Testosteron oder das synthetische Androgen [³H]-R 1881 verwendet. Die Bindungshemmung dieser Androgene an den Androgenrezeptor wird meist mit zytosolischen Extrakten aus der Prostata von Ratten bestimmt (Kelce et al., 1995, 1999).

2.5.2.2 Transkription in genetisch manipulierten Zellen

Ein Gen zur Expression humaner Androgenrezeptoren und ein Reporter gen wurden in Affenierenzellen eingeschleust, wodurch eine Messung der durch Androgene stimulierten Transkriptionsaktivität möglich wird. Im Körper wird die Transkription durch Dihydrotestosteron (DHT) induziert. Eine antiandrogen wirksame Verbindung hemmt diese Transkription, was als Nachweis herangezogen werden kann (Kelce et al., 1995, 1999).

3 Übersicht über identifizierte Verbindungen mit hormoneller Aktivität

Im folgenden wurde versucht, die bislang als hormonell wirksam identifizierten Verbindungen möglichst vollständig zusammenzustellen und anhand struktureller Merkmale in verschiedene Substanzgruppen einzuteilen. Aufgrund ihrer die natürlichen Sexualhormone imitierenden Wirkungsweise lassen sie sich, wenn auch teilweise unter Einschränkungen, den Östrogenen, Antiöstrogenen, Androgenen und Antiandrogenen zuordnen.

3.1 Östrogene

3.1.1 Endogene Steroidhormone

Unter Östrogenen versteht man im engeren Sinne die weiblichen Sexualhormone, die der Stoffklasse der Steroide angehören. Die drei wichtigsten Vertreter stellen Östron (E1), 17 β -Östradiol (E2) und Östriol (E3) dar (Abb. 3-1). Von allen östrogen wirksamen Verbindungen werden ihnen die höchsten Potenzen zugeschrieben. Die tägliche Östrogensekretion mit dem Urin beträgt bei Frauen je nach Zyklusphase 25 - 100 μ g, kann am Ende einer Schwangerschaft aber auf bis zu 30 mg am Tag steigen. Männer scheiden in der Regel etwa ein Fünftel der Menge einer Frau aus (Forth et al., 1996).

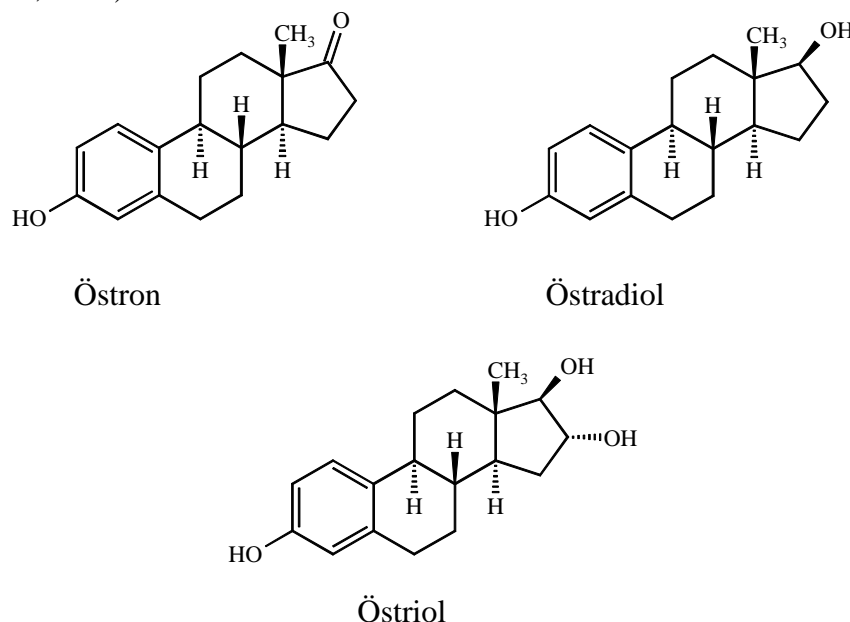


Abb. 3-1: Östron (E1), 17 β -Östradiol (E2) und Östriol (E3)

Eine nicht zu vernachlässigende, regional relevante Quelle natürlicher Östrogene stellt die generelle Tierhaltung und insbesondere die industrielle Tiermast dar. Alle Nutztiere wie Rinder, Schweine, Pferde, Geflügel oder Schafe scheiden ebenfalls beträchtliche Mengen dieser Verbindungen aus (Knights et al., 1980), die dann in der Regel als Gülle auf Äcker und Felder verbracht werden.

3.1.2 Exogene Steroidhormone

Neben den obigen endogenen Östrogenen hat die pharmazeutische Industrie eine Reihe von synthetischen Östrogenen, die sich fast ausschließlich vom 17β -Östradiol ableiten, für den therapeutischen Einsatz und zur hormonellen Empfängnisverhütung hervorgebracht. In oralen Kontrazeptiva kommen vor allem zwei synthetische Östrogene zur Anwendung, das 17α -Ethinylöstradiol (EE2) und sein 3-Methylether, das Mestranol (Abb. 3-2). Durch die Einführung der Ethinyl-Gruppe in 17β -Östradiol wird die Hydroxygruppe des Fünfrings gegen einen oxidativen Abbau im Organismus nahezu inert, so daß EE2 bis zu 80 % in unveränderter Form als Konjugat gebunden an Schwefelsäure oder Glucuronsäure mit dem Urin eliminiert wird. Des weiteren bleibt EE2 auch unter aeroben Bedingungen über mehrere Tage hinweg in Belebtschlamm-Experimenten im Labormaßstab stabil (Rathner et al., 1979), was ihre Eliminierbarkeit in biologischen Kläranlagen im Vergleich zu den natürlichen Östrogenen deutlich einschränkt. Mestranol wird spätestens in der Kläranlage in das stabilere EE2 umgewandelt (Ternes et al., 1999).

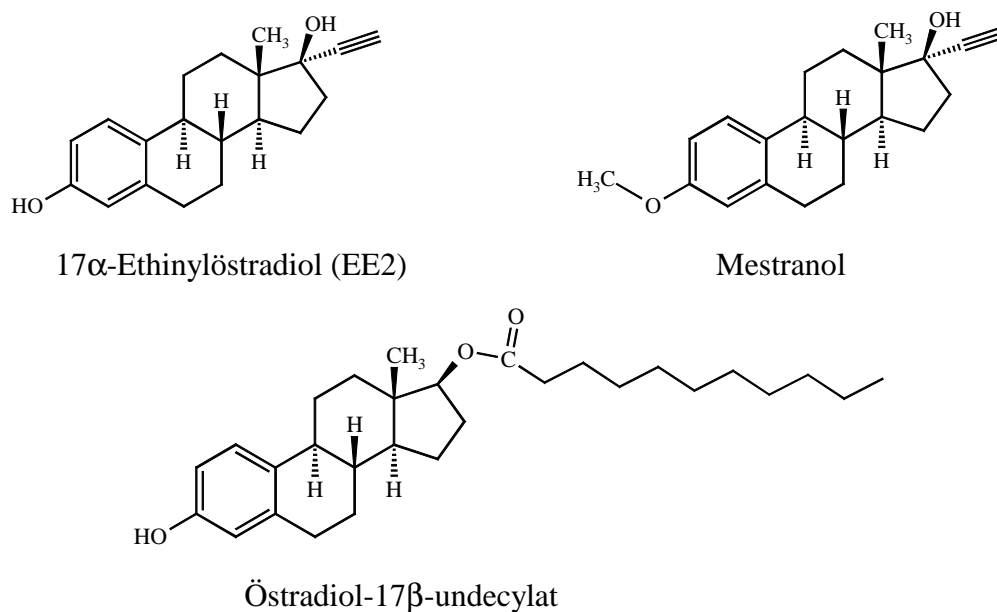


Abb. 3-2: 17 α -Ethinylöstradiol (EE2), Mestranol und Östradiol-17 β -undecylat

In Deutschland werden gegenwärtig etwa 60 kg Ethinylöstradiol pro Jahr von 40 % aller gebärfähigen Frauen eingenommen, wobei die tägliche Anwendungsdosis in "Anti-Baby-Pillen" bei 10 - 50 µg liegt. Zu bedenken ist jedoch, daß hormonelle Kontrazeptiva lediglich ein Viertel aller östrogenhaltigen Medikamente ausmachen. Drei Viertel aller synthetischen Östrogene, in erster Linie längerkettige Alkylester des 17β-Östradiol (Abb. 3-2), finden in der sonstigen Therapie Anwendung.

3.1.3 Alkylphenole

Alkylphenole und insbesondere deren Derivate werden weltweit im Maßstab von etwa 500.000 t/a (Europa 100.000 t/a) vorwiegend zur Herstellung von Detergentien der Gruppe der Alkylphenolpolyethoxylate (APnEO) produziert. Hierunter steht 4-Nonylphenol (4-NP) in Deutschland bei einer Produktionskapazität von ca. 35.000 t/a mit einem Anteil von 70 % an der Spitze (Abb. 3-3). Im technischen Produkt sind eine Vielzahl isomerer, verzweigter Nonylphenole enthalten, was ihre Analytik in der Umwelt deutlich erschwert.

Weltweit haben die Nonylphenolpolyethoxylate (NPnEO) (Abb. 3-3) an allen APnEO einen Anteil von 82 % (Nimrod et al., 1996). NPnEO wurden seit den 40er bis Ende der 80er Jahre Haushaltsreinigern und Waschmitteln als nichtionische Tenside zugesetzt. Außerdem finden sie in vielen Industriebereichen als Antioxidanzien, Netzmittel, Emulgatoren für Pestizide, Hilfsmittel in der Leder- und Papierverarbeitung, Bohr-, Verlauf- und Färbehilfsmittel sowie zur Vorbehandlung von Wolle Anwendung. Bis zum Jahr 2000 sollen auf freiwilliger Basis auch im Bereich der Industrie in Europa alle NPnEO ersetzt werden.

NPnEO selbst sind nicht besonders toxisch und zeigen keine hormonelle Aktivität. Die Polyethoxylatketten werden jedoch beim aeroben, mikrobiellen Abbau in Kläranlagen abgespalten und zunächst Nonylphenolmonoethoxylate (NP1EO) und Nonylphenoldiethoxylate (NP2EO) gebildet. Diese Abbauprodukte sind wesentlich stabiler als die ursprünglichen NPnEO und zeigen eine hohe Tendenz zur Akkumulation an Schwebstoffen oder im Sediment von Flüssen. Ein Teil der NP1EO und NP2EO wird zu Nonylphenoxyessigsäure (NP1EC) bzw. zu Nonylphenoxyethoxyessigsäure (NP2EC) oxidiert. Unter anaeroben Bedingungen im Klärschlamm oder im Sediment erfolgt der biologische Abbau der nicht oxidierten Ethoxygruppen unter Freisetzung von 4-NP.

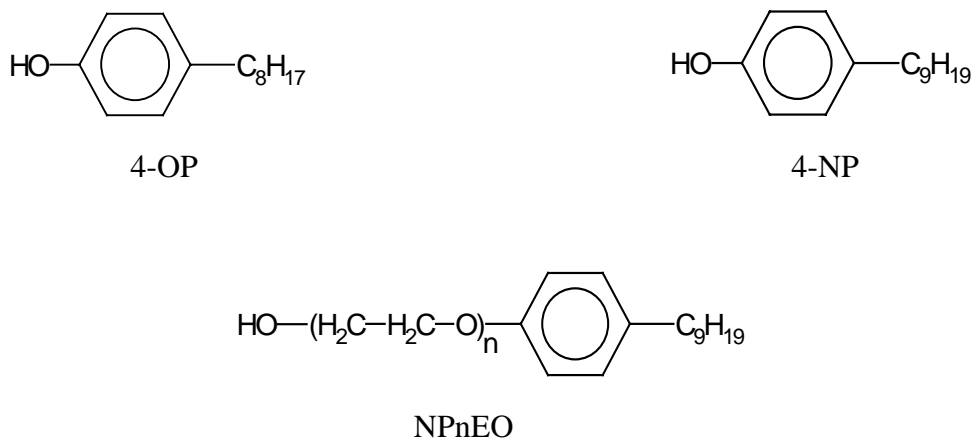


Abb. 3-3: 4-Oktylphenol (4-OP), 4-Nonylphenol (4-NP) und Nonylphenolpolyethoxylat (NPnEO)

Neben seiner aquatischen Toxizität kommt 4-NP eine besondere Bedeutung zu. Soto et al. entdeckten 1991 eher zufällig dessen östrogene Wirkung, als sie bei Versuchen mit menschlichen Brustkrebszelllinien (MCF-7) feststellten, daß die Proliferation durch das aus den verwendeten Polystyrolreagenzgläsern austretende 4-NP stimuliert wurde. In weiteren Experimenten der Arbeitsgruppe von 1992 bis 1995 an MCF-7-Zellen zeigten auch 4-sec-Butylphenol, 4-tert-Butylphenol, 4-tert-Pentylphenol und 4-iso-Pentylphenol östrogene Wirkung. Alkylphenole mit kleineren Seitenketten als vier C-Atome waren inaktiv, ebenso wie alle in Position 2 und 3 substituierten Phenole.

Im Uterusgewichts-Test (Lee et al., 1996) bei Ratten führten 20 mg/kg 4-NP zu einer signifikanten Gewichtszunahme. Die Einstufung seiner östrogenen Potenz gegenüber 17 β -Östradiol als Referenzverbindung liegt bei 10⁻⁶.

Neben den NPnEO sind auch die Abbauprodukte der Oktylphenolpolyethoxylate (OPnEO), in erster Linie das 4-Oktylphenol (4-OP), von Interesse (Abb. 3-3). Die postnatale Verabreichung von 1 mg/L 4-OP oder OPnEO im Trinkwasser männlicher Ratten soll zu einer signifikanten Abnahme des Hodengewichts und der Spermienproduktion führen (Sharpe et al., 1995).

Mit dem E-screen wurden ebenfalls die Abbauprodukte der NPnEO, NP1EC und NP2EO, untersucht (White et al., 1994) (Abb. 3-4). Dabei stellten die Forscher eine abnehmende östrogene Potenz in der Reihenfolge 4-OP, NP1EC, 4-NP und NP2EO fest. Alkylphenoethoxylate mit mehr als drei Ethoxylatgruppen erwiesen sich als

inaktiv. Sie werden jedoch im Sediment meist in die aktiven Derivate NP1EO und NP2EO umgewandelt.

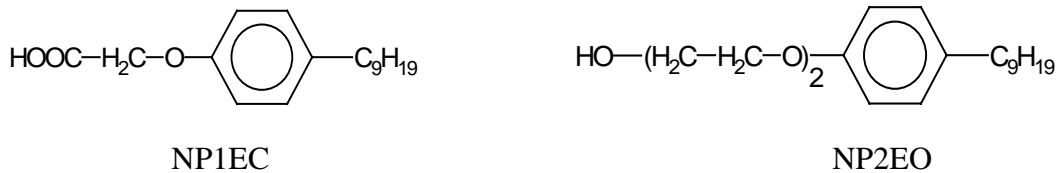


Abb. 3-4: Nonylphenoxyessigsäure (NP1EC) und Nonylphenoldiethoxylate (NP2EO)

In vivo wurden die Auswirkungen einiger Alkylphenole auf männliche Regenbogenforellen untersucht. Eine dreiwöchige Exposition mit einer Konzentration von je 30 µg/L an 4-OP, 4-NP, NP1EC und NP2EO führte zu einer deutlichen Steigerung der Vitellogeninsynthese (Harries et al., 1995). 4-OP erwies sich dabei um den Faktor vier potenter als 4-NP.

Nach 72-stündiger Exposition juveniler Regenbogenforellen mit 4-NP bewirkte bereits die kleinste untersuchte Konzentration von 10 µg/L eine signifikante Zunahme der Vitellogenin-m-RNA in der Leber (Ren et al., 1996). Fent et al. (1999) haben in einem Langzeitversuch junge Regenbogenforellen 4-NP-Konzentrationen von 1 und 10 ng/L ausgesetzt. Die Exposition begann bereits mit dem Eistadium und wurde ein Jahr lang fortgesetzt. Dabei konnte selbst bei der niedrigen NP-Konzentration ein Anstieg der Vitellogenin-m-RNA festgestellt werden, während die Proteinsynthese erst bei 10 ng/L signifikant zunahm.

Neben den linearen Alkylphenolen und ihren Ethoxylaten wurden insbesondere verzweigte Alkylphenole auf die Stimulation der Vitellogeninsynthese in Forellenleberzellen untersucht (Jobling et al., 1993). Dabei waren 4-tert-Butylphenol und 4-tert-Oktylphenol wie die oben genannten Alkylphenole um den Faktor 10^4 bis 10^7 weniger östrogen aktiv als die Referenzverbindung 17β-Östradiol.

3.1.4 Phthalsäureester

Diester der Phthalsäure gehören ebenfalls zu jenen Industriechemikalien, die in größten Mengen hergestellt und verbreitet werden. Allein in Deutschland werden jährlich etwa 400.000 t produziert. Seit den 20er Jahren haben sie eine marktbeherrschende Bedeutung als Weichmacher in PVC (90 %), Polyvinylacetat oder Polyurethanen, in denen sie mit einem Massenanteil von bis zu 40 % enthalten sind. Ihr Einsatzbereich erstreckt sich weiterhin als Löse- und Dispersionsmittel für Lacke und Farben sowie als Bestandteil in Kosmetika, Schmiermittel und Papierverpackungen für flüssige und fettige Nahrungsmittel. Mengenmäßig stehen Diisononylphthalat, Di-(2-ethylhexyl)phthalat (DEHP) (Abb. 3-5) und Diisodecylphthalat im Vordergrund. Daneben werden auch Di-n-butylphthalat (DBP) und Benzylbutylphthalat (BBP) (Abb. 3-5) im Maßstab von 20.000 t/a bzw. 10.000 t/a in Deutschland synthetisiert.

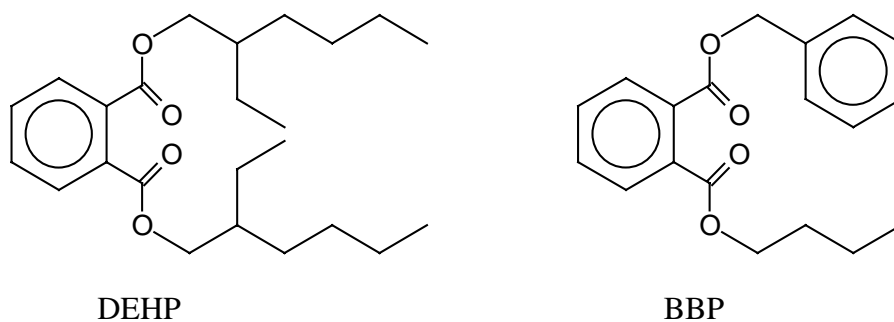


Abb. 3-5: Di-(2-ethylhexyl)phthalat (DEHP) und Benzylbutylphthalat (BBP)

Über die östrogene Aktivität der Phthalate herrscht in der Fachwelt noch Unklarheit. Für DEHP, BBP und DBP konnte *in vitro* jedoch gezeigt werden, daß die Bindung von Östradiol an den Östrogenrezeptor der Forellenleber gehemmt wird (Jobling et al., 1995). BBP vermag des weiteren die Proliferation von MCF-7-Zellen zu stimulieren, allerdings nur bei hohen Konzentrationen mit einer um den Faktor 10^{-6} verringerten relativen Potenz verglichen mit Östradiol (Soto et al., 1995). DBP und DEHP zeigten bei diesen Tests keine östrogene Aktivität.

Eine eindeutige Bestätigung der vermuteten Aktivität dieser Phthalate *in vivo* steht bislang noch aus. BBP führte zu einer geringen Verminderung des Hodengewichts bei Nachkommen von Ratten, die während der Tragzeit mit 1000 µg/L im Trinkwasser belastet wurden (Sharpe et al., 1995). In zwei weiteren Studien konnten diese Ergebnisse jedoch nicht bestätigt werden. Außerdem erfolgt eine rasche Hydrolyse wenigstens einer Estergruppe *in vivo*, wodurch die Relevanz der gefundenen Östrogenität in Frage gestellt wird.

In neuesten *in vivo*-Studien wurden DBP und DEHP in hohen Dosen trächtigen Ratten verabreicht. Bei den männlichen Nachkommen traten eine verzögerte sexuelle Reifung und zusätzlich bei DBP Mißbildungen des Reproduktionstrakts auf (Moore, 1999).

3.1.5 Biphenyle

3.1.5.1 Polychlorierte Biphenyle (PCBs)

PCBs wurden zwischen 1929 und 1983 weltweit im Maßstab von geschätzten 1.500.000 t durch Chlorierung von Biphenyl hergestellt. Dabei entstanden stets Gemische der möglichen 209 Kongenere, die unter den Handelsnamen Aroclor (Monsanto Chemical Company, USA), Clophen (Bayer, BRD) oder Phenoclor (Prodelec, F) vertrieben wurden (Abb. 3-6). Der Chlorierungsgrad der auf dem Markt befindlichen Formulierungen betrug zwischen 12 und 68 Gewichtsprozent. Diese technischen Gemische sind chemisch und thermisch sehr stabile, unbrennbare Flüssigkeiten, deren Viskosität vom Chlorierungsgrad abhängt. Aufgrund ihrer Eigenschaften kamen sie vor allem in Kondensatoren oder Transformatoren als Dielektrika zum Einsatz, wo ihre außerordentliche Stabilität und Flammfestigkeit große Vorteile darstellten. Darüber hinaus dienten PCBs als Schmiermittel, Hydraulikflüssigkeiten, Weichmacher in Kunstharzen sowie als Farb-, Lack- und Papierzusätze (Ballschmiter, 1997).

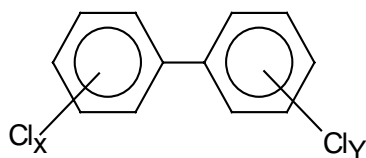


Abb. 3-6: Polychlorierte Biphenyle (PCBs)

Die östrogene und antiöstrogene Wirkweise der PCBs wurde in den letzten Jahren eingehend *in vivo* und *in vitro* untersucht. Die technischen Aroclor-Formulierungen 1221, 1232, 1242 und 1248 führten bei juvenilen Ratten zu einer Gewichtszunahme des Uterus (Bitman et al., 1970). Aroclor 1221 führte bei neonatalen Ratten bei einer Dosis von 1 mg/kg täglich zu frühzeitiger Geschlechtsreife und zur Ausbildung eines Vaginalöstrus (Gellert et al., 1978). Formulierungen mit einem höheren Chloranteil zeigten diese Wirkungen nicht.

Anhand von Struktur-Wirkungs-Untersuchungen lassen sich die PCBs hinsichtlich ihrer hormonellen Wirkung in zwei Gruppen einteilen. Man unterscheidet die koplanaren, dioxinähnlichen PCBs, die in keiner ortho-Position substituiert sind, von

den übrigen Kongeneren. Es stellte sich heraus, daß chlorierte mono-, di-, tri-, tetra-, penta- und hexa-PCBs *in vivo* mehr oder weniger starke Östrogene darstellen, während die koplanaren PCBs eher antiöstrogene Wirkung entfalten. Die östrogene Potenz der PCBs wird nach bisherigen Untersuchungen um 4 - 6 Größenordnungen geringer als jene von Diethylstilböstrol eingestuft.

In vivo-Tests mit Reptilieneiern, bei denen die Geschlechtsdifferenzierung von der Nesttemperatur während der Brutphase abhängt, werden ebenfalls zur Identifizierung von Xenöstrogenen herangezogen (vgl. Kap. 3.1.1.6). Bergeron et al. exponierten 1994 Eier der Schildkrötenart *Trachemys scripta* mit verschiedenen, teilweise hydroxylierten PCB. Während normalerweise bei niedrigen Inkubationstemperaturen fast ausschließlich Männchen schlüpfen, entwickelten sich bei diesen Temperaturen nach Exposition der Eierschalen mit 4-OH-2',4',6'-Trichlorbiphenyl oder 4-OH-2',3',4',5'-Tetrachlorbiphenyl eine deutliche Anzahl Weibchen. Dabei ergaben sich Hinweise auf eine synergistische Wirkweise, denn Kombinationen von je 10 µg der Einzelsubstanzen hatten deutlich stärkere Effekte als 100 µg jeder Einzelsubstanz.

Mit Hilfe des E-screen konnten Soto et al. (1992, 1995) die proliferationssteigernde Wirkung von 12 PCB-Kongeneren, darunter 7 hydroxylierte Verbindungen, nachweisen. Im YES-Test mit gentechnisch veränderten Hefezellen (vgl. Kap. 3.1.2.3) wurden für die hydroxylierten PCB 4-OH-2',4',6'-Trichlorbiphenyl oder 4-OH-2',3',4',5'-Tetrachlorbiphenyl eine um den Faktor 100 höhere östrogene Potenz als mit dem E-screen ermittelt (Arnold et al., 1996). In Rezeptorbindungsexperimenten hat sich 4-OH-2',4',6'-Trichlorbiphenyl als aktivste Verbindung herausgestellt und band nur um den Faktor 42 schwächer als 17β-Östradiol (Korach et al., 1988).

3.1.5.2 Hydroxybiphenyle (Phenylphenole)

Zu den unhalogenierten, hydroxylierten Phenylphenolen werden die Monohydroxybiphenyle ortho-Phenylphenol (OPP), meta-Phenylphenol (MPP) und para-Phenylphenol (PPP) (Abb. 3-7) sowie die Dihydroxybiphenyle gezählt. PPP ist hauptsächlich als Additiv in Gummiprodukten enthalten. Daneben dient es als Antioxidanz für Fette und Öle, als Holzschutzmittel, als Saatbeizmittel, in der Herstellung von Azofarbstoffen und in der Textilfärbung als Carrier. OPP kommt als Desinfektionsmittel und als Konservierungsstoff (Fungizid) für Zitrusfrüchte zum Einsatz.

2,2'-Dihydroxybiphenyl wird zur Herstellung von Weichmachern, Pestiziden und Desinfektionsmitteln verwendet. 4,4'-Dihydroxybiphenyl dient in der chemischen Industrie als Zwischenprodukt für chemische Synthesen. In Lebensmittel-

bedarfsgegenständen darf es bei einem Migrationswert von 6 mg/kg Lebensmittel laut EG-Kunststoffrichtlinie 90/128/EWG enthalten sein. Für PPP ist hierin kein Migrationswert festgelegt.

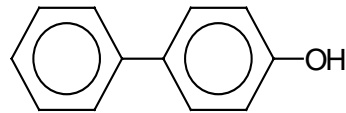
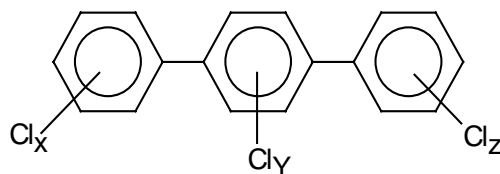


Abb. 3-7: 4-Hydroxybiphenyl (PPP)

In der Umwelt entstehen diese Mono- und Dihydroxybiphenyle beim Abbau von Biphenyl, welches in Verbindung mit OPP oft als Fungizid eingesetzt wird. Beide Dihydroxybiphenyle führten bei Ratten zu einer Erhöhung des Glykogengehaltes im Uterus (Bitman et al., 1970). 4,4'-Dihydroxybiphenyl verhornte außerdem bei ovariectomierten erwachsenen Ratten das Vaginalepithel (Dodds et al., 1936/38). Die Östrogenität von PPP und OPP wurde anhand von Bindungsexperimenten an Rezeptoren untersucht. Dabei banden diese nichtchlorierten Phenylphenole verglichen mit ihren halogenierten Kongeneren am schwächsten. Die Bindungsaffinität von PPP lag um fünf Größenordnungen unter der von Diethylstilböstrol (Korach et al., 1988).

3.1.6 Polychlorierte Terphenyle (PCTs)



Polychlorierte Terphenyle (PCTs)

PCTs kamen z. B. unter dem Handelsnamen Arochlor 5442 mit einem Chlorgehalt von 42 Gewichtsprozent in Umlauf. Sie wurden als Hydrauliköle und Schmiermittel verwendet. Ein weltweites Produktions- und Anwendungsverbot wurde parallel zu den PCBs ausgesprochen. Im Bezug auf ihre physikochemischen Daten und ihr Umweltverhalten sind große Parallelen zu den PCBs festzustellen. Bei jungen Ratten führte die einmalige Gabe von Arochlor 5442 zu einem Anstieg des Glykogengehaltes im Uterus (Bitman et al., 1970).

3.1.7 1,1-Diphenylethane

3.1.7.1 DDT und Derivate

Das unter dem Handelsnamen DDT (Dichlordiphenyltrichlorethan) eingesetzte Insektizid enthält hauptsächlich die DDT-Isomere p,p'-DDT (bis 70 %) und o,p'-DDT (bis 20 %), daneben auch deren Metaboliten p,p'-DDD, o,p'-DDD (Dichlordiphenyldichlorethan), p,p'-DDE und o,p'-DDE (Dichlordiphenyldichlorethylen) (Abb. 3-8). DDT war Anfang der 40er Jahre das erste synthetisch hergestellte Organochlorinsektizid, welches sehr erfolgreich zur Bekämpfung der Überträgerinsekten der Malaria (Anophelesmücke), des Gelbfiebers, der Schlafkrankheit und des Fleckfiebers eingesetzt wurde. Für die Erfindung dieses bahnbrechenden Insektizids wurde Müller 1948 mit dem Nobelpreis für Chemie ausgezeichnet.

Auch heute noch wird DDT in einigen Ländern der dritten Welt produziert (z. B. Indien) und gegen die Malaria verbreitende Anophelesmücke versprüht. In der BRD und den meisten anderen Ländern ist die Produktion und der Einsatz von DDT seit Anfang der 70er Jahre wegen der hohen Persistenz und des Schadenspotentials verboten. Weltweit wird der Eintrag an DDT durch den Menschen bis zum heutigen Tag auf etwa 2.000.000 t geschätzt.

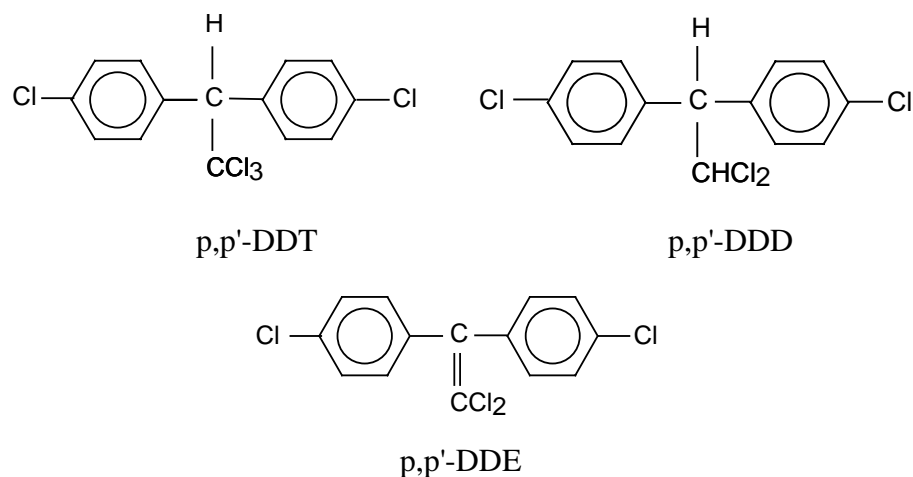


Abb. 3-8: p,p'-DDT, p,p'-DDD und p,p'-DDE

Bereits seit Ende der 60er Jahre ist die östrogene Wirkung von DDT bekannt. In weiteren Untersuchungen wurden die wachstumsfördernden Eigenschaften einiger DDT-Metaboliten auf den Uterus von Ratten und das Ovidukt von jungen Hühnern und Wachteln belegt (Review s. Kupfer et al., 1975).

o,p'-DDT, welches nach der Geburt Mäusen subkutan injiziert wurde, verursachte irreversible Schäden, weil die in der neonatalen Phase stattfindende neuroendokrine Differenzierung durch das Pseudoöstrogen empfindlich gestört wurde. Es kam bei Weibchen zu einem beschleunigten Eintreten der Geschlechtsreife und nach einer Periode normaler Brunstzyklen zu völliger Sterilität (Gellert et al., 1974).

Nach Injektion von o,p'-DDT und p,p'-DDE in Mäuseeier kam es zu einer Entwicklung von Eierstockgewebe und Ovarien bei männlichen sowie zu einer gestörten Ausbildung des Reproduktionstrakts bei weiblichen Embryonen (Fry et al., 1981). p,p'-DDT war hierbei inaktiv.

o,p'-DDT bindet mit einer relativ geringen Potenz von 10^{-6} im Vergleich zu Östradiol an den Östrogenrezeptor und hemmt damit kompetitiv dessen Bindung. Dieser Faktor wurde auch im E-screen an MCF-7-Zellen ermittelt (Soto et al., 1995).

Bulger et al. fanden 1978 eine Steigerung der Ornithindecaboxylaseaktivität im Uterus juveniler Ratten nach Injektion von je 100 mg/kg Metabolit. Die östrogenen Effekte nahmen in der Reihenfolge o,p'-DDT, o,p'-DDD, p,p'-DDT, p,p'-DDD und p,p'-DDE ab. Diese Reihenfolge wurde auch in den meisten weiteren Untersuchungen bestätigt.

3.1.7.2 Methoxychlor und Derivate

Das unter dem Handelsnamen Methoxychlor synthetisierte Insektizid 1,1,1-Trichlor-2,2-bis(4-methoxyphenyl)ethan (Abb. 3-9) wird wegen seiner geringeren Persistenz und Toxizität für Warmblüter seit 1944 als Ersatz für DDT eingesetzt. Auch heute noch sind eine Reihe von Pflanzenschutzmittel mit Methoxychlor als Wirkstoff zugelassen.

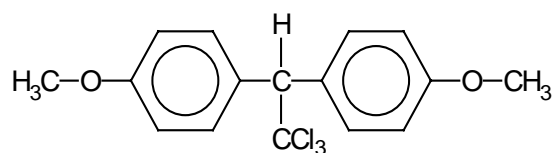


Abb. 3-9: p,p'-Methoxychlor

Neben dem p,p'-Methoxychlor (ca. 90 %) sind im technischen Gemisch mehr als 50 weitere Verbindungen und Metaboliten enthalten. Die Östrogenität von Methoxychlor wurde noch vor jener von DDT enthüllt (Tullner et al., 1961). Dabei entpuppte sich reines p,p'-Methoxychlor *in vivo* als weit weniger aktiv als das

technische Gemisch. Wie sich herausstellte, sind einige hydroxylierte Metaboliten des p,p'-Methoxychlor, die im technischen Gemisch enthalten sind oder beim Metabolismus im Körper durch Abspaltung der Methylgruppe entstehen, im wesentlichen für die östrogenen Wirkungen verantwortlich. Mono- und Bis-OH-Methoxychlor zeigten eine hohe relative Bindungsaffinität am Östrogenrezeptor von 0,0033 bzw. 0,01 im Vergleich mit Diethylstilböstrol, die damit um den Faktor 10 höher als für o,p'-DDT liegt (Ousterhout et al., 1981).

Durch HCl-Abspaltung entstehen im Körper Derivate des MDDE (1,1-Dichlor-2,2-bis-(4-methoxyphenyl)ethylen) analog zu DDE beim Stoffwechsel des DDT. Mono-OH-MDDE und Bis-OH-MDDE sind ebenfalls *in vitro* als östrogen aktiv identifiziert worden. In Tests mit Östrogenrezeptoren ergab sich folgende Reihe mit abnehmender Östrogenität: Bis-OH-MDDE, Bis-OH-Methoxychlor, Mono-OH-MDDE, Mono-OH-Methoxychlor (Kupfer et al., 1987).

Bei Verabreichung von Methoxychlor mit dem Futter kam es bei juvenilen Ratten ab 80 mg/kg zu Reproduktionsstörungen, zur Beschleunigung der Geschlechtsreife und zu gestörten Brunstzyklen nach der Pubertät (Gray et al., 1989). Analog zu DDT resultierte eine Feminisierung der männlichen Embryonen, als Methoxychlor in Mäuseeier injiziert wurde (Fry et al., 1981).

Neueste Untersuchungen belegen, daß Methoxychlor als bisher einzige Industriechemikalie mit gleicher Potenz als Agonist am Östrogenrezeptor und als Antagonist am Androgenrezeptor wirkt. Verantwortlich hierfür ist im wesentlichen der bereits oben erwähnte, ortho-demethylierte Metabolit HPTE (1,1,1-Trichlor-2,2-bis(4-hydroxyphenyl)ethan). Die östrogene Potenz von HPTE ist in verschiedenen *in vitro*-Tests um zwei Größenordnungen höher als die von reinem Methoxychlor bestimmt worden. Als Antiandrogen zeigte HPTE analog zum p,p'-DDE aber im Gegensatz zu p,p'-Methoxychlor kompetitiven Antagonismus am Androgenrezeptor. Daher besitzt das Insektizid Methoxychlor einen dualen Wirkmechanismus, um auf das endokrine System Einfluß zu nehmen. Dies gilt insbesondere für das männliche Reproduktionssystem, welches empfindlich über beide Rezeptorwege angesprochen werden kann (Kelce et al., 1999).

3.1.7.3 Bis-(hydroxyphenyl)-methane und Derivate

Bisphenole stellen die strukturelle Grundlage der Polycarbonate und Epoxyharze dar. Ihr Anwendungsbereich ist daher sehr breit gefächert und reicht von Lacken über Brems- und Kupplungsbeläge bis hin zum Korrosionsschutz für Schiffe und Stahlbauten. Außerdem werden sie vielen anderen Kunststoffen und Flüssigkeiten

wie Vinyl- und Acrylharzen sowie Gummi als Antioxidanzien zugesetzt. Bisphenol A (BPA) gehört weltweit zu den meist produzierten Chemikalien (Abb. 3-10). Allein in der BRD werden jährlich über 200.000 t synthetisiert.

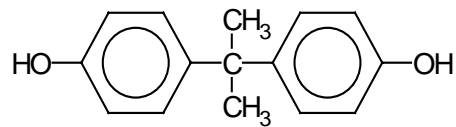


Abb. 3-10: Bisphenol A (BPA)

Populär in der breiten Öffentlichkeit wurde BPA durch Pressemitteilungen über seine Migration aus Kronkorken von Bierflaschen oder Auskleidungen von Konservendosen (Brotons et al., 1995). In der EG-Kunststoffrichtlinie 90/128/EWG ist für BPA ein Migrationswert von 3 mg/kg Lebensmittel zulässig.

Die Kenntnis des östrogenen Potentials der Bisphenole ist schon über 50 Jahre alt (Reid et al., 1944). Eingehendere Untersuchungen der letzten Zeit mit BPA zeigten seine proliferationsfördernde Wirkung auf MCF-Zellen (Brontos et al., 1995), die Bindung an den Östrogenrezeptor (Krishnan et al., 1993) und die Förderung der Vitellogeninsynthese in Fischeleberzellen (Harries et al., 1995). Die relative östrogene Potenz lag in all diesen Tests um drei bis fünf Größenordnungen unter der von Diethylstilböstrol.

Neben den Bisphenolen zählen auch einige hydroxylierte und methoxylierte Benzophenone zu den Bis-(hydroxyphenyl)-methanen. Diese Industriechemikalien haben ein hohes Absorptionsvermögen für ultraviolettes Licht und werden daher als Lichtschutzfaktoren in Farben, Lacken, Kunststoffen, Gläsern sowie in Körperpflegeprodukten wie Sonnenschutzlotionen und Salben zugesetzt.

Bitman et al. haben 1970 im Laufe ihrer Untersuchungen an Ratten mehrere Verbindungen dieser Gruppe auf ihre östrogene Wirkung untersucht. Dabei führten besonders jene Derivate zu einer Steigerung des Glykogengehaltes im Uterus, die eine bis zwei Hydroxy- bzw. Methoxygruppen in para-Position tragen. Hierzu zählen die in Kunststoffen und Farben enthaltenen 2,4'-Dihydroxybenzophenon und 2,2'-Dihydroxy-4,4'-dimethoxybenzophenon sowie 4,4'-Dihydroxybenzophenon (Abb. 3-11), welches als Ausgangsstoff bei der Herstellung von Lebensmittelbehältnissen nach der EG-Richtlinie 90/128/EWG mit einem spezifischen Migrationswert von 6 mg/kg in Lebensmitteln zugelassen ist.

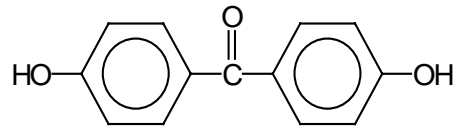


Abb. 3-11: 4,4'-Dihydroxybenzophenon

3.1.8 1,2-Diphenylethane und 1,2-Diphenylethene

In den 30er Jahren synthetisierten Wissenschaftler auf der Suche nach therapeutisch applizierbaren Östrogenen zahlreiche Derivate des 1,2-Diphenylethan und des 1,2-Diphenylethen (Stilben). Vor allem Hexestrol (3,4-Bis-(4-hydroxyphenyl)-hexan) und Diethylstilböstrol (DES, α,α -Diethyl-4,4'-dihydroxystilben) (Abb. 3-12) erwiesen sich als sehr potente Östrogene, die in der Wirkstärke das endogene 17β -Östradiol erreichen (Dodds et al., 1936/38/39).

Durch systematische Variation dieser Verbindungen konnten weit über 100 synthetische Östrogene gewonnen werden. Pharmazeutisch kam jedoch nur DES in größeren Mengen in den 60er Jahren bei schwangeren Frauen zur Vermeidung von drohenden Schwangerschaftsabbrüchen zum Einsatz. Bei den Söhnen und Töchtern dieser Patientinnen kam es nach der Pubertät zu einer Häufung von Mißbildungen der Genitalien und seltenen Krebsarten. Außerdem wurde DES in den USA als Wachstumshormon in der Tiermast eingesetzt. Der illegale Mißbrauch zu diesen Zwecken wird aber auch noch heute vermutet.

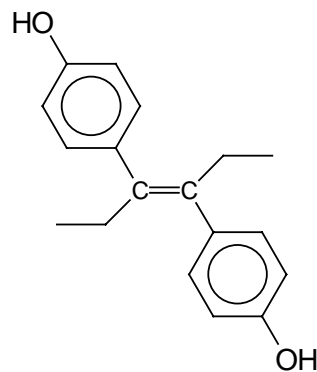


Abb. 3-12: Diethylstilböstrol (DES)

3.1.9 1,3-Diphenylpropane

Von den gleichen Arbeitsgruppen wurden auch einige Derivate des 1,3-Diphenylpropan (Abb. 3-13) synthetisiert, von denen einige ebenfalls deutliche, wenn auch geringere östrogene Potenz als DES aufweisen (Dodds et al., 1938).

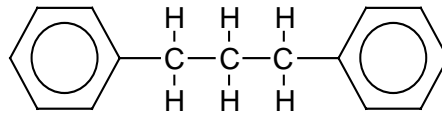


Abb. 3-13: 1,3-Diphenylpropan

3.1.10 Triphenylmethane

Derivate vom Triphenylmethan-Typ (Abb. 3-14) finden vor allem als Farbstoffe oder pH-Indikatoren Anwendung. Ihre östrogene Potenz lag im Allen-Doisy-Test stets etwa vier bis fünf Zehnerpotenzen unter jener von DES (Dodds et al., 1938). Neuere Untersuchungen von Phenolphthalol (2-[Bis(4-Hydroxyphenyl)-methyl]-benzylalkohol) und Phenolphthalein (2-[Bis-(4-hydroxyphenyl)-methyl]-benzoesäure) anhand des Glykogengehalts im Uterus bestätigen diese Einschätzungen (Bitman et al., 1970).

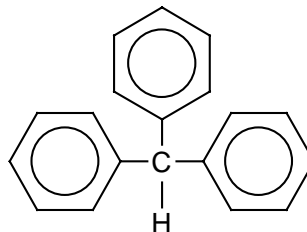


Abb. 3-14: Triphenylmethan

Als bisher potentestes Östrogen dieser Verbindungsklasse konnte Bis-(4-hydroxyphenyl)[2-(phenoxy-sulfonyl)phenyl]methan identifiziert werden, welches nur um den Faktor 1000 schwächer agiert als 17 β -Östradiol (Bindal et al., 1988). Die Verbindung ist zu nur 0,002 % als Verunreinigung im häufig eingesetzten pH-Indikator Phenolrot enthalten, der gerne Zellkulturmedien zugegeben wird.

Trichlor-Triphenylmethane entstehen bei der Synthese des p,p'-DDT und gelangen mit dessen Anwendung in die Umwelt. Sie lassen sich weltweit in Fischen nachweisen.

3.1.11 Triphenylethene

Neben dem Triphenylethylen (Abb. 3-15) selbst wurden wiederum seit den 30er Jahren diverse Alkyl-, Alkoxy-, Hydroxy- und Halogenderivate auf ihre östrogene Wirkung hin untersucht. Dabei wiesen einige deutliche Potenz auf, wurden aber nie bis zum therapeutischen Einsatz weiterentwickelt (Jordan et al., 1985).

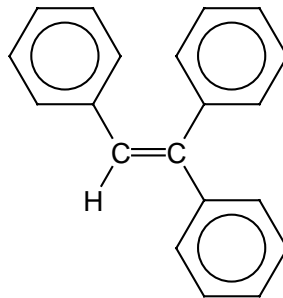


Abb. 3-15: Triphenylethen

Das als Antiöstrogen therapeutisch eingesetzte Tamoxifen leitet sich ebenfalls von der Grundstruktur des Triphenylethens ab (vgl. Kap. 3.2).

3.1.12 Diphenylether

Von allen getesteten Derivaten des Diphenylether erwiesen sich bislang nur 4-Hydroxydiphenylether und 4,4'-Dihydroxydiphenylether (Abb. 3-16) als östrogen aktiv (Dodds et al., 1938).

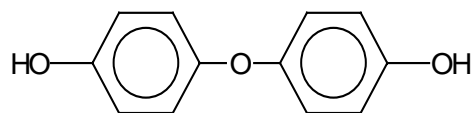


Abb. 3-16: 4,4'-Dihydroxydiphenylether

3.1.13 Polyzyklische aromatische Kohlenwasserstoffe (PAK)

Auf der Suche nach östrogen wirksamen Verbindungen wurden aufgrund der strukturellen Verwandtschaft zu den Steroiden auch eine Vielzahl polyzyklischer aromatischer Kohlenwasserstoffe (PAK) untersucht. Als aktivste Verbindungen konnten hydroxylierte Abkömmlinge von Chrysen (Abb. 3-17) und Dibenzanthracen identifiziert werden.

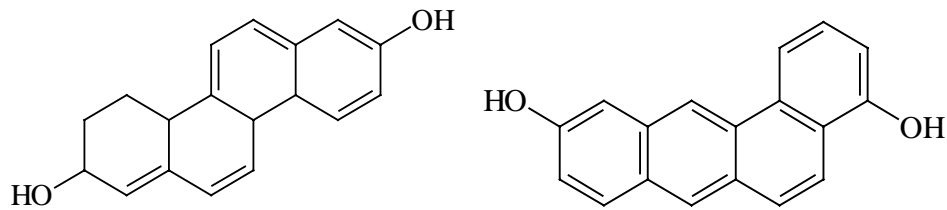


Abb. 3-17: 2,8-Dihydroxy-5,6,11,12,13,14-hexahydrochrysen und 3,9-Dihydroxybenz(a)anthracen

Diese Derivate zeigten östrogene Wirkung im Allen-Doisy-Test, die nur um zwei bis vier Größenordnungen unter der von DES lag (Cook et al., 1934). Der Metabolit 3,9-Dihydroxybenz(a)anthracen (Abb. 3-17) von Benz(a)anthracen bindet verglichen mit Östradiol mit einer nur um den Faktor 10^{-2} verringerten Affinität an den Östrogenrezeptor (Schneider et al., 1976). Ein Derivat des Phenanthren, die Dehydrodoisynolsäure, zeigte im E-screen eine hohe relative Potenz von 10^{-2} verglichen mit Östradiol (Soto et al., 1992).

3.1.14 Naphthole

Auch die Naphthole weisen eine strukturelle Analogie zu den steroidalen Östrogenen auf. 1- und 2-Naphthol werden als Derivate (v. a. Sulfonsäuren und Amine) in der Farbstoffproduktion eingesetzt. 1-Naphthol (Abb. 3-18) ist darüber hinaus ein Zwischenprodukt für Parfüms, Antioxidanzien, Pflanzenschutzmittel und Antiseptika oder dient als Lösemittel für Fette, Wachse, Seifen und Öle. 2-Naphthol ist Ausgangsverbindung zur Synthese von Naphthylamin und Zwischenprodukt bei der Herstellung von Farb-, Gerb- und Riechstoffen. Außerdem wurde es als Antiseptikum in Salben verwendet.

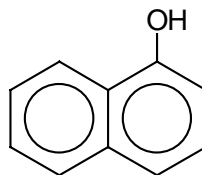


Abb. 3-18: 1-Naphthol

Die östrogene Wirkung von 1- und 2-Naphthol, 5,6,7,8-Tetrahydro-2-naphthol und 6-Brom-2-naphthol konnte anhand der Bindungshemmung von 17β -Östradiol an Rezeptoren von Uteruszellen aus Kaninchen gezeigt werden (Mueller et al., 1978).

2-Hydroxy-6-naphthylpropionsäure erwies sich mit weiteren analogen Derivaten als potentes Östrogen im Uterusgewichtstest (Meyers et al., 1988).

3.1.15 Phenylsiloxane

Organosiloxane können in linearer oder zyklischer Form auftreten. Dabei zeigen vor allem phenylsubstituierte Di-, Tri- und Tetrasiloxane (Abb. 3-19) deutliche Wirkungen auf das Uterusgewicht behandelter juveniler Ratten (Hayden et al., 1972).

Durch Polymerisation dieser Organosiloxane entstehen die sogenannten Silikone, welche je nach physikalisch-chemischen Eigenschaften in Öle, Harze und Kautschuke eingeteilt werden. Den Löwenanteil unter den Silikonen machen die linearen Polydimethylsiloxane aus. Mit steigendem Phenylanteil steigt die Elastizität und Wärmebeständigkeit. Aufgrund unvollständiger Polymerisationsreaktionen kann ein Restbestandteil an Monomer im Silikon zurückbleiben. Silikone mit weniger als 2 % Monomeranteil sind für Verwendungen in Europa zugelassen, bei denen indirekter Kontakt mit Lebensmitteln auftritt.

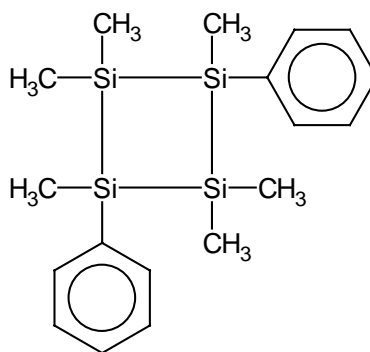


Abb. 3-19: Diphenylhexamethylcyclotetrasiloxan

3.1.16 Chlorierte Cyclodiene und Camphene

Bei diesen Stoffen handelt es sich um polyzyklische, chlorierte Kohlenwasserstoffe, deren Anwendung aufgrund ihrer Giftigkeit und der potentiellen Karzinogenität in den meisten westlichen Ländern und den USA verboten worden ist. In den 70er Jahren kamen sie vor allem als Rasen- und Gartenpestizide sowie zur Bekämpfung von Insekten auf Gemüse, Früchten und Getreide zur Anwendung.

Chlordan-Gruppe

Bei der Umsetzung von Hexachlorcyclopentadien mit Cyclopentadien entsteht Chlordan, dessen Chlorierung das komplexe Gemisch Chlordan bestehend aus mehr als 26 Komponenten ergibt. Die Hauptbestandteile des technischen Gemisches sind cis- und trans-Chlordan (10 %) (Abb. 3-20), cis- und trans-Nonachlor (1,7 bzw. 6,0 %) sowie Heptachlor (6,0 %). Die hierunter wirksamste Verbindung ist Heptachlor, das gegen Baumwollschädlinge gezielt eingesetzt wurde. Seit 1988 ist der Einsatz von Chlordan in den meisten Industrieländern eingestellt, allerdings wird es wegen der geringen Herstellungskosten noch immer in einigen Ländern der dritten Welt verwendet.

Oxy-Chlordan (Abb. 3-20) tritt als Metabolit und Stoffwechselprodukt in Bioproben auf. Chlordan und Chlorden stimulieren die Wucherung (Proliferation) von Brustkrebszellen (MCF-7-Linie) im E-screen Test bei der höchsten eingesetzten Konzentration von 30 μM mit einer um den Faktor 10^6 geringeren Potenz als 17β -Östradiol (Soto et al., 1992).

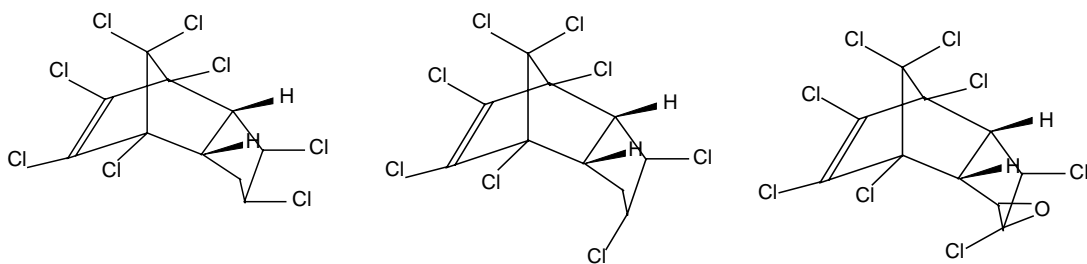


Abb. 3-20: cis-Chlordan, trans-Chlordan und oxy-Chlordan

Aldrin und Dieldrin

Aldrin entsteht durch die 1,4-Cycloaddition von Perchlorcyclopentadien an Norbornadien. Wird die Doppelbindung des Aldrin epoxidiert, so erhält man das stärker insektizid wirkende Dieldrin. Die Epoxidierung findet nicht nur in synthetischen Verfahren statt, sondern auch infolge von Abbaureaktionen in der Umwelt. Endrin ist ein Stereoisomer von Dieldrin (Abb. 3-21).

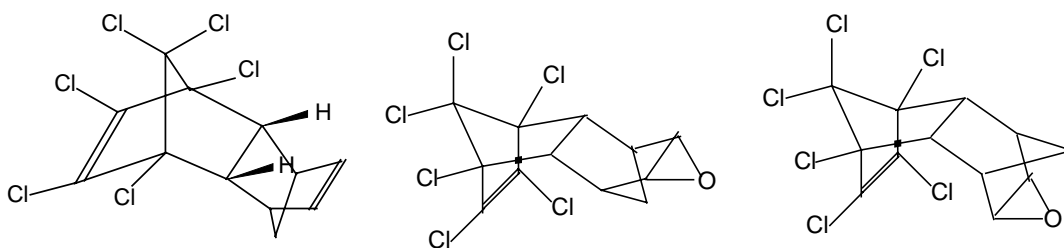


Abb. 3-21: Aldrin, Dieldrin und Endrin

Aldrin und Dieldrin wurden zur Bekämpfung von Termiten und bei der Saatgutbehandlung ab 1948 in der Landwirtschaft eingesetzt. Weiteren Einsatz fand Dieldrin als Holzschutzmittel und in der Malariabekämpfung. Seit 1971 bzw. 1981 sind Dieldrin und Aldrin in Deutschland nicht mehr zugelassen, seit 1988 besteht ein völliges Anwendungsverbot. Ähnliche Verbote und Einschränkungen gelten auch für die anderen Industrieländer. Dieldrin zeigte positive Wirkung im E-screen (Soto et al., 1994) und stimulierte die Synthese von Progesteronrezeptoren (Soto et al., 1995).

Endosulfan

Für die Herstellung von Endosulfan wird Endosulfandiol aus Hexachlorcyclopentadien und cis-2-Buten-1,4-diol synthetisiert, welches dann mit Thionylchlorid zu einem Gemisch aus 70 % α - und 30 % β -Endosulfan reagiert. α -Endosulfan ist in der Umwelt stabiler und wird deshalb häufiger in Umweltpollen nachgewiesen. Endosulfan wird im Baumwollanbau und zur Bekämpfung von Stechmücken wie der Tse-Tse-Fliege eingesetzt. In Deutschland wurde es u. a. gegen den Borkenkäfer verwendet. Endosulfan zeigt eine relativ geringe Tendenz zur Bioakkumulation und daher nur unwesentliche Anreicherung in der Nahrungskette. Dieses läßt sich wahrscheinlich auf die Metabolisierung zu Endosulfandiol und dessen leichtere Ausscheidung zurückführen.

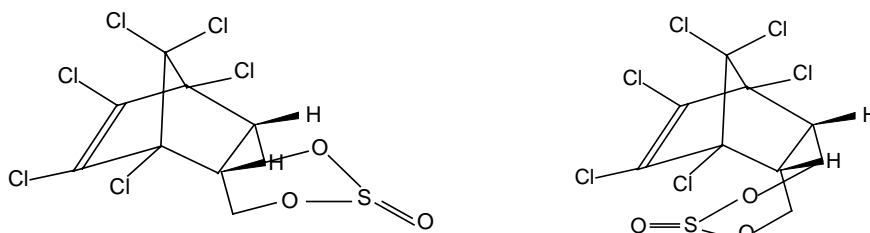


Abb. 3-22: α -Endosulfan und β -Endosulfan

Endosulfan zeigte analog zum Dieldrin eine proliferationssteigernde Wirkung im E-screen und förderte das Wachstum von Progesteronrezeptoren. Für β -Endosulfan wurde eine Bindungsaffinität von 10^{-6} relativ zu Östradiol bestimmt (Soto et al., 1995).

Mirex und Kepon

Mirex ist eine synthetische Substanz, die als Insektizid und als feuerfestes Imprägnierungsmittel verwendet wird. In Tierversuchen konnte seine Mutagenität und Kanzerogenität bei Versuchstieren nachgewiesen werden. Kepon (Chlordecon) ist strukturell eng mit Mirex verwandt und weist eine Ketogruppe an Position 2 anstatt der zwei Chloratome auf (Abb. 3-23).

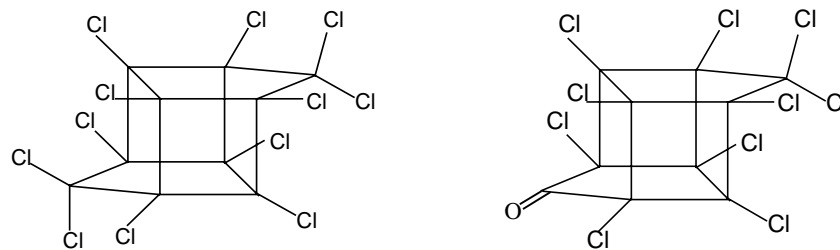


Abb. 3-23: Mirex und Kepon

Kepon ist das bislang einzige Pestizid, dessen östrogene Wirkung auch *in vivo* belegt wurde. Es führt zu einem gesteigerten Oviduktgewicht in juvenilen Wachteln, beschleunigt das Wachstum des Genitaltrakts von Mäusen und verhornt den Vaginalepithel in weiblichen Mäusen (Eroschenko et al., 1980).

Im Uterusgewichtstest zeigte Kepon im Gegensatz zu Mirex eine östrogene Potenz, die um den Faktor 10^4 schwächer war als jene von Östradiol (Gellert et al., 1978). Während Mirex im E-screen nicht aktiv ist, steigert Kepon die Proliferation signifikant schon ab Konzentrationen von $10 \mu\text{M}$ (Soto et al., 1994).

Toxaphen

Das Insektizid Toxaphen (Camphechlor) wird durch Chlorierung von Camphen dargestellt. Dabei entsteht ein technisches Produkt aus über 170 chlorierten, bicyklischen Terpenen. Seit 1948 auf dem Markt befindlich, gehörte es bis Anfang der 80er Jahre zu den weltweit am häufigsten eingesetzten Insektiziden.

Mit Hilfe des E-screen konnten Soto et al. (1992, 1994) *in vitro* die proliferationsstimulierende Wirkung von Toxaphen auf MCF-7-Zellen zeigen.

3.1.17 Anisole (Phenylmethylether)

Alkylierte Hydroxyanisole dienen als Konservierungsstoffe in vielen fetthaltigen Lebensmitteln sowie in Fetten und Ölen selbst. Analog Vitamin C zeigen sie antioxidante Wirkung und dienen als Fänger von gefährlichen 'freien Radikalen'. Daher verhindern sie das Ranzigwerden von Fetten und die Entstehung übler Gerüche. Am häufigsten wird tert-Butyl-4-hydroxyanisol (Abb. 3-24) eingesetzt, welches als Isomergemisch (2-tert-butyl : 3-tert-butyl \approx 15 : 85) im Handel ist. Der Einsatz in Nahrungsmitteln ist allerdings aufgrund seiner toxischen Eigenschaften nur beschränkt erlaubt. Im Tierversuch liegen Hinweise auf eine krebserzeugende Wirkung vor.

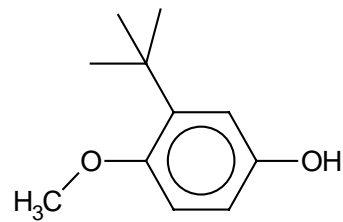


Abb. 3-24: 2-Tert-butyl-4-hydroxyanisol (BHA)

Jobling et al. konnten es 1995 als schwaches Östrogen identifizieren. BHA bindet an den Östrogenrezeptor von Regenbogenforellen, es wirkt schwach östrogen auf Brustkrebszellen und stimuliert die Transkriptionsaktivität des menschlichen Östrogenrezeptors.

3.1.18 Parabene

Zu den erst kürzlich entdeckten schwachen Östrogenagonisten zählen einige Alkyl-p-hydroxybenzoate (Parabene) wie Methyl-, Ethyl-, Propyl- und Butylparaben (Abb. 3-25). Diese Verbindungen werden in großen Mengen als Konservierungsstoffe vielen Hautcremes, Körperlotionen, Sonnenmilch, Salben und anderen Kosmetika sowie Nahrungsmitteln, Medikamenten und Zahnpasta zugesetzt. Sie erwiesen sich als biologisch wirksam gegen Pilze und Hefen, jedoch weniger aktiv gegen Bakterien.

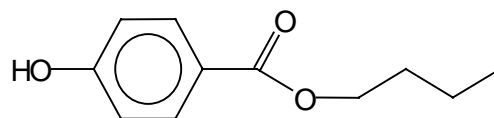


Abb. 3-25: n-Butyl-p-hydroxybenzoat (Butylparaben)

In Bindungsexperimenten an Östrogenrezeptoren der Ratte konkurrierte Butylparaben mit [³H]-Östradiol und wies eine um etwa fünf Größenordnungen geringere Affinität als Diethylstilböstrol auf. In einem weiteren Assay mit Hefezellen zeigten alle vier oben genannten Parabene schwach östrogene Wirkung, wobei Butylparaben mit einer um den Faktor 10.000 verringerten Potenz verglichen mit Östradiol den stärksten Agonist darstellte. *In vivo* führte die subkutane Injektion in Ratten zu einer positiven uterotrophen Wirkung, die allerdings 100.000 mal schwächer als jene von Östradiol war (Routledge et al., 1998).

3.1.19 Phytoöstrogene

Pflanzliche Nahrung enthält in größeren Mengen sogenannte Phytoöstrogene, die allesamt strukturelle Ähnlichkeit zu den Östrogenen aufweisen. Zu ihnen zählen Vertreter mehrerer Verbindungsklassen wie die Phytosterole, die Isoflavone, die Coumestranone, die Lignane und Lactonester der Resorcinolcarbonsäure. Die untersuchten Verbindungen dieser Gruppen zeigten alle eine schwache östrogene Wirkung, die im Bereich von 1/500 bis 1/1000 der Wirkstärke von 17 β -Östradiol liegt (Verdeal et al., 1980). Einige unter ihnen zeigen aber auch antiöstrogene Wirkung.

Es wird angenommen, daß der Konsum von Pflanzen mit antiöstrogenen Phytohormonen das Risiko für Frauen, an Brustkrebs zu erkranken, verringern kann. Außerdem ist bekannt, daß der Konsum an Isoflavonen in asiatischen Ländern weit über dem in Europa oder den USA liegt. Aus Asien werden zugleich weit weniger Fälle von Hodenkrebs oder Cryptorchidismus bei Männern gemeldet. Außerdem haben asiatische Männer eine kleinere Prostata und einen niedrigeren Testosterongehalt im Blut. Die gesundheitsfördernde Wirkung einer solchen Ernährung sollte die adversen Effekte durch die gleichzeitige Aufnahme pflanzlicher Östrogene mehr als ausgleichen. Es gilt jedoch zu berücksichtigen, daß gewisse Nahrungsmittel wie Sojaprodukte, Leinsamen, Mais, Hopfen oder Linsen verhältnismäßig große Mengen an Phytoöstrogenen enthalten. Bei der täglichen Aufnahme von rund 60 g Sojaprotein werden allein 45 mg Isoflavone resorbiert. Daher können nach reichlichem Verzehr in Urin und Blutplasma Konzentrationen auftreten, die um mehrere Größenordnungen über jenen endogener Östrogene liegen. Daher muß trotz der geringen Östrogenität neben den heilsamen Wirkungen auch mit einem deutlichen Einfluß auf das endokrine System gerechnet werden.

In mehreren Studien verlängerte eine solche Ernährung den weiblichen Menstruationszyklus und hatte Auswirkungen auf den normalen Metabolismus der Steroidhormone (Wilcox et al., 1996). Ein kausaler Zusammenhang zwischen Erkrankungen des endokrinen Systems und einer hohen Aufnahme von Phytoöstrogenen beim Menschen, z. B. bei Vegetariern, konnte noch nicht schlüssig gezeigt werden. Besonders die Gefahren für Säuglinge und Kleinkinder, deren kommerziell erhältliche Nahrungsformulierungen seit Jahrzehnten überwiegend aus Sojapulver hergestellt werden, sind Gegenstand kontroverser Diskussionen. Außerdem kommen immer mehr Nahrungsmittelergänzungen und Produkte auf den Markt, die mit Phytoöstrogenen als chemopräventive Stoffe angereichert sind und vermarktet werden.

Unter den Isoflavonen sind *in vitro* Genistein und Daidzein als potenteste Phytoöstrogene durch Agonismus am Östrogenrezeptor identifiziert worden (Abb. 3-26).

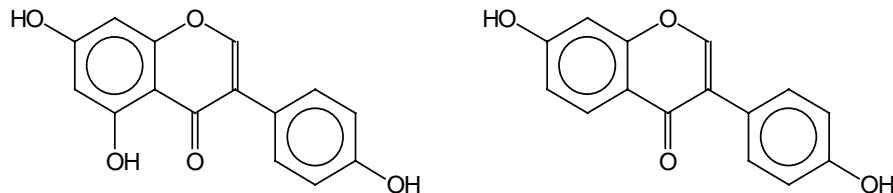


Abb. 3-26: Genistein und Daidzein

Auch *in vivo* liegen detaillierte Studien vor. Strauss et al. injizierten 1998 bis zu 2,5 mg/kg Körpergewicht täglich Genistein subkutan in erwachsene, männliche Mäuse. Dies führte zu einer Abnahme der Testosteronkonzentration in den Testes und im Blutplasma sowie zu einer Verringerung des Prostatagewichts. Neonatal führten nur sehr hohe Dosen von 500 mg/kg während der ersten drei Tage nach der Geburt zu Veränderungen des Reproduktionstraktes ähnlich den Effekten, die bei der Gabe von 2 µg/kg Diethylstilböstrol auftraten. Für die aquatische Umwelt haben nur wenige Phytoöstrogene eine Bedeutung erlangt. Den wichtigsten Vertreter der Phytosterole, die mit den Östrogenen zu den Steroiden zählen, stellt das β -Sitosterol dar (Abb. 3-27).

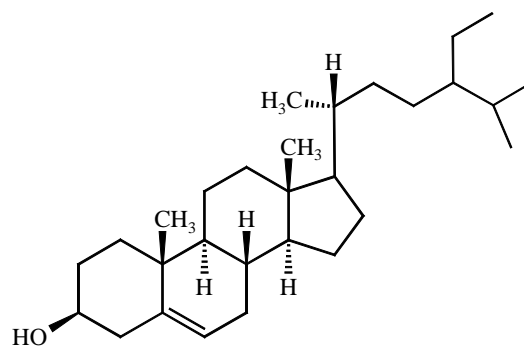


Abb. 3-27: β -Sitosterol

β -Sitosterol tritt in verstärktem Maße im Schmutzwasser von Papiermühlen und industriellen Betrieben der Papierverarbeitung auf. Da es als günstige Ausgangsverbindung zur Synthese von Androgenen mit biotechnologischen Verfahren dient, kann im Schmutzwasser durch Mikroorganismen eine Biotransformation der Sterole in steroidale Androgene erfolgen. Hiermit wird versucht, das Auftreten maskulinisierter Fische in Florida zu Beginn der 90er Jahre zu erklären (Davis et al., 1992). Außerdem wird Sitosterol als Medikament zur Senkung des Lipidspiegels in Dosen von bis zu 10 g/Tag verschrieben.

3.2 Antiöstrogene

Antiöstrogene binden an den Östrogenrezeptor und inhibieren oder hemmen somit die Wirkung der endogenen Östrogene *in vivo* und *in vitro*. Daneben können sie auch eine partielle gewebe-, zell-, gen- und speziesspezifische östrogene Aktivität aufweisen. Von pharmakologischem Interesse sind besonders reine Östrogenantagonisten, die ohne partielle östrogene Aktivität wirken. Für einen möglichen therapeutischen Einsatz wurden Derivate des 17 β -Östradiol wie ICI 164 384 entwickelt (Abb. 3-28).

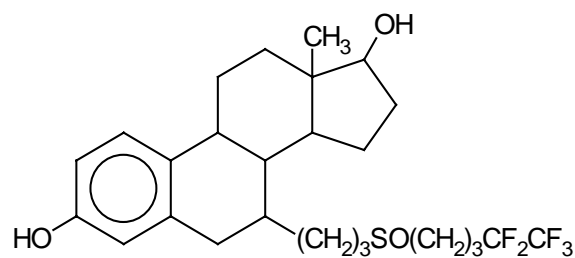


Abb. 3-28: ICI 164 384

Tamoxifen ist das bekannteste Beispiel eines therapeutisch zur Behandlung von Brustkrebs eingesetzten Antiöstrogens aus der Gruppe der Triphenylethylene (Abb. 3-29).

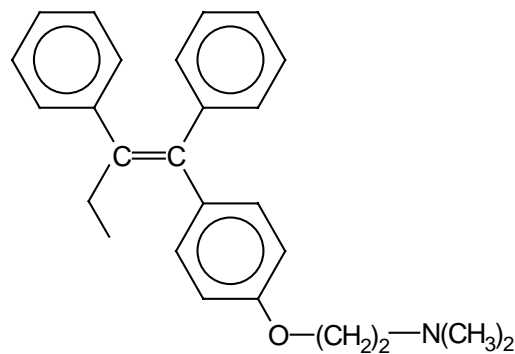


Abb. 3-29: Tamoxifen

3.2.1 Polychlorierte Dibenzodioxine (PCDDs)

Polychlorierte Dibenzodioxine (PCDDs) entstehen in erster Linie bei der unvollständigen Verbrennung chlorierter Kohlenwasserstoffe. Zu diesen Precursoren zählen Verbindungen wie Hexachlorbenzol (HCB), Pentachlorphenol (PCP) sowie weitere mehrfach chlorierte Benzol- und Phenolderivate. Bei der Vernichtung dieser Precursoren durch Verbrennung sind daher von der TA Luft Mindesttemperaturen von 1200°C vorgeschrieben. Daneben können PCDDs auch aus nichthalogenierten Kohlenwasserstoffen und anorganischen Chlorverbindungen gebildet werden, z. B. bei der Chlorherstellung durch Chloralkalielektrolyse mit Graphitelektroden. Weitere Eintragsquellen stellen die Verbrennung von Müll, Klärschlamm und fossilen Brennstoffen sowie das Recycling von Eisen, Aktivkohle oder Bleiakumulatoren dar. In einer umfangreichen Monographie wurden Chemie, Umweltverhalten und Analytik der Dioxine vorgestellt (Ballschmiter & Bacher, 1996).

PCDDs können zwischen einem und acht Chloratome tragen, wodurch insgesamt 75 Kongenere möglich sind. Das 2,3,7,8-Tetrachlordibenzodioxin ("Seveso-Dioxin", TCDD) (Abb. 3-30) ist hierunter der bekannteste und in Bezug auf Toxizität, Eintrag und Verhalten in der Umwelt am besten untersuchte Vertreter, der in der Öffentlichkeit als "giftigste Chemikalie überhaupt" Berühmtheit erlangt hat.

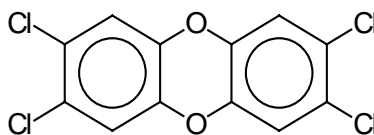


Abb. 3-30: 2,3,7,8-Tetrachlordibenzodioxin (TCDD)

Auch im Hinblick auf die antiöstrogene Wirkung ist TCDD die am besten untersuchte Verbindung. Sein Wirkungsspektrum wurde von Safe et al. (1991) und Ahlborg et al. (1995) zusammengefasst.

In vivo verminderte TCDD die von Östradiol induzierte Erhöhung von Uterusgewicht, Synthese von Progesteronrezeptoren, Synthese von EGF-Rezeptoren (epidermal growth factor) und Tumorwachstum von implantierten MCF-7-Zellen in männlichen Mäusen. *In vitro* basieren die Untersuchungen im wesentlichen auf MCF-7-Zellen, bei denen die durch Östrogene stimulierte Proliferation verringert wird.

Neben TCDD haben sich auch einige weitere PCDDs *in vitro* als antiöstrogen wirksam gezeigt. Hierunter fallen z. B. 1,2,3,7,8-Pentachlordibenzodioxin oder

1,3,7,8-Tetrachlordibenzodioxin (Krishnan et al., 1993). Des weiteren beschleunigen verschiedene, mit Chlor und Brom gemischt halogenierte 2,3,7,8-Dibenzodioxine den Östrogenmetabolismus (Spink et al., 1994).

3.2.2 Polychlorierte Dibenzofurane (PCDFs)

Polychlorierte Dibenzofurane (PCDFs) entstehen völlig analog neben den PCDDs (Abb. 3-31) (Ballschmiter & Bacher, 1996). Auch sie enthalten zwischen einem und acht Chloratome, jedoch sind aufgrund der weniger symmetrischen Struktur 135 Kongenere möglich. Des weiteren besitzen auch hier die an den Positionen 2,3,7 und 8 substituierten Tetra- bis Hexachlordibenzofurane die höchste biologische Aktivität.

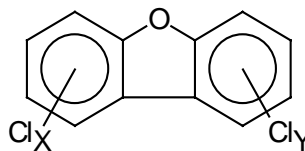


Abb. 3-31: Polychlorierte Dibenzofurane (PCDFs)

In vitro hemmen einige PCDFs analog dem TCDD verschiedene durch Östrogene induzierte Prozesse, insbesondere die Proliferation von MCF-7-Zellen im E-screen (Krishnan et al., 1993). *In vivo* liegen nur für das 2,3,4,7,8-Pentachlordibenzofuran Befunde vor. Analog dem TCDD verringerte es die Zunahme des Uterusgewichts unter Stimulation mit Östradiol (Astroff et al., 1990).

3.2.3 Polychlorierte Biphenyle (PCBs)

Die Gruppe der PCBs wurde bereits in Kap. 3.1.5 vorgestellt. Die koplanaren und monoortho-koplanaren Kongenere werden bevorzugt an den zytosolischen Ah-Rezeptor gebunden und wirken dort ähnlich wie die PCDDs oder PCDFs, die ebenfalls in einer koplanaren Form vorliegen. Andere, nicht dioxinähnliche PCBs zeigen östrogene Wirkungen.

3.2.4 Polyzyklische aromatische Kohlenwasserstoffe (PAK)

Unter den PAK finden sich analog zu den koplanaren PCBs, PCDDs und PCDFs einige Vertreter, die ebenfalls an den zytosolischen Ah-Rezeptor binden. Diese Eigenschaft wurde bislang bei Benzo(a)pyren, 7,12-Dimethyl-1,2-benzanthrazen und Methylcholanthren entdeckt (Abb. 3-32).

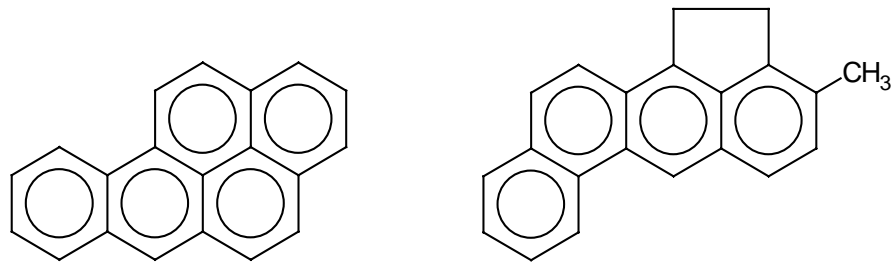


Abb. 3-32: Benzo(a)pyren und Methylcholanthren

3.3 Androgene

Bei den körpereigenen Androgenen handelt es sich um C₁₉-Steroidhormone. Als typisch männliche Sexualhormone steuern sie androgene und anabole Wirkungen im Körper aller Wirbeltiere, Fische und Amphibien. Dazu gehören unter anderem die Stimulation von Stoffwechselfvorgängen in den Zielorganen und Muskelgeweben (Eiweißsynthese), Differenzierung der männlichen Geschlechtsorgane im Mutterleib und während der Pubertät, Steuerung der Spermatogenese, Aufrechterhaltung der Libido bei Frau und Mann, Förderung des Längen- und Nierenwachstums sowie eine zentrale Wirkung auf das Gehirn, d. h. direkte Einflüsse auf die Psyche. Das wichtigste natürliche Androgen stellt Testosteron dar (Abb. 3-33).

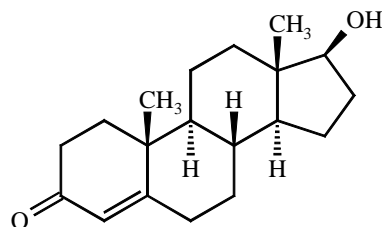


Abb. 3-33: Testosteron

3.3.1 Tributylzinnverbindungen (TBT)

Das metallorganische Tributylzinn (TBT) (Abb. 3-34) ist bislang die einzig bekannte, nicht-steroidale Verbindung, der eine androgene Wirkung zugeschrieben wird. TBT wurde und wird zum Teil noch heute in Unterwasseranstrichen und aufwuchsverhindernden Schiffsfarben, sogenannten Antifoulings, eingesetzt. Mittlerweile konnte eine eindeutige Ursache-Wirkungs-Beziehung zwischen dem Eintrag von TBT in die aquatische Umwelt und dem Pseudohermaphroditismus bei marinen Prosobranchiern (Vorderkiemenschnecken) belegt werden. Oehlmann et al. zeigten 1996, daß bereits Spurenkonzentrationen ab 1,5 Nanogramm/L an TBT Imposex auslösen und die Fortpflanzungsfähigkeit der weiblichen Schnecken beeinträchtigen. TBT behindert dabei auf molekularer Ebene die im Stoffwechsel nötige Aromatisierung von Testosteron zu Östradiol und verursacht somit einen erhöhten Androgenspiegel.

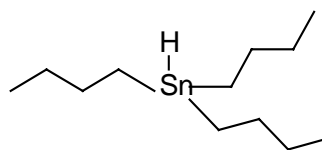


Abb. 3-34: Tributylzinn (TBT)

3.4 Antiandrogene

Die auf dem Markt befindlichen Antiandrogene werden therapeutisch zur Behandlung von Prostatakarzinomen, frühzeitiger sexueller Reifung, Hypersexualität bei Männern und schwerer Akne eingesetzt. Ihre antiandrogene Wirkung kann auf mehrere Arten entfaltet werden. Entweder konkurrieren sie mit den endogenen Androgenen um die Bindungsstellen der Rezeptorproteine im Sinne eines kompetitiven Antagonismus, hemmen die Testosteronsynthese oder beschleunigen den natürlichen Metabolismus der Androgene. Im Handel sind z. B. Cyproteronacetat, ein Progesteronderivat oder Flutamid (Abb. 3-35).

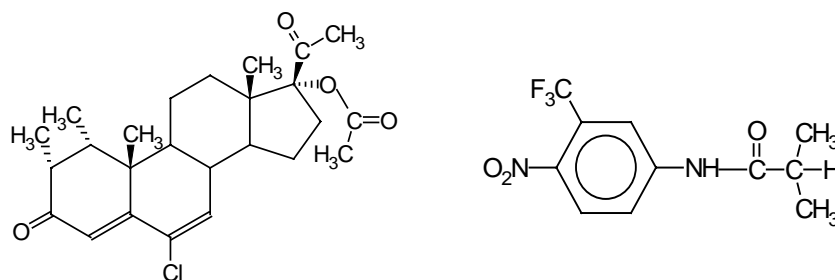


Abb. 3-35: Cyproteronacetat und Flutamid

Daneben konnte experimentell *in vitro* belegt werden, daß auch Pestizide wie Linuron, Vinclozolin, Methoxychlor, der Methoxychlor-Metabolit HPTE oder p,p'-DDE antiandrogen wirken.

3.4.1 Phenylharnstoffe

Die Phenylharnstoffderivate Linuron und Diuron, welche als Herbizide Anwendung gefunden haben, besitzen strukturelle Ähnlichkeit mit dem synthetischen Antiandrogen Flutamid (s. o.). Bei oraler Gabe von 200 mg/kg Linuron über zwei Wochen an männliche Ratten kam es zu einer Gewichtsabnahme der akzessorischen Geschlechtsorgane, Nebenhoden und Prostata (Cook et al., 1993). Auch einige seiner Metaboliten wie das 3,4-Dichloranilin fungieren als kompetitive Inhibitoren für die Testosteron-Bindung an den Androgenrezeptor. Für Diuron liegen keine Versuchsergebnisse vor, jedoch ist aufgrund der engen strukturellen Verwandtschaft zum Linuron eine antiandrogene Wirkung zu erwarten (Abb. 3-36).

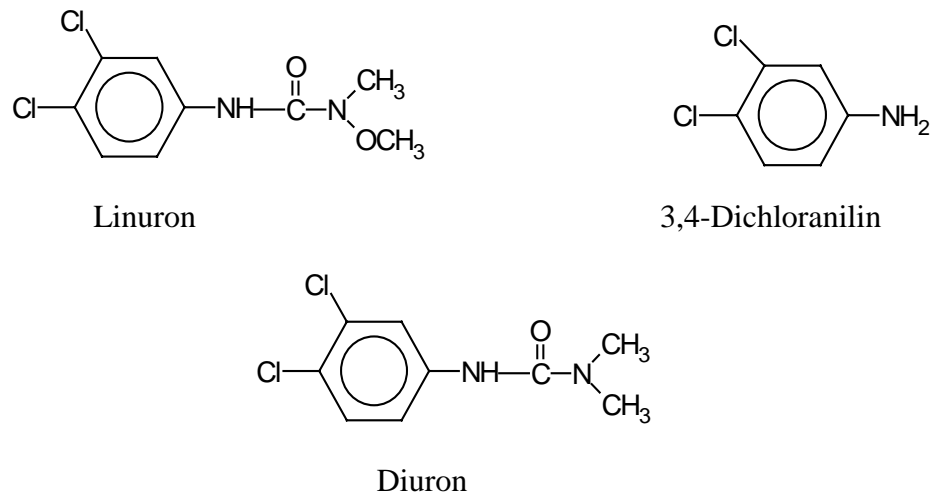


Abb. 3-36: Linuron, 3,4-Dichloranilin und Diuron

3.4.2 Vinclozolin

Das Fungizid Vinclozolin (Abb. 3-37) zeigte in Rattenversuchen ähnlich dem Linuron geschlechtsverändernde Wirkungen bei männlichen Versuchstieren (Kelce et al., 1999). Analoge Phänomene traten auch bei den männlichen Nachkommen von Muttertieren auf, denen während der Trächtigkeit 100 mg/kg oral verabreicht wurde.

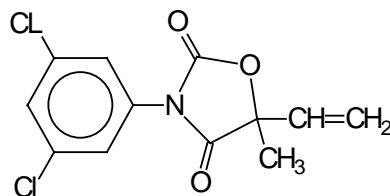


Abb. 3-37: Vinclozolin

Im Gegensatz dazu wiesen die weiblichen Nachkommen keinerlei Defekte der Geschlechtsorgane auf. Molekularbiologische Untersuchungen deuten darauf hin, daß Vinclozolin nur ein schwacher Inhibitor der Androgenbindung am Androgenrezeptor ist, daß jedoch seine Metaboliten M1 (3,5-Dichlorphenyl-carbaminsäure-(1-carboxy-1-methyl)-allylester) und M2 (N-3,5-Dichlorphenyl-2-hydroxy-2-methyl-3-butensäureamid) eine hohe Affinität für den Androgenrezeptor zeigen und die Androgen-induzierte Aktivierung und DNA-Bindung des Androgenrezeptors hemmen (Chapin et al., 1996).

3.4.3 p,p'-DDE

Bei Versuchen zur Bestimmung der Androgenrezeptorbindung einiger östrogen wirksamer Pestizide erwies sich nach 17 β -Östradiol, HPTE und Hydroxyflutamid der DDT-Metabolit p,p'-DDE als potentester Inhibitor (vgl. Kap. 2.1.5.1). Auch *in vivo* konnte die antiandrogene Wirkung des p,p'-DDE als Metabolit des p,p'-DDT bestätigt werden (Kelce et al., 1995, 1999):

- Verabreichte man 100 mg/kg p,p'-DDE trächtigen Ratten vom 14. - 18. Trächtigkeitstag, so traten bei den männlichen Jungtieren verminderte Anogenitaldistanz und Brustwarzenentwicklung auf, deutliche Anzeichen einer pränatalen Einwirkung von Antiandrogenen.
- Bei juvenilen Ratten trat bei einer Gabe von 100 mg/kg bis nach der Pubertät eine Verspätung des Eintretens der Pubertät um fünf Tage ein.
- Bei adulten männlichen Ratten führte orale Gabe von 200 mg/kg p,p'-DDE zu einer deutlichen Gewichtsabnahme von Prostata und Samenblase.

Aufgrund der stark antiandrogenen Wirkung von p,p'-DDE durch Antagonismus am Androgenrezeptor *in vitro* und *in vivo* wird vermutet, daß die durch das technische Gemisch DDT verursachten Anomalien bei der Geschlechtsentwicklung von Mensch und Tier eher dem persistenten Metaboliten p,p'-DDE angelastet werden müssen als dem östrogen wirksamen o,p'-DDT.

3.4.4 1,1,1-Trichlor-2,2-bis(4-hydroxyphenol)ethan (HTPE)

Der Methoxychlor-Metabolit HTPE (1,1,1-Trichlor-2,2-bis(4-hydroxyphenol)ethan) ist bislang die einzig identifizierte Substanz, die gleichzeitig als Agonist am Östrogen- und als Antagonist am Androgenrezeptor wirkt. Bei juvenilen Ratten verzögerte die Gabe von 100 mg/kg/Tag signifikant das Eintreten der Pubertät. *In vitro* inhibierte HTPE im Gegensatz zu Methoxychlor die durch Dihydrotestosteron in CV1-Zellen (Affenleber) induzierte Transkription. Außerdem wirkt es analog zum p,p'-DDE als reiner kompetitiver Inhibitor am Androgenrezeptor (Kelce et al., 1999).

4 Qualitative und quantitative Analytik der hormonähnlichen Verbindungen in der Umwelt

Die Beurteilung der Zusammenhänge zwischen umweltrelevanten Verbindungen anthropogenen Ursprungs und deren Auswirkungen stellt eine interdisziplinäre Aufgabe dar. Neben der Endokrinologie, der Toxikologie und der Biologie kommt hierbei der Analytischen Chemie eine zentrale Rolle zu. Sie muss eine Spurenanalyse im Bereich von Picogramm/L leisten und liefert somit die Basisdaten auch für die Abschätzung einer komplexen Exposition.

Der derzeitige Kenntnisstand über das Vorkommen, die Persistenz und den Verbleib endokrin wirksamer Verbindungen in der Umwelt ist sehr lückenhaft. Der Nachweis und die Bestimmung der verantwortlichen Substanzen bereitet der Umweltanalytik nach wie vor große Schwierigkeiten. Insbesondere fehlt es an Analyseverfahren, welche die simultane und eindeutige Detektion verschiedener Einzelstoffe im extremen Spurenbereich erlauben. Verbindungen wie Bisphenol A oder 4-Nonylphenol, die im Ablaufwasser von Kläranlagen in Konzentrationen von bis zu 10 Mikrogramm/L (10^{-5} g/L) enthalten sind, können von den meisten akkreditierten analytischen Laboratorien inzwischen routinemäßig bestimmt werden. Bei halogenierten Verbindungen wie DDT und den PCBs ist aber eine um den Faktor 10.000 niedrigere Nachweisgrenze von 1 Nanogramm/L realistisch und notwendig.

Bei weiterer Verdünnung in Flüssen oder Binnenseen erreichen die Konzentrationen generell den untersten Nanogramm/L-Bereich und darunter. Hier können unhalogenierte Verbindungen kaum noch im Routinebetrieb nachgewiesen werden. Synthetische Östrogene wie das 17α -Ethinylöstradiol zeigen selbst bei Wirkkonzentrationen ab 100 Picogramm/L (10^{-10} g/L) im Wasser deutlich östrogene Wirkungen auf Fische (Sheahan et al., 1994). Lipophile Verbindungen haben teilweise eine ausgeprägte Tendenz zur Bioakkumulation, wodurch es die Nahrungskette hinauf zu Anreicherungsfaktoren im Fettgewebe aquatischer Lebewesen kommt, die um 3 bis 8 Größenordnungen über den Gehalten im Wasser liegen können. Hierzu werden spezielle analytische Verfahren benötigt, die neben einem effizienten Anreicherungsschritt, einer sorgfältigen Abtrennung der oft weitaus höher konzentrierten Störkomponenten und einer hochauflösenden chromatographischen Trennung einen Bestimmungsschritt mit empfindlichsten Detektionsprinzipien erfordern. Die ausgefeilten Testmethoden auf endokrine Wirkung dieser Stoffe finden in der Umweltanalytik noch lange nicht ihre Entsprechung.

4.1 Anreicherungsverfahren aus verschiedenen Matrices

Die Gehalte der gesuchten Verbindungen in Luft, Wasser und Boden liegen oft in solch niedrigen Bereichen, daß ein effizienter Anreicherungsschritt der Analyten aus einem größeren Matrixvolumen unumgänglich ist. Während früher vor allem extraktive Verfahren wie die Anreicherung von Luftschadstoffen in Kühlfallen (Kryofocussierung) oder die Flüssig-Flüssig-Extraktion organischer Schadstoffe aus größeren Wassermengen zum Einsatz kamen, stehen heute adsorptive Methoden im Vordergrund.

Unter Adsorption versteht man die Anreicherung eines Stoffes an der Oberfläche einer festen Phase, dem Adsorbens. Durch geeignete Wahl des Adsorbens können bestimmte Verbindungsklassen aufgrund ihrer chemischen Eigenschaften selektiv aus größeren Volumina der sie enthaltenden Matrix 'herausgefiltert' werden. Oftmals ist neben der Anreicherung der Analyten auch eine Abtrennung von störenden Begleitkomponenten (Matrixbestandteile) möglich.

Mit Hilfe dieser Festphasenextraktionen (engl. 'solid phase extraction' (SPE)) ist es möglich, Luftschadstoffe wie PCBs und Pestizide durch Anreicherung großer Luftvolumina ('high-volume-sampling') im Femtogramm/m³-Bereich (10^{-15} g/m³) zu erfassen. In der Wasseranalytik sind solch hohe Probemengen undenkbar, weil die Analyten ab einem bestimmten Volumen durch das Wasser vom Adsorbens heruntergelöst werden und somit der Bestimmung entgehen. Daher liegen die angereicherten Wasserkörper meist unter einem Liter, wodurch eine Nachweisgrenze der Gesamtverfahren von 1 - 100 Nanogramm/L je nach Verbindung in der Routineanalytik selten unterschritten wird.

4.2 Trennverfahren

Eine Identifikation organischer Xenobiotika und deren Gehaltsbestimmung aus verschiedensten Umweltmatrices wie Luft, Abwasser, Blattlaub oder Flußsediment, die meist ein komplexes Gemisch aus einer Vielzahl von organischen und anorganischen Komponenten darstellen, setzt zum einen eine effiziente Abtrennung der gesuchten Verbindungsklassen von begleitenden Störkomponenten der Matrix, zum anderen eine möglichst vollständige Auftrennung der zu detektierenden Verbindungen vor einem selektiven, unspezifischen Bestimmungsschritt voraus.

Die Analytische Chemie setzt zur Trennung organischer Verbindungen meist chromatographische Methoden ein. Das Prinzip der Chromatographie beruht auf dem Übergang der zu trennenden Komponenten zwischen zwei nicht mischbaren Phasen.

Das Komponentengemisch wird in einer sogenannten mobilen Phase, die eine Flüssigkeit oder ein Gas sein kann, gelöst und an einer in Ruhe befindlichen stationären Phase, ein Feststoff oder eine Flüssigkeit, vorbeigeführt. Die stationäre Phase wird dabei in einer Säule oder auf einem zweidimensionalen Träger fixiert. Aufgrund der unterschiedlichen Wechselwirkungen der Komponenten mit den beiden Phasen kommt es im Verlauf der Wanderung zu einer Trennung.

Die besten Trennleistungen liefern säulenchromatographische Verfahren, bei denen die stationäre Phase in eine Quarz- oder Metallkapillare gepackt oder als dünner Film auf deren Wand aufgebracht ist. Je nach Ausführungsart unterscheidet man flüssigchromatographische Verfahren, bei denen die stationäre Phase fest oder flüssig und die mobile Phase flüssig, von den gaschromatographischen Verfahren, bei denen die stationäre Phase fest oder flüssig und die mobile Phase gasförmig ist. In der modernen instrumentellen Spuren- und Prozeßanalytik organischer Verbindungen finden beide Arten in der HPLC (Hochleistungs-Flüssigchromatographie) und der HRGC (hochauflösende Kapillar-Gaschromatographie) ihre Anwendung.

4.3 Detektionsprinzipien

Die Detektionsprinzipien, die in der Analytischen Chemie nach Auftrennung in chromatographischen Systemen zur Identifizierung und Quantifizierung organischer Verbindungen zum Einsatz kommen, sind in Bezug auf Empfindlichkeit, apparativen Aufwand, Robustheit und Nachweisstärke sehr unterschiedlich. Daher eignen sich auch nur wenige, hochempfindliche Methoden zur Spurenanalyse von Xenobiotika.

Gängige Verfahren der Prozeß- und Routineanalytik, die auf flüssigchromatographischen Methoden (HPLC) beruhen, werden aufgrund der angekoppelten Detektoren nur begrenzt für die extreme Spurenanalyse verwendet. Der universell einsetzbare UV/VIS-Detektor, der auf der Absorption von Licht im sichtbaren und ultravioletten Bereich durch die Analyten basiert, erfordert Absolutmengen von einigen Mikrogramm (10^{-6} g) zur Signalerzeugung. Etwas empfindlicher ist der in der Analytik von Alkylphenolpolyethoxylaten eingesetzte Fluoreszenzdetektor. Auch bei der apparativ aufwendigen Kopplung an einen massenselektiven Detektor (MSD), der neben der quantitativen Aussage der Anwesenheit einer organischen Verbindung auch deren Identifizierung erlaubt, lassen sich zwar um etwa zwei Größenordnungen geringere Absolutmengen detektieren, die Nachweisstärke einer HPLC/MSD-Kopplung erweist sich zur extremen Spurenanalytik jedoch als unzureichend.

Hierfür nehmen gaschromatographische Verfahren aufgrund der viel kleineren Massenflüsse die herausragende Stellung ein. Eine Kopplung an den

massenselektiven Detektor (HRGC/MSD), die aufgrund des benötigten Vakuums im Detektor einen geringen Massenfluß erfordert, ist wegen der Abwesenheit eines Lösemittels als mobile Phase apparativ leichter zu verwirklichen. Daher können Absolutmengen bis in den unteren Picogramm-Bereich (10^{-12} g) bei gleichzeitig qualitativer Aussage detektiert werden.

In der extremen Spurenanalytik halogener Pestizide kommt fast ausschließlich der hochempfindliche Elektroneneinfangdetektor (ECD) zum Einsatz, der auf dem 'Einfang' von Elektronen durch elektronenaffine Gruppen wie Halogenatomen im Molekül beruht. Mit detektierbaren Absolutmengen, die, je nach Chlorierungsgrad, bis hinab zu einem Picogramm (10^{-12} g) betragen können, nimmt der ECD im Hinblick auf Empfindlichkeit die Spitzenposition ein. Jedoch kann eine Identifizierung der Verbindungen mit dem ECD nur anhand des chromatographischen Verhaltens auf der Trennsäule erfolgen, da jede elektronenaffine Verbindung ein Signal liefert.

Zusammenfassend läßt sich festhalten, daß die Nachweisgrenzen der entwickelten analytischen Verfahren stark von der Zusammensetzung der Matrix, der erforderlichen Probemenge, der Aufarbeitungsmethode und der instrumentellen Ausstattung und Qualifikation der Laboratorien abhängen. Wegen des erforderlichen Zeit- und Kostenaufwandes der hochempfindlichen analytischen Verfahren werden nur wenige routinemäßige Untersuchungen von Luft, Abwasser, Flußwasser, Sediment usw. vorgenommen, worauf der momentane Mangel an analytischem Datenmaterial zur Exposition zurückzuführen ist (Stumpf et al., 1996; Ternes et al., 1999; Belfroid et al., 1999).

5 Vorkommen hormonell wirksamer Stoffe in der Umwelt Baden-Württembergs

5.1 Verbindungen mit östrogenen Wirkung

5.1.1 Steroidhormone endogenen und exogenen Ursprungs

Aus den bekannten mittleren Exkretionsraten der körpereigenen und synthetischen Östrogene im Urin lassen sich unter Berücksichtigung der statistischen Zusammensetzung der Bevölkerung (Männer, Frauen, schwangere Frauen, Frauen vor den Wechseljahren, etc.) die Einträge an exogenen und endogenen Östrogenen in ein kommunales Abwassersystem abschätzen. Exemplarisch bedeutet dies für eine durchschnittliche Stadt mit 100.000 Einwohnern eine tägliche Ausscheidung allein an 17β -Östradiol von etwa 350 mg. Die resultierenden Konzentrationen im Zulauf der Kläranlage liegen somit aufgrund der starken Verdünnung, die u. a. abhängig vom Wetter ist, im Bereich von 20 - 100 ng/L. Die Werte für Östron und Östriol liegen im gleichen Bereich, wohingegen die Gehalte für 17α -Ethinylöstradiol (EE2) (Abb. 3-2) wegen der beschränkten Einnahme in Kontrazeptiva um den Faktor drei bis fünf darunter liegen.

EE2 steht mit seiner östrogenen Potenz mit dem endogenen 17β -Östradiol oder dem synthetischen Diethylstilböstrol in der gleichen Größenordnung bzw. übertrifft in einigen Testsystemen auch die Wirkstärke von Östradiol deutlich. *In vivo*-Experimente mit Regenbogenforellen führten bereits bei Konzentrationen zwischen 100 und 500 pg/L an EE2 zu einem signifikanten Anstieg der Blutplasmakonzentration an Vitellogenin, während Östradiol analoge Effekte erst zwischen 1 und 10 ng/L auslöste (Sheahan et al., 1994).

Seitdem werden unter allen endokrin wirksamen Verbindungen den endogenen und exogenen Östrogenen, darunter in erster Linie Ethinylöstradiol, ein maßgeblicher Beitrag an der beobachteten Verweiblichung wildlebender Fische in England angelastet (Purdom et al., 1994).

Der überwiegende Teil der endogenen und exogenen Östrogene wird von allen Wirbeltieren (inklusive Mensch) verstoffwechselt und als Konjugat zu Glucuronsäure oder zu Schwefelsäure ausgeschieden und ist somit biologisch inaktiviert. Bei der mehrstufigen Aufbereitung des Abwassers in einer Kläranlage erfolgt jedoch eine Spaltung der Konjugate unter Rückbildung der aktiven Form der Steroidhormone, da die Mikroorganismen in den Belebtschlammbecken enzymatisch zur Spaltung der Konjugate in der Lage sind (Stumpf et al., 1996, Ternes et al., 1999). Aus diesem Grund gelangt ein großer Teil der synthetischen sowie ein nicht

unwesentlicher Teil der endogenen Östrogene über die Vorfluter der Klärwerke in angrenzende Flußläufe, Binnenseen oder Meere. Über den weiteren Verbleib, die Persistenz oder eine Bioakkumulation der synthetischen Kontrazeptiva in der Umwelt sind bislang keine Forschungsergebnisse vorhanden. Aufgrund der großen Stabilität von Ethinylöstradiol in Batch-Experimenten mit Belebtschlamm ist auch eine längere Lebensdauer in Oberflächengewässern wahrscheinlich.

Über den Eintrag von Steroidhormonen aus Kläranlagen in deutsche Oberflächengewässer sind bislang nur spärliche Kenntnisse vorhanden. Eine Forschergruppe hat Messungen an 20 Kläranlagenabläufen und -zuläufen in Hessen durchgeführt (Stumpf et al., 1996). Dabei konnten sie eine Elimination der endogenen Östrogene Östron, Östradiol und Östriol sowie des synthetischen Östrogens Mestranol im Bereich von 75 - 91 % durch die biologische Aufbereitung ermitteln. Diese Abbauraten wurden in weiteren Untersuchungen bestätigt (Ternes et al., 1999). Lediglich Ethinylöstradiol ist sehr stabil und wird kaum abgebaut. Eine Eliminierung vom Zulauf bis in den Ablauf der Kläranlage findet daher nur eingeschränkt durch Adsorption (Anlagerung) an Klärschlamm statt. Die Bestimmungsgrenze des eingesetzten analytischen Verfahrens, welches auf gaschromatographischer Trennung mit massenspektrometrischer Detektion beruhte, betrug 1 ng/L. Der verbleibende Eintrag in angrenzende Fließgewässer wie dem Rhein ergab Maximalkonzentrationen im Vorfluter von 21 ng/L für Östradiol, 20 ng/L für Mestranol und 62 ng/L für Ethinylöstradiol. Messungen der Fließgewässer selbst ergaben Belastungen, die ausnahmslos unter 5 ng/L lagen. In 15 untersuchten Trinkwässern wurden keine Gehalte oberhalb der Bestimmungsgrenze festgestellt.

Für Baden-Württemberg liegen aktuelle Meßdaten zu Gehalten von EE2 und Östron und Östradiol aus den Abläufen von fünf kommunalen Kläranlagen vor, die im Rahmen von einer vom Ministerium für Umwelt in Auftrag gegebenen Studie 1998 ermittelt wurden (Spengler et al., 1999). Die mittleren Konzentrationen für Östradiol waren in Möhringen mit 6,4 ng/L bzw. für Östron in Ditzingen mit 16,8 ng/L am höchsten. EE2 lag in allen Abwasserproben unter der Bestimmungsgrenze von 1 ng/L.

Mit einem ähnlichen Verfahren konnten in englischen Kläranlagenausläufen Östron (1 - 76 ng/L), Östradiol (4 - 48 ng/L) und Ethinylöstradiol (0,2 - 7 ng/L) (Abb. 3-1/2) nachgewiesen werden (Desbrow et al., 1998). Auch die aktuellsten Meßergebnisse aus Deutschland, Brasilien, Kanada und Holland bestätigen diese Konzentrationsbereiche im untersten ng/L-Bereich oder darunter für steroidale Östrogene (Ternes et al., 1999; Kuch et al., 1999; Belfroid et al., 1999).

5.1.2 Alkylphenole in Kläranlagenabläufen und Sedimenten

In Deutschland werden gegenwärtig noch etwa 30.000 t/a Alkylphenole hergestellt, wovon zwei Drittel auch im Land verbraucht werden. Während die Butyl-, Oktyl- und die sonstigen Alkylphenole mit nur etwa 30 % vertreten sind, machen die Nonylphenole mit 70 % mengenmäßig den größten Anteil aus. Alle werden zu technischen Produkten wie den Alkylphenolpolyethoxylaten (APnEO) mit 1 - 100 Ethoxylatgruppen umgesetzt. Nach ihrer Anwendung gelangen die APnEO über kommunale und industrielle Abwässer in Kläranlagen, wo sie durch aerobe und anaerobe Prozesse abgebaut werden.

Untersuchungen der Zusammensetzung von Nonylphenol-Derivaten im Auslauf von Kläranlagen in der Schweiz ergaben, daß 60 - 65 % der eingebrachten NPnEO wieder als Metaboliten an die Umwelt abgegeben werden, d. h. lediglich 40 % werden durch Spaltung des Phenolrings abgebaut. Die Metaboliten setzen sich dabei wie folgt zusammen: 25 % 4-NP, 19 % NPEC, 11 % NP1EO und NP2EO, 8% NPnEO. Während über 90 % des 4-NP an den Klärschlamm gebunden werden, gelangt der größte Teil der NP1EO, NP2EO, NPEC und NPnEO über die Vorfluter in die aquatische Umwelt (Ahel et al., 1994).

Die Wasserlöslichkeit der Verbindungen reicht von 3,0 mg/L für NP1EO bis zu 13,2 mg/L für OP2EO. Die Oktanol-Wasser-Verteilungskoeffizienten $\log K_{OW}$ werden zur Einschätzung des Verteilungsverhaltens einer Verbindung zwischen einer hydrophilen (wasserähnlichen, polaren) und einer lipophilen (fettähnlichen, unpolaren) Phase ermittelt. Daher geben sie einen Anhaltspunkt über die Bioakkumulationstendenz oder das Auftreten in gewissen Umweltkompartimenten. Für die Alkylphenol-Derivate liegen sie im Bereich um 4,2. Die Verbindungen sind somit relativ lipophil und reichern sich bevorzugt in Sediment und Schwebstoffen an. In Forellen wurden Biokonzentrationsfaktoren für 4-NP von 25 - 100 je nach Organ ermittelt, bei Muscheln bis zu 3400. 4-NP wurde dabei von den Forellen mit einer Halbwertszeit von 20 Stunden wieder eliminiert (Lewis et al., 1996).

Über die derzeitige Belastung von Sediment und Oberflächengewässern mit Alkylphenolen in Deutschland sind vom Umweltbundesamt im Rahmen einer Länderumfrage einige Meßdaten zusammengestellt worden (UBA, 1997). Diese beschränken sich zumeist jedoch auf die Bestimmung von Nonylphenol:

- Für Baden-Württemberg liegen sehr aktuelle Daten zu Gehalten von 4-NP, NP1EC und NP2EO aus den Abläufen kommunaler Kläranlagen vor, die ebenfalls im Rahmen der vom Ministerium für Umwelt in Auftrag gegebenen Studie 1998 erhalten wurden (Spengler et al., 1999). Während NP2EO in keiner Probe

gefunden werden konnte, lagen die Gehalte für NP1EC mit 2475 ng/L und für 4-NP mit 954 ng/L in Ditzingen am höchsten. Die 4-NP-Konzentration lag in allen Klärwerken stets über 300 ng/L, die NP1EC-Konzentration über 400 ng/L.

- Im Main wurden von 1989 bis 1991 regelmäßig Wasserproben auf 4-NP untersucht. Dabei stiegen die Mittelwerte von 38 ng/L 1989 über 52 ng/L 1990 auf 120 ng/L 1991 an. Die Untersuchungen des Mainsediments ergaben NP-Gehalte, die weit über den Werten des Wassers lagen.
- Untersuchungen des Bodenseesediments ergaben 1991 NP-Gehalte von 3 - 150 µg/kg Trockensubstanz (TS).
- In Brandenburg wurden 1993/94 Klärschlämme auf 4-NP untersucht. Dabei ergaben sich im Sommer Mittelwerte von 52 mg/kg, im Winter von 37 mg/kg TS.
- In Hessen wurden 1995 an 22 Meßstellen 4-NP in Schwebstoffen unterschiedlicher Flüsse mit Maximalwerten von 2,5 mg/kg TS gemessen.

In der Schweiz wurden vor allem von Ahel und Giger von der Eidgenössischen Anstalt für Wasserversorgung, Abwasserreinigung und Gewässerschutz (EAWAG) intensive Untersuchungen zum Abbau und Verhalten der Alkylphenolpolyethoxylate in der Umwelt angestellt. Daher liegen zum Auftreten der weiteren Abbauprodukte neben Nonylphenol gesicherte Daten vor (Ahel et al., 1994):

- Die Abläufe von 11 untersuchten Kläranlagen enthielten 4-NP (2,2 - 44 µg/L), NP1EO und NP2EO (2,8 - 217 µg/L) sowie NP1EC und NP2EC (87 - 279 µg/L).
- Im Wasser der Glatt, einem Nebenfluß des Rheins, wurden folgende Verbindungen nachgewiesen: NP1EC (1 - 45 µg/L), NP2EC (2 - 71 µg/L), NP1EO (3 - 69 µg/L), NP2EO (0,3 - 30 µg/L), 4-NP (0,3 - 45 µg/L).
- Das Sediment der Glatt wies folgende Gehalte auf: 4-NP (190 - 13100 µg/kg TS), NP1EO (100 - 8850 µg/kg TS), NP2EO (80 - 2720 µg/kg TS)

Detaillierte Informationen über das Vorkommen der Abbauprodukte der NPnEO in Flüssen für Baden-Württemberg liegen nicht vor. Über die anderen in Kap. 3.1.3 aufgeführten Alkylphenole mit östrogenen Wirkung, insbesondere Octylphenole, liegen weder Daten über ihre Eintragsmenge noch über ihr Auftreten in der Umwelt vor.

5.1.3 Phthalsäureester in Kläranlagenabläufen

Der Eintrag der Phthalate in die Umwelt geschieht hauptsächlich durch Emissionen aus Verarbeitung und Verwendung der Produkte als auch bei Herstellung und Entsorgung. Bei Produktions- und Verarbeitungsprozessen sowie bei der Verbrennung weich gemachter Gegenstände herrschen meist Temperaturen über 150°C, so daß durch Verdampfung ein signifikanter Eintrag in die Atmosphäre

stattfindet. In der Nähe von Kunststoff verarbeitenden Betrieben werden daher Luftkonzentrationen von bis zu 10 mg/m^3 gemessen. Bei Gehalten von $0,4 \text{ ng/m}^3$ an DEHP (vgl. Kap. 3.1.4) in atlantischer Luft kann mittlerweile von einer Ubiquität (Allgegenwart) dieser Verbindungen auf unserem Planeten gesprochen werden. Der Haupteintragsweg für Phthalate in die aquatische Umwelt stellt daher auch trockene und nasse Deposition aus der Luft dar.

Phthalate sind nur mäßig wasserlöslich (DEHP $0,3 \text{ mg/L}$, BBP $2,7 \text{ mg/L}$, DBP $11,2 \text{ mg/L}$), jedoch stark lipophil (DEHP $\log K_{\text{OW}}=5,11$, BBP $\log K_{\text{OW}}=4,9$, DBP $\log K_{\text{OW}}=4,7$). Daher werden sie bevorzugt an Sediment- und Schwebstoffpartikel adsorbiert und zeigen auch eine Tendenz zur Bioakkumulation in aquatischen Lebewesen. Die Biokonzentrationsfaktoren für DEHP und BBP liegen in Fischen zwischen 100 und 1000, während DBP rasch zu Monobutylphthalat metabolisiert und ausgeschieden wird.

DEHP wird unter aeroben Bedingungen z. B. im Belebtschlamm rasch degradiert, in Flüssen beträgt seine Halbwertszeit 2 - 3 Wochen. Unter anaeroben Bedingungen im Sediment findet jedoch kein Abbau statt. BBP und DBP sind weniger stabil und werden im Flußwasser innerhalb weniger Tage abgebaut.

Phthalate werden seit den 70er Jahren regelmäßig in Oberflächengewässern, Sediment und Schwebpartikeln in ganz Europa detektiert. Probleme bei der Spurenanalytik dieser Verbindungsklasse bereitet die Allgegenwart der wichtigsten Vertreter wie DEHP, BBP und DBP, die einen deutlichen Blindwert selbst in hochreinen Lösemitteln verursacht.

Aktuellere Meßdaten liegen für Baden-Württemberg aus dem Jahre 1998 vor. Außerdem wurden Daten für Hessen bzw. NRW im Rahmen der UBA-Studie 1997 zusammengetragen:

- In Baden-Württemberg wurden 1998 BBP und DBP in Ausläufen von fünf Kläranlagen (Mühlhausen, Ditzingen, Möhringen, Eglosheim, Popenweiler) untersucht (Spengler et al., 1999). Die bestimmten Gehalte lagen für DBP zwischen 380 und 1010 ng/L und für BBP zwischen 100 und 280 ng/L .
- In Hessen wurden 1992 in Rhein, Neckar, Main, Lahn, Werra und Fulda DEHP und DBP in Maximalkonzentrationen von $0,4$ bzw. $0,7 \text{ µg/L}$ gefunden, wobei die Bestimmungsgrenze von $0,1 \text{ µg/L}$ meist überschritten wurde.

- In NRW fanden 1991/92 Untersuchungen des Rheins und der Weser statt. Dabei konnte DEHP in Konzentrationen von 0,1 - 10,3 µg/L und DBP von 0,05 - 1,3 µg/L nachgewiesen werden. BBP wurde in der Weser gar nicht, im Rhein jedoch in einem Viertel aller Proben mit Gehalten bis zu 13,9 µg/L gefunden.
- In allen Schwebstoffproben des Rheins war DEHP mit bis zu 282 mg/kg TS und DBP mit bis zu 40 mg/kg enthalten. BBP wurde nur vereinzelt mit einer maximalen Belastung von 28,4 mg/kg gefunden.
- DEHP und DBP wurden in allen Sedimentproben aus Weser und Rhein in Konzentrationen von 0,1 - 20,8 mg/kg bzw. 0,03 - 9,1 mg/kg TS nachgewiesen. Dahingegen konnte BBP nur in wenigen Sedimenten des Rheins mit bis zu 0,32 mg/kg bestimmt werden.

Eine gute Übersicht über die derzeitigen Gehalte europäischer Fließgewässer liefert ein EPCI-Report (EPCI, 1996).

5.1.4 Biphenyle

5.1.4.1 Polychlorierte Biphenyle (PCBs)

Für die Gruppe der PCBs wurde 1983 ein internationales Anwendungs- und Produktionsverbots erlassen. Durch unsachgemäße Entsorgung alter Produktionsanlagen und PCB-haltiger Geräte bzw. deren Defekte gelangten rund ein Drittel der in Verkehr gebrachten PCBs in die Umwelt. Trotz des Produktionsstops sind zwei Drittel aller PCBs noch immer in Transformatoren und anderen elektrischen Einrichtungen vorhanden. Die im Betrieb befindlichen PCB-haltigen Anlagen und Geräte stellen daher auch weiterhin eine große Quelle für Einträge in die Stoffkreisläufe der Erde dar. Des weiteren bilden Mülldeponien, Klärschlämme oder Flußsedimente Depots für PCBs, aus denen ein langsamer Eintrag über Jahrzehnte hinaus erfolgen kann.

PCBs gehören in Bezug auf Toxizität, Bioakkumulation in Flora und Fauna und Transportverhalten zwischen den Umweltkompartimenten zu den am besten untersuchten Verbindungsklassen. Niedrig chlorierte Kongenere (unter fünf Cl-Atome) können unter aeroben Bedingungen von Mikroorganismen abgebaut werden, während ein abiotischer Abbau keine Rolle spielt. Von Säugetieren werden für eine Eliminierung von Tetra- bis Heptachlorbiphenylen aus dem Fettgewebe Halbwertszeiten von einem bis zehn Jahre angegeben, während höherchlorierte Biphenyle überhaupt nicht mehr metabolisiert werden. Fische sind zu einem solchen Metabolismus weitaus weniger befähigt und konservieren die einmal aufgenommene

Schadstoffmenge nahezu vollständig über ihre gesamte Lebensdauer. Die Thematik der Bioakkumulation von Organohalogenverbindungen wird in einem anderen Arbeitsbericht ausführlich behandelt (Janda et al., 1999).

Die Wasserlöslichkeit der PCBs nimmt mit zunehmendem Chlorierungsgrad ab und liegt zwischen 0,1 µg/L und 6 mg/L. Ein analoger Verlauf ist auch bei der Lipophilie zu beobachten, was sich in den Oktanol-Wasser-Verteilungskoeffizienten bemerkbar macht ($\log K_{OW} \approx 4,5$ bis 10). Aufgrund der hohen Persistenz und ausgeprägten Lipophilie erfolgt eine Akkumulation im Sediment oder im Fettgewebe aquatischer Lebewesen. Bei am Ende der Nahrungskette befindlichen Tierpopulationen wie Robben oder Eisbären konnten Anreicherungsfaktoren für PCBs von über 300.000.000 gegenüber den Gehalten im Wasser ermittelt werden. Zur routinemäßigen Erfassung der PCB-Belastung werden meist nur sechs der möglichen 209 Kongenere gemessen, die PCBs 28, 52, 101, 138, 153 und 180. Hierbei werden nur zwei östrogen aktive Kongenere, PCB 52 und PCB 153 erfaßt, von den koplanaren, antiöstrogenen Kongeneren kein einziges.

Die aktuellsten Daten zur Belastung der aquatischen Umwelt in Deutschland mit PCBs stammen aus den Jahren 1992 bis 1996 und sind im Rahmen der Studie des Umweltbundesamt (UBA, 1997) zusammengetragen worden:

Oberflächengewässer

- In mehreren Bundesländern erfolgten zwischen 1992 und 1994 u. a. Untersuchungen von Rhein, Donau, Main, Inn, Spree und Havel auf die oben genannten sechs Indikator-PCBs. Die Bestimmungsgrenzen (BG) der hier eingesetzten analytischen Routineverfahren lagen mit 10 - 50 ng/L jedoch relativ hoch, so daß nur vereinzelt die PCB 138 und PCB 153 in Brandenburg nachgewiesen werden konnten. Die Werte für Baden-Württemberg lagen stets unter der BG von 10 ng/L.
- Im Auftrag des UBA wurden 1994 an 48 LAWA-Meßstellen u. a. in Baden-Württemberg Wasserproben auf PCBs analysiert. Lediglich die PCBs 52 und 153 waren an neun bzw. 17 Stationen mit maximal 10 ng/L bestimmbar.
- Bei der BG von 1 ng/L wurden in Schleswig-Holstein Fließgewässer untersucht. Die PCBs 28, 138, 153 und 180 konnten in keiner Probe nachgewiesen werden. Die PCBs 52 und 101 traten in einigen Proben mit Maximalwerten von 2,4 ng/L bzw. 1,3 ng/L auf.
- 1995 wurden in Thüringen 31 Flüsse an 64 Meßstellen beprobt. Bei einer BG von 500 pg/L konnten die PCBs 52 und 180 in keinem Fall, die PCBs 101 und 138 nur ein- bzw. zweimal und PCB 28 mit maximal 32 ng/L in 13 Proben bestimmt werden. PCB 153 war mit bis zu 29 ng/L am häufigsten in der Hälfte aller Fälle vertreten.

Schwebstoffe

- Für Baden-Württemberg liegen keine eigenen aktuellen Daten z. B. für Donau oder Neckar vor. Die Gehalte dürften sich aber im Bereich der anderen deutschen Fließgewässer bewegen.
- In mehreren hessischen Flüssen wurden 1995 Schwebstoffe bei einer BG von 1 µg/kg TS untersucht. Die PCBs 101, 138, 153 und 180 waren in allen, die PCBs 28 und 52 in nahezu allen Proben nachzuweisen. Dabei traten die höherchlorierten Verbindungen stets in größeren Konzentrationen (bis 165 µg/kg TS) als die niedrig chlorierten (bis zu 29 µg/kg TS) auf.
- In Rhein, Mosel und Saar konnten alle sechs Indikator-PCBs 1994/95 in allen Messungen gefunden werden. Die Gehalte lagen im Bereich von 15,3 - 47,3 µg/kg TS.
- Die IKSr untersuchte Schwebeteilchenproben des Rhein und der Mosel 1993. An allen Stellen konnten alle sechs PCBs bestimmt werden. Die höchsten Werte mit 28 µg/kg TS für PCB 138 und von 30 µg/kg TS für PCB 153 wurden in der Mosel gemessen.

Sediment

- Sedimente des Mains unterhalb von Frankfurt enthielten 1992 die sechs PCBs in Konzentrationen von 3 - 80 µg/kg TS, wobei lokal große Unterschiede in den relativen Anteilen der PCBs zueinander festgestellt wurden.
- An 103 Meßstellen in Niedersachsen wurden die hochchlorierten PCBs 1992 in fast allen Sedimentproben bei der BG von 0,1 µg/kg TS gefunden, die PCBs 28 und 52 jedoch nur in 80 bzw. 60 % aller Fälle.
- Sedimente der Elbe und ihrer Nebenflüsse wurden von 1992 bis 1994 beprobt. PCB 153 war dabei an 20 von 23 Meßstellen mit bis zu 30,5 µg/kg TS enthalten, das niedriger chlorierte PCB 53 dagegen nur in 10 der 23 Proben mit bis zu 19,9 µg/kg TS. Die maximale Summenbelastung der sechs Kongenere erreichte dabei 50 µg/kg TS.

5.1.4.2 Hydroxybiphenyle (Phenylphenole)

Im Gegensatz zu den PCBs liegen für die mono- und dihydroxylierten Biphenyle keinerlei Daten über Eintrag, Vorkommen und Verbleib in der Umwelt vor.

5.1.5 Polychlorierte Terphenyle (PCTs)

In Bezug auf ihr Umweltverhalten sind die PCTs den ubiquitär verbreiteten PCBs ähnlich. Alle Kenntnisse über PCTs sind von der WHO in den "Environmental Health Criteria 140" zusammengefaßt worden (WHO, 1993). Über den Einsatz, den Verbleib und den Gehalt der PCTs in der Umwelt Deutschlands sind keinerlei Angaben verfügbar.

5.1.6 1,1-Diphenylethane

5.1.6.1 DDT und Derivate

Mit dem großflächigen Ausbringen gelangten vor allem p,p'-DDT und o,p'-DDT, aber auch die Isomere des DDD und DDE in die Umwelt. Die 1,1-Diphenylethane sind nur schlecht wasserlöslich (p,p'-DDT 3,4 µg/L). Ihre ausgeprägte Lipophilie äußert sich auch in den großen logK_{OW}-Werten (Oktanol-Wasser-Verteilungskoeffizienten), die sich zwischen 4,73 (DDD) und 6,91 (DDT) bewegen. DDT und seine Metaboliten reichern sich daher an der Spitze der Nahrungspyramide stark im Fettgewebe der Tiere und Menschen an, wobei es zu Biokonzentrationsfaktoren (BCF) von über 1.000.000 kommen kann. Diese Verbindungen adsorbieren aus dem selben Grund stark an Sediment-, Boden- oder Schwebstoffpartikel. Die Bodensorptionskonstanten logK_{OC} liegen im Bereich von 4,8 bis 6,2.

p,p'-DDT wird im Organismus von Säugetieren durch Abspaltung von HCl zu p,p'-DDE metabolisiert oder zu p,p'-DDD dechloriert. Letzteres kann zur analogen Essigsäure p,p'-DDA oxidiert und anschließend leicht ausgeschieden werden. Das wesentlich stabilere p,p'-DDE kann nur durch Ringhydroxylierung metabolisiert werden und wird daher nur sehr langsam aus dem Körper eliminiert. Nach Ende der Exposition nimmt daher innerhalb der Nahrungskette der Anteil von DDE an der Gesamtbelastung mit Diphenylethanen zu. Fische sind zu diesem Metabolismus nur beschränkt in der Lage. Die gefundenen Metaboliten des DDT bei Fischen - p,p'-DDE und p,p'-DDD - können auch durch mikrobielle Aktivität entstanden sein. Allgemein weisen DDT und besonders seine noch persistenteren Metaboliten DDE und DDD einen sehr langsamen Bioabbau durch Mikroorganismen auf. Die Halbwertszeiten von p,p'-DDT in Sediment und Boden werden mit 3 - 20 Jahren angegeben. Daher stellen diese Kompartimente ein Langzeitdepot für persistente, lipophile Verbindungen dar. Die Bioakkumulationstendenz von DDE und DDT in Lebewesen dieser und angrenzender Lebensräume ist ebenfalls sehr hoch.

Über das Verhalten und Vorkommen der sechs wesentlichen DDT-Metaboliten in Fauna und Flora liegen detaillierte Studien vor, die von der WHO zusammengefaßt wurden (WHO, 1989). Auch das Vorkommen dieser Verbindungen in deutschen Oberflächengewässern wurde in den 80er Jahren intensiv untersucht (Götz et al., 1990). Aktuellere Daten ab 1992 sind im Rahmen einer Länderumfrage des Umweltbundesamtes u. a. auch aus Baden-Württemberg (UBA, 1997) zusammengetragen worden.

Oberflächengewässer

- Im Rhein, Neckar, Main, Donau und Inn konnten 1992/94 bei einer Bestimmungsgrenze (BG) von 10 - 50 ng/L weder DDT noch einer seiner Metaboliten nachgewiesen werden.
- Das Elbwasser wurde 1993 bei einer BG von 1 ng/L ober- und unterhalb des Hamburger Hafens analysiert. Während o,p'-DDE in keiner Probe gefunden wurde, war o,p'-DDT und p,p'-DDT in über 50 % der Fälle vertreten.
- In Nordrhein-Westfalen ergaben 1994 Untersuchungen von Rhein, Sieg, Wupper und Ruhr bei einer BG von 10 ng/L weitaus höhere Gehalte. o,p'- und p,p'-DDT, DDE und DDD waren mit Spitzenwerten über 200 ng/l an allen sieben Meßstellen nachzuweisen.
- Spree, Elster und Havel waren 1994 Ziel monatlicher Analysen des Flußwassers. Bei der BG von 10 ng/L konnte p,p'-DDT nicht, p,p'-DDE und DDD nur vereinzelt bestimmt werden. Im Herbst traten jedoch in Spree und Elster sehr hohe Konzentrationen über 700 ng/L an p,p'-DDT auf. Im November 1994 konnten im Wasser der Havel sogar bis zu 1400 ng/L gemessen werden, was auf eine illegale Anwendung oder Entsorgung alter Bestände schließen läßt.

Schwebstoffe

- In Hessen wurden 1995 an 20 Meßstellen Proben der Schwebeteilchen genommen. Bei BG zwischen 1 und 5 µg/kg TS konnte o,p'-DDT als einziges nicht gefunden werden. Dagegen waren mit unterschiedlicher Häufigkeit die übrigen Metaboliten mit folgenden Maximalwerten vertreten: o,p'-DDE (4 µg/kg TS), o,p'-DDD (85 µg/kg TS), p,p'-DDT (88 µg/kg TS), p,p'-DDE (68 µg/kg TS), p,p'-DDD (195 µg/kg TS)
- Die ARGE Elbe maß 1993 an acht verschiedenen Stellen, wobei die höchste Belastung bei Magdeburg auftrat und bis Cuxhaven deutlich abnahm. p,p'-DDT war mit Maximalkonzentrationen von 980 µg/kg TS stets stärker vertreten als o,p'-DDT (max. 503 µg/kg TS), o,p'-DDD (max. 242 µg/kg TS), p,p'-DDD (max. 443 µg/kg TS) und p,p'-DDE (max. 90 µg/kg TS).
- Messungen des Rheins 1994 ergaben deutlich niedrigere Belastungen als in der Elbe. Wiederum war p,p'-DDT mit maximal 96 µg/kg TS am häufigsten enthalten, gefolgt von o,p'-DDT (29 µg/kg TS) und p,p'-DDE (16 µg/kg TS).

Sediment

- Von 103 Meßstellen wurden 1992 Sedimentproben mehrerer Flüsse in Niedersachsen auf die DDT-Metaboliten untersucht. Zumeist konnten alle sechs Verbindungen über der BG von 0,1 µg/kg TS nachgewiesen werden. Höhere Belastungen über 10 µg/kg TS traten jedoch nur selten auf.
- Auch das Sediment der Elbe und ihrer Nebenläufe enthielt 1992 wie schon bei den Schwebstoffen höhere Gehalte als z. B. der Rhein. Die Gehalte der Metaboliten lagen im oberen Bereich der Elbe stets über 10 µg/kg TS. An zwei Meßstellen in den neuen Bundesländern (Schmilka/Elbe und Trebsen/Mulde) lag die Konzentration von p,p'-DDT viel höher als jene der Abbauprodukte DDE und DDD. Da technisches DDT bis 1989 in der ehemaligen DDR als Pestizid zugelassen war, darf auf eine Immission aus jüngerer Vergangenheit geschlossen werden.

5.1.6.2 Methoxychlor und Derivate

Das Verteilungsverhalten und der Abbau von Methoxychlor in der Umwelt sind relativ genau bekannt (Howard et al., 1991). Es ist nur gering wasserlöslich (0,045 mg/L), stark lipophil ($\log K_{OW}=4,68 - 5,08$) und adsorbiert etwas weniger stark an organisches Material als DDT ($\log K_{OC}=2,8 - 5,10$). In der Umwelt wird p,p'-Methoxychlor vorwiegend im Sediment unter anaeroben Bedingungen durch Mikroorganismen zu MDDE (1,1-Dichlor-2,2-bis(4-hydroxy)ethylen) dechloriert und in Mono- bzw. Bis-OH-Methoxychlor umgewandelt. Die Halbwertszeit beträgt hierfür unter vier Wochen. Analoge Produkte entstehen ebenfalls im Stoffwechsel von Säugetieren und Fischen, weshalb Methoxychlor in aquatischen Lebewesen kaum bioakkumuliert.

In Baden-Württemberg wurden 1992 - 1994 an LAWA-Meßstellen Oberflächengewässer auf p,p'-Methoxychlor untersucht. Die Gehalte lagen dabei stets unter der Nachweisgrenze von 50 ng/L des eingesetzten Analysenverfahrens, welches als nicht besonders empfindlich anzusehen ist. Auch in anderen Bundesländern konnte in Flüssen auch mit besseren Nachweisgrenzen von bis zu 0,6 ng/L Methoxychlor nur an einer einzigen Stelle mit 1 ng/L gefunden werden.

Über Gehalte in Sediment- oder Schwebstoffproben liegen für Baden-Württemberg keine Meßdaten vor. In Bremen konnte in keiner von 200 Sedimentproben Methoxychlor bei einer BG von 2 µg/kg Trockengewicht gefunden werden.

Über das Vorkommen der östrogen aktiven Metaboliten des Methoxychlor liegen für die gesamte BRD keinerlei Informationen vor; das antiandrogen wirksame HPTE wird in Kap. 5.4 gesondert behandelt.

5.1.6.3 Bis-(hydroxyphenyl)-methane und Derivate

Trotz der hohen Produktionsmengen der Bisphenole, die allerdings in der Regel weiterverarbeitet werden, liegen erstaunlich wenige Informationen über deren Verhalten und Verbleib in der Umwelt vor. Die Wasserlöslichkeit von Bisphenol A (BPA) beträgt 120 mg/L. Dieser relativ hohe Wert spiegelt sich auch in der moderaten Lipophilie von BPA ($\log K_{OW} = 3,32$) wieder. Ebenso ist die Adsorption an Sediment oder Boden nicht sehr stark ausgeprägt ($\log K_{OC} = 2,50 - 3,18$).

Die Emission von Bisphenol A durch Migration des nicht umgesetzten Monomers aus Polycarbonaten und durch Recycling beträgt in Deutschland etwa drei Tonnen pro Jahr. Zusätzlich gelangt laut den Herstellern eine Tonne jährlich bei Produktion und Verwendung in die Umwelt. BPA wird im Wasser vorwiegend mikrobiell mit einer Halbwertszeit unter vier Tagen abgebaut, wobei 4-Hydroxybenzoesäure und 4-Hydroxyacetophenon die Hauptmetaboliten darstellen. Die Biokonzentrationsfaktoren für Fische liegen um den Faktor 100. Aufgrund des raschen Abbaus in der aquatischen Umwelt ist jedoch mit einer signifikanten Bioakkumulation nicht zu rechnen.

Über die Gehalte an Verbindungen der Bisphenolgruppe in deutschen Oberflächengewässern, im Sediment oder an Schwebpartikeln lagen bis vor kurzem keine quantitativen Meßdaten vor. Dasselbe gilt für die hydroxylierten und methoxylierten Benzophenone.

Erst als sich die Verdachtsmomente des östrogenen Potentials erhärteten, wurde BPA erstmals in Oberflächengewässern analysiert. Im Auftrag des Umweltministeriums des Landes Baden-Württemberg wurde eine Studie zur Untersuchung östrogen aktiver Verbindungen in fünf Kläranlagenabläufen durchgeführt. Die mittleren Konzentrationen für BPA lagen dabei im Bereich von 38 ng/L (Poppenweiler) bis 126 ng/L (Ditzingen) (Spengler et al., 1999).

Aus anderen europäischen Ländern werden ebenfalls erste Gehalte in Oberflächengewässern angegeben, die im Bereich unter 200 ng/L liegen (Belfroid et al., 1999).

5.1.7 1,2-Diphenylethane, 1,2-Diphenylethene und 1,3-Diphenylpropane

In den 30er und 40er Jahren sind weit über 100 Verbindungen aus der Gruppe der 1,2-Diphenylethane, 1,2-Diphenylethene und 1,3-Diphenylpropane auf der Suche nach pharmazeutisch interessanten Östrogenen vor allem von Dodds et al. synthetisiert worden. Der überwiegende Teil davon wurde jedoch nur zur Untersuchung der Zusammenhänge zwischen Struktur und Aktivität verwendet und nie in relevanten Mengen produziert. Lediglich Diethylstilböstrol (DES) und Hexestrol haben Einzug in die Human- und Veterinärmedizin gefunden. Bei den Söhnen und Töchtern der mit DES in den 60er Jahren behandelten Patientinnen kam es nach der Pubertät zu einer Häufung von Mißbildungen der Genitalien und seltenen Krebsarten.

DES wird aber zuweilen noch immer als illegales Wachstumshormon in der Masttierhaltung v. a. in den USA verabreicht. Ein Eintrag in die aquatische Umwelt nach der Ausscheidung und Aufbereitung des Abwassers in Kläranlagen ist somit analog zu den endogenen Steroidhormonen wahrscheinlich, aber, wenn überhaupt, auf kleine lokale Immissionen beschränkt.

5.1.8 Triphenylmethane

Die meisten Vertreter dieser Verbindungsklasse wurden ebenfalls in den 30er Jahren auf der Suche nach Östrogenen synthetisiert und haben keine Bedeutung erlangt. Die am stärksten östrogen wirksame Verbindung, das Bis-(4-hydroxyphenyl)[2-(phenoxy-sulfonyl)phenyl]methan, ist jedoch als Verunreinigung in technischem Phenolsulfonphthalein, besser bekannt unter dem Namen Phenolrot, enthalten. Phenolrot wird ebenso wie Phenolphthalein als wasserlöslicher pH-Indikator verwendet. Daneben kommt es pharmazeutisch als Abführmittel zur Anwendung. Auch über diese Verbindungsklasse existieren keine Daten zu Eintrag, Gehalt, Persistenz und Verbleib in der Umwelt.

5.1.9 Triphenylethene

Da keine der synthetisierten Verbindungen therapeutischen Einsatz gefunden hat, ist diese Substanzklasse in der Umwelt nicht von Bedeutung.

5.1.10 Diphenylether

4,4'-Dihydroxydiphenylether ist nach der EG-Richtlinie 90/128/EWG als Ausgangsmaterial für die Herstellung von Lebensmittelverpackungen ohne Festlegung eines Migrationwertes zugelassen. Über das Auftreten, das Verhalten und den Verbleib der beiden östrogen wirksamen Diphenylether in der Umwelt sind keinerlei Angaben erhältlich.

5.1.11 Polyzyklische aromatische Kohlenwasserstoffe (PAK)

Polyzyklische aromatische Kohlenwasserstoffe (PAK) sind ubiquitär in der Umwelt verbreitet. Sie entstehen in erster Linie bei der unvollständigen Verbrennung fossiler Brennstoffe, aber auch natürliche Vorgänge wie Waldbrände oder Vulkaneruptionen sorgen für einen permanenten geogenen Hintergrund. PAK sind auch in Abgasen aus Verbrennungsmotoren und Kohlekraftwerken, in Altöl, im Zigarettenrauch, in Teer oder Teeröl sowie in Bitumen und Asphalt enthalten.

Freie PAK in der Luft werden meist an Partikel adsorbiert und gelangen durch Sedimentation oder Regenwasser auf die Erdoberfläche. Nach einer feuchten bzw. trockenen Deposition erfolgt der Eintrag von PAK in Oberflächengewässer durch die Abwaschung von Straßen, Dächern und anderen Flächen. Das Umweltverhalten der PAK ist hinreichend charakterisiert und in der Literatur übersichtlich zusammengestellt worden (Koch et al., 1989; IRAC, 1983).

Allgemein sinkt die Wasserlöslichkeit mit der Anzahl der Benzolringe im Molekül (Naphthalin 30 mg/L; Benzo(g,h,i)perylen 0,26 µg/L), während die Lipophilie steigt (Naphthalin $\log K_{OW}=3,37$; Benzo(g,h,i)perylen $\log K_{OW}=7,23$). Als Leitsubstanz für das Verhalten im wässrigen Milieu wird für gewöhnlich Benzo(a)pyren ($\log K_{OW}=6,04$) betrachtet. Anhand dieser Verteilungskoeffizienten wird deutlich, daß PAK bevorzugt an Partikel gebunden oder im Sediment zu finden sind.

Der biotische aerobe Abbau durch Bakterien oder Pilze findet bevorzugt im Sediment statt, während ein anaerober Abbau nicht möglich ist. Die Halbwertszeit für Benzo(a)pyren wird im Sediment mit Werten zwischen 60 und 400 Tagen

angegeben. Von Säugetieren werden PAK jedoch schneller metabolisiert, wobei ebenfalls ausscheidbare Oxidationsprodukte wie Epoxide, Phenole, Chinone etc. entstehen.

Aufgrund der hohen Lipophilie akkumulieren PAK im Fettgewebe von Fischen und Säugetieren. Für Benzo(a)pyren wurden Biokonzentrationsfaktoren bis 2.700 in Fischen ermittelt. Höhere Faktoren werden innerhalb der Nahrungskette durch den relativ raschen Metabolismus nicht erreicht.

Im Rahmen der ständigen Kontrolle des Trinkwassers werden sechs PAK - Fluoranthen, Benzo(b)fluoranthen, Benzo(f)fluoranthen, Benzo(a)pyren (BaP), Indeno(1,2,3-c,d)pyren und Benzo(g,h,i)perylen - routinemäßig entsprechend der Trinkwasserverordnung (TVO) bestimmt. Der maximale Gesamtwert dieser sechs PAK darf dabei 200 ng/L nicht übersteigen. In einem anderen Test nach der US-Umweltbehörde EPA werden zusätzlich weitere zehn PAK bestimmt, worunter sich auch das antiöstrogen wirksame Benz(a)anthracen (BaA) befindet.

In Deutschland wurden in den letzten Jahren mehrere **Fließgewässer** auf die sechs TVO-PAK bzw. die 16 EPA-PAK untersucht:

- In der Elbe bei Hamburg wurden 1993 Einzelkonzentrationen an BaP von 4 - 16 ng/L, an BaA von 2 - 15 ng/L gefunden. Die Gesamtkonzentration der TVO-PAK betrug bis zu 128 ng/L, die der EPA-PAK maximal 238 ng/L.
- In Sachsen-Anhalt und Thüringen wurden 1995 Wasserproben mehrerer Fließgewässer analysiert. In der Regel lagen die gefundenen Konzentrationen für BaP und BaA unter 20 ng/L. Als besonders hoch belastet zeigte sich die Pleiße in Thüringen, wo die TVO-PAK den Summengrenzwert von 200 ng/L überschritten.

Ziel zahlreicher Untersuchungen auf PAK waren ebenfalls die **Schwebpartikel** mehrerer Flüsse in Deutschland:

- 1994 und 1995 wurden Schwebstoffe aus dem Rhein, der Mosel und der Saar analysiert. Die Belastung der Mosel und Saar war an TVO-PAK mit 2,4 - 5,4 mg/kg TS höher als im Rhein mit 1,3 - 2,2 mg/kg.
- Von 12 LAWA-Meßstellen in Hessen, Nordrhein-Westfalen und dem Saarland wurden 1994 Gehalte im Schwebstoff gemessen. BaP und BaA waren immer in Bereichen von 105 - 1260 µg/kg bzw. 144 - 1431 µg/kg Trockensubstanz vorhanden.

Analoge Analysendaten wurden auch von **Sedimenten** deutscher Flüsse gesammelt:

- Bei Untersuchungen baden-württembergischer und hessischer Flüsse konnten 1991 bis 1994 die TVO-PAK Gesamtkonzentrationen in Main, Neckar, Rodau, Lahn und Dill im Bereich von 0,6 bis 10,6 mg/kg TS gefunden werden.

- In Hamburg wurden die Sedimente der Elbe und weiterer innerstädtischer Gewässer 1995 analysiert. Während die Elbe Konzentrationen an EPA-PAK von 0,4 - 2,0 mg/kg TS aufwies, waren Hafengewässer mit Spitzenwerten von 600 mg/kg TS deutlich höher belastet.
- Die Sedimente der Weser und weiterer Kleingewässer im Bremer Raum waren Ziel einer Probenreihe, die 1994 durchgeführt wurde. Meist lag die Gesamtbelastung an EPA-PAK bei 0,3 - 6,0 mg/kg, wovon der Anteil an BaP bzw. BaA zwischen 25 und 850 µg/kg TS lag.

5.1.12 Naphthole

Über die Produktion, die Verwendung und ein Vorkommen der in Kap. 2.1 als östrogen wirksam angeführten Naphthole in der Umwelt sind kaum Daten zugänglich. Lediglich vom 2-Naphthol ist bekannt, daß bis zu seinem Produktionsstop 1992 von der Hoechst AG jährlich etwa 60 t ins Abwasser abgegeben wurden. 2-Naphthol ist mit 0,5 - 0,9 mg/L bedingt wasserlöslich und zeigt nur geringe Lipophilie ($\log K_{OW}=2,84$). Da es im Belebtschlamm einer Kläranlage leicht abgebaut wird, ist eine Bioakkumulation nicht zu erwarten. Weitreichendere Daten zum Umweltverhalten der anderen Naphthole liegen nach dem derzeitigen Kenntnisstand nicht vor, ebenso wie Informationen zu Gehalten in den Umweltmedien.

5.1.13 Phenylsiloxane

Die meisten methylierten Cyclosiloxane sind leichtflüchtige, niedrigviskose Öle. In den USA werden jährlich über 150.000 t mit steigender Tendenz produziert. Im Allgemeinen werden die als umweltfreundliche Ersatzstoffe für flüchtige Organochlorverbindungen angesehenen Siloxane als Vorstufen zur Synthese höhermolekularer Silikone verwendet. Aufgrund der geringen Wasserlöslichkeit und hohen Flüchtigkeit verteilen sie sich bevorzugt in der Atmosphäre, während die zu erwartenden Gehalte in Wasser und Sediment niedrig sind.

Neueste Untersuchungen der Abbauege im Boden ergaben, daß die Cyclosiloxane in mehrstufigen Reaktionen unter Ringspaltung hydrolysiert werden. Dabei entsteht je nach Wassergehalt innerhalb von wenigen Stunden über mehrere Intermediate als Endprodukt Dimethylsilandiol (DMSD) (Shihe et al., 1999). Eine signifikante Lebensdauer in Oberflächengewässern ist daher nicht zu erwarten. Es liegen keine Angaben oder Meßdaten über das Auftreten und die Persistenz von Methylsiloxanen und Phenylmethylsiloxanen in der Umwelt Deutschlands vor.

5.1.14 Chlorierte Cyclodiene und Camphene

Alle Vertreter dieser Pestizidklassen sind sehr stabil und können noch Jahrzehnte nach dem Stop ihres Eintrags in vielen Umweltkompartimenten und Organismen nachgewiesen werden. Während das Ausbringen von Aldrin, Dieldrin, Kepon und Chlordan seit 1988 in der BRD verboten ist, kommt Endosulfan im Pflanzenschutz noch immer zum Einsatz. Für die BRD und andere westliche Länder liegen teilweise detaillierte Informationen zum erfolgten Eintrag, der Schadwirkung und dem Umweltverhalten vor (WHO, 1989; Howard et al., 1991; Perkow et al., 1996).

Die Wasserlöslichkeit der Verbindungen ist gewöhnlich relativ gering. In 1 L Wasser lösen sich 0,5 mg Endosulfan, 0,17 mg Dieldrin, 0,1 mg Chlordan und 0,55 mg Toxaphen. Die Lipophilie erstreckt sich über mehrere Größenordnungen, liegt dabei aber stets in einem Bereich, der mittlere bis starke Tendenz zur Bioakkumulation oder Adsorption an Sediment und Schwebstoffe erwarten läßt. Die $\log K_{OW}$ -Werte werden zwischen 3,83 für α -Endosulfan bis 6,20 für Dieldrin angegeben. Im selben Bereich liegen die Bodensorptionskonstanten $\log K_{OC}$. Die Cyclodieninsektizide zeigen eine moderate bis teilweise außerordentliche Persistenz.

Endosulfan wird biotisch und abiotisch u. a. zu Endosulfandiol abgebaut, wodurch sich in der aquatischen Umwelt Halbwertszeiten von 4 - 7 Tagen ergeben. In Säugetieren und Fischen kann der Metabolismus mit anschließender Ausscheidung noch rascher verlaufen. Bei anhaltender Exposition kommt es aufgrund der Lipophilie bei Fischen jedoch zu Biokonzentrationsfaktoren (BCF) von bis zu 3.000.

Als wesentlich persistenter hat sich Dieldrin erwiesen. Es wird biotisch oder abiotisch kaum hydrolysiert, weshalb seine Halbwertszeit in Wasser über vier Jahre beträgt. In Fischen wurden für die stark lipophile Verbindung BCF von über 50.000 ermittelt. Ähnliche Stabilität in wäßrigem Milieu und im Boden besitzt auch Chlordan. Nur in der Gasphase erfolgt ein relativ schneller Umsatz durch Photoreaktionen. Der Hauptteil des atmosphärischen Chlordans ist jedoch an Partikel adsorbiert und dem Photoabbau nicht zugänglich. Experimentell wurden BCF in Bewohnern aquatischer Lebensräume von bis zu 38.000 ermittelt. Der Haupteintrag dieses Insektizids erfolgte während der 60er und 70er Jahre in den USA, wo es auch ausschließlich produziert wurde.

Toxaphen ist extrem persistent und kann nicht merklich abgebaut werden. Analog den PCBs wurde es an Partikel gebunden über den gesamten Globus verteilt und ist inzwischen ubiquitär vertreten. Als stark lipophiles Insektizid reichert es sich im Fettgewebe vieler Organismen an. In Fischen hat man experimentell BCF von 33.000 ermittelt.

Kepon und Mirex hatten für den Pflanzenschutz nur in den USA Bedeutung bzw. wurden in der BRD nicht zugelassen. Daher kann eine Exposition deutscher Oberflächengewässer, wenn überhaupt, nur durch atmosphärische Deposition erfolgt sein. Dieser Eintrag wurde bislang als so gering betrachtet, daß diese beiden Verbindungen niemals routinemäßig in Deutschland analysiert worden sind.

In der großen Länderumfrage sind 1997 die aktuellen Meßdaten deutscher Oberflächengewässer zusammengetragen worden (UBA, 1997):

Endosulfan

- Meßdaten aus Baden-Württemberg liegen für α - und β -Endosulfan aus dem Jahre 1992 vor. Bei einer Bestimmungsgrenze (BG) von 10 ng/L konnte in keinem Fließgewässer (Donau, Neckar, Rhein) Endosulfan nachgewiesen werden.
- In ca. 70 Wasserproben aus der Elbe und ihren Nebenläufen konnte 1989/90 nur in einer einzigen Probe Endosulfan über der BG von 5 ng/L ermittelt werden.
- Endosulfane in Schwebpartikeln wurden nur 1991 ebenfalls in der Elbe untersucht. Dabei waren in mehreren Proben α - und β -Endosulfan mit maximal 1 bzw. 12 $\mu\text{g/kg}$ TS enthalten.
- Die Gehalte des Sediments der Weser und ihrer Nebenflüsse wurden 1992 ermittelt. In 200 Proben wurde Endosulfan nur in zwei Fällen über der BG von 0,5 $\mu\text{g/kg}$ TS gefunden.
- In Niedersachsen lagen 1992 die Konzentrationen an α - und β -Endosulfan im Sediment in einem Zehntel der Proben über der BG von 0,1 $\mu\text{g/kg}$ TS.

Dieldrin

- In den neuen Bundesländern wurden 1995 in der Pleiße, Wipper, Saale und Weiße Elster in 10 % der Wasserproben Dieldrinkonzentrationen zwischen 10 und 20 ng/L gemessen.
- In der Weser konnte 1994 mit einer empfindlicheren Methode eine Konzentration von 200 $\mu\text{g/L}$ an einer Meßstelle ermittelt werden.
- In hessischen Flüssen konnte 1995 in den Schwebpartikeln in keinem Fall Dieldrin gefunden werden. Dagegen enthielten Schwebstoffe des Rhein 1994 Maximalwerte von 3 $\mu\text{g/kg}$ TS.
- Über Sedimentgehalte liegen keine Daten vor.

Chlordan

- Während in der Hochphase der Anwendung zu Beginn der 70er Jahre in den USA Wassergehalte von bis zu 1 µg/L auftraten, waren deutsche Fließgewässer weit weniger exponiert. Die letzten bekannten Messungen auf Chlordan wurden 1989/90 in der Elbe durchgeführt. Bei einer BG von 5 ng/L war Chlordan in keiner Wasserprobe nachzuweisen.
- Über Messungen von Chlordan in Sediment oder Schwebstoffen in Deutschland liegen keine Informationen vor.

Toxaphen

- Es liegen keine aktuellen Meßdaten aus den 90er Jahren von deutschen Gewässern vor.

5.1.15 Anisole

Über das Auftreten, das Verhalten und den Verbleib der östrogen wirksamen alkylierten Hydroxyanisole in der Umwelt sind keinerlei Angaben verfügbar.

5.1.16 Parabene

Aufgrund des breit gefächerten Einsatzes der Parabene in Körperpflegeprodukten ist neben einem direkten Eintrag in die aquatische Umwelt z. B. durch Baden in Flüssen und Seen v. a. ein Eintrag in kommunale Abwässer wahrscheinlich. Die Wasserlöslichkeit wird für Butylparaben mit bis zu 1 g/L angegeben, liegt also relativ hoch. Über die Eliminierbarkeit in Kläranlagen, die Stabilität und das Verhalten dieser Verbindungen in der Umwelt liegen keine Informationen vor. Der logK_{OW}-Wert liegt z. B. für Butylparaben bei 3,57. Eine Bioakkumulation ist daher selbst bei mittlerer Persistenz nicht in größeren Ausmaßen zu erwarten.

In Anbetracht des fehlenden Datenmaterials können keine Aussagen zum Auftreten, der Stabilität und dem Abbau der Parabene in Kläranlagen und der Umwelt gemacht werden.

5.1.17 Phytoöstrogene

Eine gewisse Grundbelastung aller Fließgewässer mit Phytoöstrogenen vom Typ des β -Sitosterol ist biogenen Ursprungs und stammt aus sich zersetzender, pflanzlicher Biomasse (Holz, Hopfen, Mais uvm.). Stumpf et al. haben 1996 neben 20 Kläranlagenausläufen u. a. auch die Flüsse Rhein, Nidda, Main, Lahn, Fulda und Ruhr sowie Trinkwasserproben auf β -Sitosterol untersucht. Mit einem Medianwert von 89 ng/L traten in den Abläufen der Klärwerke die höchsten Konzentrationen auf, was auf einem zusätzlichen Eintrag über die menschlichen Fäkalien beruhen mag.

In den angrenzenden Flüssen konnten immer noch Gehalte zwischen 20 und 56 ng/L detektiert werden. Erstaunlich waren die ähnlich hohen Konzentrationen zwischen 20 und 60 ng/L in einem Drittel aller Trinkwasserproben. Die Autoren vermuten einen Eintrag durch die natürlichen Reinigungsprozesse bei der Trinkwassergewinnung, in denen Filtrationsstufen mit biologischem Bewuchs oder Bodenpassagen durchlaufen werden.

Zum Vorkommen der weiteren Vertreter der Phytoöstrogene (Coumestran, Isoflavone, Lignane) sind keinerlei Informationen vorhanden.

5.2 Verbindungen mit antiöstrogener Wirkung

5.2.1 Polychlorierte Dibenzodioxine (PCDDs) und Dibenzofurane (PCDFs)

PCDDs und PCDFs sind auf unserem Planeten allgegenwärtig verbreitet. Schon bevor der Mensch mit der intensiven Nutzung fossiler Ressourcen begann, existierten geogene Einträge z. B. aus Waldbränden oder Vulkanausbrüchen. Jedoch übersteigt der anthropogene Eintrag durch den Menschen den geogenen mittlerweile um ein Vielfaches. Bei allen Prozessen entstehen immer Gemische verschiedener PCDD- und PCDF-Kongeneren, die teilweise typische Muster je nach Verbrennungstemperatur enthalten.

PCDD/Fs sind schwerflüchtige Verbindungen, die sich nur gering in Wasser lösen und dementsprechend eine hohe Lipophilie aufweisen. Wie bei den PCBs steigen Lipophilie und Dampfdruck mit dem Chlorierungsgrad, während im Gegenzug die Wasserlöslichkeit abnimmt. Die $\log K_{OW}$ -Werte überstreichen daher einen weiten Bereich von 4,5 für Monochlordibenzodioxin bis 12 für Oktachlordibenzodioxin. Auch die Bodensorptionskonstanten ($\log K_{OC}=6,4 - 8,5$) spiegeln die starke Tendenz wieder, an Partikel, Klärschlamm und Sediment zu adsorbieren.

Die höher chlorierten Kongeneren weisen eine außerordentliche Persistenz auf, weil ein Abbau der freien Moleküle nur photochemisch in der Atmosphäre erfolgen kann und diese Kongeneren fast ausschließlich an Partikel gebunden anzutreffen sind. Ein abiotischer Abbau spielt kaum eine Rolle. Ebenso erfolgt ein mikrobieller Abbau im Wasser mit Halbwertszeiten von über einem Jahr. Säugetiere und Fische metabolisieren PCDDs zu polareren Derivaten, die dann mehr oder weniger schnell ausgeschieden werden können. Die Geschwindigkeit variiert jedoch stark und ist spezies- und kongenerenspezifisch. Für das Seveso-Dioxin TCDD werden z. B. Halbwertszeiten zwischen 10 Tagen beim Hamster und 11 Jahren beim Menschen angegeben. Die hohe Persistenz und Lipophilie der PCDD/Fs führt zu einer starken Bioakkumulation innerhalb der Nahrungskette. Für Fische wurden BCF von bis zu 88.000 bestimmt.

Die aktuellsten Meßdaten zum Vorkommen einiger PCDD/Fs in deutschen Oberflächengewässern sind von Rippen et al. (1996) zusammengetragen worden. Weitere Meßdaten wurden im Rahmen der vom UBA durchgeführten Länderbefragung 1997 erhoben.

Fließgewässer

- 1990 wurden die Summengerhalte an PCDD/Fs in der Elbe bestimmt. Dabei traten Maximalkonzentrationen von 270 pg/L an freien, gelösten Kongeneren auf.

Schwebstoffe

- In derselben Untersuchung der Elbe wurden auch die Schwebstoffe untersucht. Gemäß den physikochemischen Eigenschaften lagen die PCDD/F-Gehalte mit bis zu 112 ng/kg TS im Verhältnis wesentlich höher als die gelösten Anteile.
- An 27 Meßstellen in Hessen wurden in den Jahren 1992 - 95 Schwebpartikel auf PCDD/Fs untersucht. In einem Großteil der Proben waren Summengerhalte über 10 ng/kg TS zu finden, wobei 2,3,7,8-TCDD mit maximal 2 ng/kg beteiligt war.

Sediment

- Sedimente von Rhein, Main und Fulda wurden zwischen 1992 und 1994 beprobt. Im Main wurden erhebliche Konzentrationen von bis zu 295 ng/kg TS an PCDD/Fs gefunden, von denen allein 2,3,7,8-TCDD bis zu 39 ng/kg ausmachte. Die Fulda zeigte sich mit bis 16 ng/kg Summenbelastung wesentlich sauberer, gefolgt vom Rhein mit maximal 46 ng/kg.
- In Niedersachsen wurde TCDD 1992 in keiner Probe gefunden, allerdings lag die BG mit 5 ng/kg TS relativ hoch. Die Summenbelastung betrug in der Regel unter 10 ng/kg TS.
- Elbsedimente des Hamburger Hafens waren 1992/93 mit bis zu 92 ng/kg TS an PCDD/F belastet. Oberhalb des Hafens lagen die Gehalte mit bis zu 169 ng/kg höher, unterhalb mit maximal 51 ng/kg niedriger.

5.2.2 Polychlorierte Biphenyle (PCBs)

Im Rahmen von Routineuntersuchungen werden neben den nicht-planaren Indikator PCBs 28, 52, 101, 138, 153 und 180 nur selten die koplanaren PCBs 77, 118, 126 und 169 mit antiöstrogenen Wirkung untersucht. Lediglich PCB 118 gehört hierunter zu den am häufigsten gefundenen Vertretern und wurde in allen Umweltkompartimenten und biologischen Geweben nachgewiesen. Die für die BRD aktuell verfügbaren Meßdaten beschränken sich weitestgehend auf Sediment- und Schwebstoffproben:

Fließgewässer

- Bei einer BG von 1 ng/L konnte 1995 PCB 118 in keinem untersuchten Fluß in Schleswig-Holstein gefunden werden. Ansonsten liegen keine Meßdaten aus anderen Bundesländern vor.

Schwebstoffe

- In den Jahren 1994/95 war PCB 118 in allen Schwebstoffproben aus Rhein, Mosel und Saar in Konzentrationen von 2 - 23 µg/kg TS enthalten.
- Mit einer empfindlichen Methode wurden 1994 die koplanaren PCBs 77, 126 und 169 bei einer BG von nur 1 ng/kg TS in allen Proben der Elbe bei Hamburg gefunden. Die Maximalwerte lagen dabei für PCB 77 bei 1025 ng/kg, für PCB 126 bei 98 ng/kg und für PCB 169 bei 26 ng/kg.
- In Hessen konnten 1995 bei der hohen BG von 1 µg/kg TS unter den PCBs 77, 126 und 169 nur PCB 77 im stark belasteten Schwarzbach mit maximal 5 µg/kg TS bestimmt werden.

Sediment

- Es liegen nur Daten aus dem Hamburger Hafen und den angrenzenden Flüssen aus dem Jahre 1993 vor. Bei der BG von 1 ng/kg TS wurden die PCBs 77, 126 und 169 in allen Sedimentproben bestimmt. Die Gesamtbelastung an den drei Kongeneren lag dabei aber stets unter 100 ng/kg TS.

5.2.3 Polyzyklische aromatische Kohlenwasserstoffe (PAK)

Von den drei als antiöstrogen wirksam identifizierten PAK Benzo(a)pyren, 7,12-Dimethyl-1,2-benzanthrazen und Methylcholanthren wird nur Benzo(a)pyren regelmäßig in Routineuntersuchungen von Umweltmatrizes analysiert. Die gefundenen Konzentrationen sind bereits in Kap. 5.1.11 zusammengestellt.

5.3 Verbindungen mit androgener Wirkung

5.3.1 Tributylzinnverbindungen (TBT)

Eine Reihe von Tributylzinnverbindungen sind als Biozide in Unterwasseranstrichen von Stahlkonstruktionen und Schiffsrümpfen enthalten. Hierbei werden vor allem Tributylzinnoxid, -chlorid, -fluorid, -benzoat, -linoleat und -naphthenat verwendet. TBT werden also hauptsächlich durch Auswaschen aus diesen Anstrichen, aber auch über kommunale Kläranlagen in Oberflächengewässer eingetragen (WHO, 1993). In der BRD ist seit 1990 die Verwendung aller TBT als Antifoulings für Boote unter 25 m Länge verboten, ebenso der Einsatz als Konservierungsmittel für Wasser in Kühlanlagen.

TBT dissoziieren in Wasser, abhängig u. a. vom pH-Wert, zu einem gewissen Teil in das TBT^+ -Kation und das entsprechende Anion. Das Kation kann mit anderen anwesenden Anionen rekombinieren und neue Verbindungen wie TBT-OH oder TBT-HCO_3 bilden. Die Wasserlöslichkeit ist daher stark abhängig von den anwesenden Anionen und deren Konzentration und liegt im Allgemeinen zwischen 1 und 200 mg/L. Die $\log K_{\text{OW}}$ -Werte werden im Bereich von 3,19 bis 4,10, abhängig vom pH-Wert, angegeben. Aufgrund der mäßigen Lipophilie adsorbieren TBT an Schwebstoff- und Sedimentpartikel. Für das Fettgewebe aquatischer Lebewesen wurden mittlere Biokonzentrationsfaktoren (Fische: 80 - 9400) gemessen.

In der Natur erfolgt der photolytische Abbau der gelösten TBT bei Halbwertszeiten von über drei Monaten nur sehr langsam, weil eine Lichtabsorption der kurzen Wellenlängen im Wasser zu ungünstigen Belichtungsverhältnissen führt. Daneben spielt der anaerobe und aerobe biotische Abbau zu Dibutyl- und Monobutylverbindungen eine wichtige Rolle. Im Sediment liegen die Halbwertszeiten v. a. in der anaeroben Schicht über einem Jahr. Vor und nach dem Verbot 1990 von TBT in Deutschland wurden im Auftrag des UBA in Yachthäfen und angrenzenden Binnengewässern Wasser und Sediment untersucht.

Wasser

- In den Jahren 1987 bis 1990 wurden Yachthäfen in Unterelbe, Wannsee, Tegelsee und Bodensee beprobt. Die TBT-Konzentration zeigte dabei eine deutliche saisonale Abhängigkeit. Während nach der Winterpause mit einem Mittelwert von 50 ng/L die geringsten Werte gemessen wurden, lag im Mai nach dem Einsetzen der frisch gestrichenen Boote der Median über 200 ng/L.
- 1989 wurden TBT im Wasser verschiedener Rheinhäfen (Mainz, Wiesbaden) im Bereich von 24 - 178 ng/L gefunden.

- Nach dem Verbot wurde 1996 vom Institut für Wasserforschung des Bayerischen Landesamts für Wasserwirtschaft eine Studie über TBT in bayerischen Flüssen angefertigt. Die TBT-Gehalte im Flußwasser von Main, Ebern, Lech und Sinn lagen dabei unter 3 ng/L, in Donau, Isar, Inn und Iller konnte 1997 kein TBT über der BG von 2 ng/L detektiert werden.

Schwebstoffe

- In Hessen wurden 1995 in 80 % aller Proben TBT über der BG von 8 µg/kg TS gefunden. Die Mittelwerte lagen dabei um 40 µg/kg TS.
- Im Rhein in Nordrhein-Westfalen lagen 1994 die Mittelwerte für TBT bei 28 µg/kg TS.

Sediment

- Im Rahmen der 1996 vom Institut für Wasserforschung des Bayerischen Landesamts für Wasserwirtschaft durchgeführten Studie wurden auch Sedimente mit einer BG von 10 µg/kg TS untersucht. Nur in drei Fällen lagen die Gehalte an TBT über der BG bei einer Maximalkonzentration von 23 µg/kg TS.
- In Niedersachsen wurden 1992 an 38 Meßstellen Sedimentproben untersucht. Die Konzentrationen lagen zumeist zwischen 20 und 100 µg/kg TS.
- Ebenfalls 1992 wurden die Elbe und ihre Nebenflüsse analysiert. Dabei waren die Sedimente der Spittelwasser mit 39 mg/kg TS an Zinn am höchsten belastet, während in der Elbe nur Gehalte bis 640 µg Zinn/kg TS gefunden wurden.

5.4 Verbindungen mit antiandrogener Wirkung

5.4.1 Phenylharnstoffe

Das Herbizid Linuron wird gegen Unkräuter im Wein-, Obst-, Gemüse- und Kartoffelanbau eingesetzt. Diuron hat eher im privaten und gewerblichen Bereich als Totalherbizid seine Anwendung, indem es mit bis zu 30 kg/ha auf Plätze, Wege und Gleisanlagen ausgebracht wird.

Linuron löst sich mit 75 mg/L moderat in Wasser. Sein Verhalten in der aquatischen Umwelt ist bisher nur lückenhaft untersucht worden. Bekannt sind lediglich seine Metaboliten 3,4-Dichloranilin, 1-(3,4-Dichlorphenyl)-3-methoxyharnstoff und 1-(3,4-Dichlorphenyl)-3-methylharnstoff, die durch mikrobiellen Abbau entstehen.

Diuron ist mit 42 mg/L ebenfalls mäßig wasserlöslich und mit $\log K_{OW} = 2,77$ schwach lipophil. Es adsorbiert an Partikel und ist im Boden und Sediment mit einer Halbwertszeit von über 300 Tagen recht persistent. Gelöst in Wasser wird Diuron langsam zu 3,4-Dichloranilin und 1-(3,4-Dichlorphenyl)-3-methylharnstoff abgebaut. Im Oberflächenwasser spielt auch photolytische Spaltung eine Rolle. Zur Bioakkumulation von Linuron und Diuron liegen keine experimentellen Daten vor, für Diuron wurde lediglich ein BCF von 75 abgeschätzt.

Gemäß ihrer Anwendung werden Diuron und Linuron in höheren Konzentrationen vor allem im Frühling und Sommer in vielen Oberflächengewässern gemessen.

Oberflächenwasser

- In den Jahren 1990 bis 1995 wurden regelmäßig Wasserproben deutscher Flüsse in mehreren Bundesländern überwacht. In Flüssen mit wenig Abfluss, z. B. in der Blumenthaler Aue bei Bremen, erreichten die Diurongehalte im Sommer Spitzenwerte von 2,2 µg/L. In Rhein, Ruhr, Main und Neckar lagen die Konzentrationen im Bereich von 50 - 360 ng/L deutlich niedriger.
- Die im Rahmen der Länderumfrage (UBA, 1997) gesammelten Daten zur Belastung deutscher Gewässer mit Linuron ergaben, daß bei einer BG zwischen 30 und 60 ng/L in der überwiegenden Zahl aller 700 Wasserproben Linuron nicht bestimmt werden konnte.
- Kommunale Abwässer sind im Sommer ebenfalls hoch belastet, da Diuron und Linuron mit dem Regen von Gleisen, Wegen etc. abgewaschen werden und mit dem Regenwasser in das Abwasser gelangen. 1994 wurden daher 188 Proben aus Kläranlagen untersucht, die in die Nidda münden. Diuron wurde mit einem Mittelwert von 680 ng/L in fast allen Proben gefunden, während Linuron nur in 17 Proben mit maximal 470 ng/L bestimmt wurde.

Informationen zur Untersuchungen von Schwebstoff- und Sedimentproben liegen nicht vor.

3,4-Dichloranilin dient als Zwischenprodukt bei der Synthese der obigen Herbizide, aber auch für weitere Pharmaka und Farbstoffe. Die weltweite Produktionskapazität liegt derzeit bei ca. 45.000 t/a. Neben einem Eintrag aus Industrieabwässern spielt v. a. der mikrobielle Abbau der anderen Phenylharnstoffherbizide eine wesentliche Rolle beim Eintrag von 3,4-Dichloranilin in die aquatische Umwelt.

3,4-Dichloranilin ist mit 600 mg/L gut in Wasser löslich und nur schwach lipophil ($\log K_{OW} = 2,70$). Darin sind auch die sehr niedrigen BCF für Fische (Regenbogenforelle: 30) begründet. Es adsorbiert rasch an Sediment und Partikel, wo es biotisch nur langsam zersetzt wird. Die hauptsächliche Elimination erfolgt auf photochemischem Wege in der oberen Wasserschicht.

Die in der Länderumfrage (UBA, 1997) gesammelten Daten zur Belastung mit 3,4-Dichloranilin beschränken sich auf **Oberflächengewässer**.

- In den Jahren 1992 bis 1995 wurden an 18 Meßstellen, u. a. in Baden-Württemberg, Wasserproben mit einer BG von 50 ng/L analysiert. Nur an zwei Stellen, im Main bei Bischofsheim und im Rhein bei Mainz wurden Gehalte bis zu 140 ng/L gefunden.
- In NRW und Thüringen konnten bei der allerdings unzureichenden BG von 1 µg/L an keiner der 15 Meßstellen 3,4-Dichloranilin bestimmt werden.

5.4.2 Vinclozolin

Vinclozolin (Abb. 3-37) ist seit 1983 in Europa als Pflanzenschutzmittel im Handel und wird als Fungizid im Obst-, Gemüse- und Zierpflanzenanbau eingesetzt. Über sein Verhalten und den Verbleib in der Umwelt ist wenig bekannt. In neutraler, wässriger Lösung und in feuchten Böden hydrolysiert es jedoch rasch mit einer Halbwertszeit von 26 Stunden. Als Produkte entstehen dabei 3,5-Dichlorphenyl-carbaminsäure-(1-carboxy-1-methyl)-allylester (M1), N-(3,5-Dichlorphenyl)-2-hydroxy-2-methyl-3-buttersäure-amid (M2) sowie in geringer Menge 3,5-Dichloranilin. Auch Säugetiere metabolisieren rasch Vinclozolin zu obigen Metaboliten, die als Glucuronide mit dem Urin ausgeschieden werden. Vinclozolin weist also keine signifikante Persistenz oder Tendenz zur Bioakkumulation auf.

In den Jahren 1989 bis 1994 wurden in mehreren Bundesländern Oberflächengewässer auf Vinclozolin untersucht. Bei verschiedenen BG im Bereich von 10 bis 150 ng/L konnte das Fungizid in keinem einzigen Fall bestimmt werden.

Untersuchungsergebnisse über die stabileren, ebenfalls antiandrogen wirksamen Metaboliten M1 und M2 liegen nicht vor.

5.4.3 p,p'-DDE

Als bedeutendster Metabolit beim biotischen und abiotischen Abbau von DDT wurden die umweltrelevanten Daten, das Verteilungsverhalten und die gefundenen Konzentrationen in Oberflächengewässern bereits mit den anderen Metaboliten in Kap. 5.1.5 besprochen.

5.4.4 1,1,1-Trichlor-2,2-bis(4-hydroxyphenol)ethan (HTPE)

Über den Verbleib der hydroxylierten Metaboliten von Methoxychlor in der Umwelt liegen wie schon erwähnt keine quantitativen Daten vor.

6 Überblick über die gegenwärtig laufenden nationalen und internationalen Forschungsprojekte zum Thema 'Endokrine Disruptoren'

Im Juli 1991 traf sich eine interdisziplinäre Gruppe von Wissenschaftlern in Wingspread, Wisconsin, USA, um erstmals über die Verbreitung und Wirkung anthropogener Umweltchemikalien, die in der Lage sind, in den Hormonhaushalt von Mensch und Tier einzugreifen, zu diskutieren. Am Ende dieser Konferenz stand eine vielbeachtete Erklärung ('Wingspread Consensus Statement'), die eine weltweite Debatte über eine potentielle Gefährdung der menschlichen Gesundheit und Fortpflanzungsfähigkeit sowie der Umwelt durch endokrin wirksame Xenobiotika ausgelöst hat.

Besonders durch das populärwissenschaftliche Buch "Die bedrohte Zukunft" (Colborn, Dumanoski, Myers, 1996) erhielt die öffentliche Diskussion einen beträchtlichen Anstoß. Darin äußert sogar Al Gore, der derzeitige Vizepräsident der Vereinigten Staaten, in einem Vorwort seine Besorgnis über die möglicherweise adversen Effekte, die Umwelthormone auf die Gesundheit des Menschen und auf die Umwelt haben könnten.

Seit Beginn der 90er Jahre sind eine Reihe internationaler Forschungsprojekte mit dem Ziel angelaufen, hormonell wirksame Chemikalien zu identifizieren und ihre hormonelle Potenz festzulegen. Mit weiteren Daten über den Eintrag, das Produktionsvolumen, das Umweltverhalten und den daraus resultierenden Gehalten in den verschiedenen Umweltkompartimenten soll für jede dieser Verbindungen das Risiko für die Gesundheit und die Umwelt abgeschätzt werden und in die Gesetzgebung einfließen.

Eine Vielzahl der identifizierten Substanzen sind seit geraumer Zeit weltweit verboten oder werden nur noch in der Dritten Welt eingesetzt (DDT etc.). Daneben geraten aber auch zusehends mehr industrielle Massengüter ins Gespräch, welche im Maßstab von mehreren 100.000 t pro Jahr produziert und umfassend in den Verkehr gebracht werden. Hierzu zählen nicht zuletzt die Alkylphenolpolyethoxylate, die Bisphenole, die Parabene, die Xylene und weitere Zusätze der kosmetischen Industrie. Weltweit werden mit diesen Verbindungsklassen viele Milliarden Dollar umgesetzt, was eine sehr akribische Vorgehensweise in der Risikoabschätzung und legislativen Entscheidungsfindung bedingt.

Internationale Maßnahmen und Forschungsaktivitäten

Die Organisation für wirtschaftliche Zusammenarbeit und Entwicklung (OECD) hat im November 1996 beschlossen, Testrichtlinien für Endokrine Disruptoren (EDCs) zu entwickeln. Das erste Treffen der Arbeitsgruppe fand im März 1998 unter dem Gesichtspunkt der internationalen Harmonisierung einer Teststrategie statt. 45 Experten aus 19 Ländern verabschiedeten ein Rahmenprogramm für zukünftige Aktivitäten.

Das 'Intergovernmental Forum on Chemical Safety' (IFCS) diskutierte erstmals im Februar 1997 in Ottawa, Kanada, über die Problematik der EDCs. Aufgrund des mangelhaften Kenntnisstandes der Wissenschaft schlug man der IOMC (**I**nternational **O**rganization **P**rogram for the **S**ound **M**anagement of **C**hemicals) vor, relevante Forschungen sowie den internationalen Austausch von Informationen voranzutreiben. In Zusammenarbeit mit der OECD wurde im März 1998 eine Inventurliste aller Forschungsprogramme zusammengestellt und koordiniert. Ein internationaler Lagebericht soll im Frühjahr 2000 vorgelegt werden.

Im November 1995 kam das 'Global Programme on Action for the Protection of the Marine Environment from Land-based Activities' darin überein, den Gebrauch und die Produktion von insgesamt 12 persistenten Organohalogenverbindungen (POPs), die allesamt als EDCs identifiziert wurden, weltweit rechtsverbindlich zu beschränken. Unter Leitung des **U**nited **N**ations **E**nvironment **P**rogramme (UNEP) wurden im Juni 1998 erste Schritte unternommen, ein international verbindliches Instrument auszuarbeiten und zu übernehmen. Von den endgültigen Fassungen wird eine richtungweisende Funktion erwartet, wie auf globaler Ebene in Zukunft mit dieser Problematik umgegangen werden wird.

Auf transatlantischer Ebene existiert mittlerweile eine Kooperation zwischen der EU und den USA, in der die Forschung über EDCs in fünf Kernbereiche eingeteilt wurde. In der EU werden zur Zeit die Forschungsprojekte mit jenen in den USA koordiniert und weiterer Handlungsbedarf erörtert. Am 18.04.1999 fand in Ispra/Italien die erste Konferenz auf Basis eines 'Science and Technology Cooperation Agreement' zwischen der EU und den USA statt, um zukünftig die gemeinsamen Strategien und Prioritäten abgrenzen zu können.

Auch die japanische Umweltbehörde (JEA) hat 1998 in Kooperation mit der OECD ein 'Strategic Program on Environmental Endocrine Disruptors' (SPEED '98) ins Leben gerufen. Die Forschungsaktivitäten sollen sich im Wesentlichen auf drei Hauptbereiche konzentrieren:

- Ermittlung des aktuellen Standes der Umweltbelastung mit EDCs und Abschätzung der Exposition für Mensch und Wildtiere
- Untersuchung von Reproduktionsstörungen und abnormem Verhalten bei aquatischen Lebewesen und des Zusammenhangs mit einer evtl. vorliegenden Umweltverschmutzung
- Studien zur Auswirkung auf die menschliche Gesundheit unter Ausnutzung mehrerer Indikatoren

Legislative Maßnahmen und Forschungsaktivitäten in den USA

In den Vereinigten Staaten wurde 1996 aufgrund der neuen Erkenntnisse ein Gesetz zur Qualitätssicherung in Nahrungsmitteln (**Food Quality Protection Act (FQPA)**) erlassen sowie die Trinkwasserverordnung (**Safe Drinking Water Act (SDWA)**) verbessert. In dem FQPA wird u. a. die US-Umweltbehörde EPA (**Environmental Protection Agency**) angewiesen, alle Pestizide auf eine eventuell hormonelle Wirkung beim Menschen zu testen, wobei gegenwärtig in den USA etwa 500 Pestizide zugelassen sind. Darüber hinaus wurde die EPA autorisiert, auch andere anthropogene Verbindungen zu untersuchen, die in detektierbaren Konzentrationen in der Umwelt vorkommen. Die EPA hat daraufhin eine Kommission ins Leben gerufen, welche die Realisierung der gesetzlichen Vorgaben zur Aufgabe hat (**EDSTAC = Endocrine Disruptor Screening and Testing Committee**).

Nähere Informationen hierzu sind im WWW unter folgender Adresse abrufbar:

<http://www.epa.gov/opptintr/opptendo/index.htm>

Ende 1998 hat die EPA vorgeschlagen, folgende Empfehlungen der EDSTAC umzusetzen:

1. Wenn man bedenkt, daß 75.500 Industriechemikalien in ca. 20.500 Produkten verarbeitet werden, wird klar, daß ein komplettes Austesten aller Substanzen in kurzer Zeit unmöglich ist. Daher wurde auf Basis des vorliegenden Datenmaterials eine Prioritätsliste mit etwa 15.000 Chemikalien erstellt, die ein Produktionsvolumen über 1.000 t/a haben und somit in umweltrelevanten Konzentrationen auftreten könnten. Diese Verbindungen werden zur Zeit in Vorscreening-Tests mit hohen Durchsatzraten untersucht.
2. Zum eigentlichen Screening sollen drei *in vitro* und fünf *in vivo* Assays nach standardisierten Methoden eingesetzt werden.
3. Zusätzlich laufen seit März 1998 fünf *in vivo*-Studien zur Langzeitexposition über mehrere Generationen hinweg bei Mensch und Tier.

Des Weiteren unterstützt die US-Regierung verstärkt die Grundlagenforschung auf dem Gebiet der Endokrinologie, um ein besseres Verständnis der Wirkmechanismen, der Dosis-Wirkungsbeziehungen und des Gefährdungspotentials, welches Umwelthormone für den Menschen und wilde Tiere darstellen, zu erlangen. Für das Projekt, welches auf eine Laufzeit von zwei bis fünf Jahre angelegt ist, stehen 16 Millionen US-Dollar zur Verfügung.

Legislative Maßnahmen und Forschungsaktivitäten innerhalb der Europäischen Union

In der Europäischen Union hat 1997 die Kommission für Forschung, technische Entwicklung und Energie des Europäischen Parlaments einige wesentliche Punkte aus dem Gebiet der Endokrinen Disruptoren in den Vordergrund gestellt, in denen die EU aktiv werden bzw. ihre Anstrengungen verstärken sollte. Darunter fallen Grundlagenforschungen auf dem Gebiet der Endokrinologie, epidemiologische Studien, Testsysteme für Bioindikatoren auf hormonelle Aktivität, eine Prioritätsliste verdächtiger Chemikalien und eine erste, vorsichtige Risikoabschätzung auf Basis des vorhandenen Datenmaterials.

Auf der Grundlage dieser Vorschläge erarbeitet gegenwärtig die DG XI (Umwelt) ein Strategiepapier über Endokrine Disruptoren. Im Rohentwurf vom Januar 1999 kommt man zu dem Schluß, daß generell alle Instrumente zur Regulierung von Chemikalien vorhanden sind, jedoch keine speziellen Gesetze für EDCs bestehen. Es wurde daher ein Konzept erarbeitet, in welchem kurz-, mittel- und langfristige Forschungs- und Regulierungsaktivitäten enthalten sind. Unter der Schirmherrschaft des IPCS wird eine weltweite Bestandsaufnahme zum gegenwärtigen Forschungsstand (GEDRI = **G**lobal **E**ndocrine **D**isruptor **R**esearch **I**nventory) eingeholt, ein Dokument zur globalen Abschätzung für ED ist in Vorbereitung. Darin soll für jede Verbindung ein Hormon-Äquivalenz-Faktor festgelegt werden, um die Exposition mit EDCs abschätzen zu können.

Die EU-Kommission nimmt außerdem an Aktivitäten der OECD teil, in denen Testsysteme für EDCs entwickelt, standardisiert und validiert werden. In der Forschung unterstützt die DG XII seit Januar 1999 eine Reihe von Projekten zur Auswirkung der EDCs auf Gesundheit und Umwelt innerhalb des 4. und 5. Rahmenprogramms.

Als Beispiel für ein solches Forschungsprogramm sei an dieser Stelle das britische Projekt EDMAR (**E**ndocrine **D**isruption in the **M**arine Environment) erwähnt (Matthiessen, 1999). Während in englischen Flüssen durch die relativ geringe Verdünnung geklärter Abwässer eine große Anzahl hermaphrodisierter Fische aufgefunden wurden, sind über die Effekte in marinen Gewässern entlang der

englischen Küste, wo eine stärkere Verdünnung des Schmutzwassers erfolgt, praktisch keine Daten vorhanden. Ziele dieser von der britischen Regierung und anderen Organisationen seit Juni 1998 geförderten Studie sind daher die

- Identifikation der für hermaphroditische Fische in marinen Gebieten verantwortlichen Substanzen
- Entwicklung neuer Biomarker für östrogene und androgene Wirkung in Fischen
- Erhebung der eventuellen Anwesenheit androgener Verbindungen in britischen Küstengewässern
- Feldstudien zu Reproduktionsstörungen in Fischen und Krustentieren aus verschmutzten Gebieten
- Laborstudien zur Fruchtbarkeit von Versuchstieren.

Ein im Januar 1999 angelaufenes Forschungsprojekt innerhalb des 5. EU-Rahmenprogramms ist auf drei Jahre angelegt. An **COMPREHEND (Community Programme of Research on Environmental Hormones and Endocrine Disruptors)** sind insgesamt sieben europäische Länder beteiligt, zu denen Deutschland jedoch nicht zählt. Unter der Schirmherrschaft des EurAqua-Netzwerks sollen in den nächsten Jahren detaillierte chemische Analysen von gewerblichen und kommunalen Abwässern auf Steroide, Alkylphenole und weitere Umwelthormone durchgeführt werden. Des Weiteren soll die Östrogenität angrenzender Oberflächengewässer anhand von *in vivo* Experimenten mit Fischen abgeschätzt werden. In weiteren Versuchen mit diversen Fischarten sollen die Einflüsse verdächtigter Substanzen in umweltrelevanten Konzentrationen bei mehreren Generationen auf die Population und das Reproduktionsverhalten untersucht werden (Pickering, 1999).

Weitere Informationen über die Forschungsaktivitäten innerhalb des 5. EU-Rahmenprogramms können im WWW abgerufen werden:

<http://www.cordis.lu/fp5/src/programmes.htm>

Forschungsaktivitäten in Deutschland und speziell in Baden-Württemberg:

Das **European Endocrine Disruptors Research Inventory (EEDRI)** wurde im Auftrag des UBA in Zusammenarbeit mit der US-EPA erstellt. Darin sind nahezu alle zur Zeit laufenden Forschungsprojekte außerhalb der USA, also auch jene in Deutschland, enthalten. Informationen zu den Projekten, den ausführenden Forschergruppen und den beteiligten Institutionen sind im WWW unter der folgenden Adresse erhältlich:

<http://www.liwa.de/iis/endo/welcome.htm>

7 Empfehlungen zum weiteren Forschungsbedarf

Der Forschungsbereich bzw. -bedarf auf dem Gebiet der Endokrinen Disruptoren kann grob in drei Kategorien eingeteilt werden.

Im Bereich der Gefahrenerkennung bündeln sich die Forschungsbemühungen in erster Linie auf die Entwicklung und Validierung von effektbezogenen **Methoden**, die auf der einen Seite die Gefahr durch Umwelthormone aufdecken und auf der anderen Seite den kausalen Zusammenhang zwischen Exposition mit der Substanz und einem Effekt beweisen.

Zur Abschätzung einer Dosis-Wirkungs-Beziehung müssen **Modelle** entwickelt werden, welche die Vorhersage von Dosis, Effekt, Metabolismus und Verbleib erlauben.

Schließlich müssen durch umfangreiche analytische **Messungen** in den Umweltkompartimenten und organischen Geweben Daten zum Grade der Kontamination bzw. Belastung gesammelt werden, um die Umweltrelevanz der verdächtigen Verbindungen abschätzen zu können.

7.1 Entwicklung und Validierung von effektbezogenen Methoden

Um die große Vielzahl der auf dem Markt befindlichen Chemikalien nach ihrem **Gefährdungspotential** untersuchen zu können, müssen weitere Testsysteme entwickelt bzw. die geläufigen Tests adaptiert werden (vgl. Kap. 2). Dabei stehen Schnelligkeit, Kostenentwicklung und Verlässlichkeit der Methoden im Vordergrund. *In vivo* Assays wie die Vitellogenininduktion in männlichen Fischen als auch *in vitro* Assays wie die kompetitive Rezeptorbindung sind bereits vorhanden und werden routinemäßig angewendet. Die Aufmerksamkeit sollte nunmehr auf die Validierung dieser Testsysteme und das Bestimmen ihrer Grenzen gelenkt werden. Die Tests sollten außerdem eine größere Anzahl von Tierspezies umfassen und nicht nur auf eine Spezies fixiert bleiben. Des weiteren sollten *in vivo* Assays immer auch über die ganze Lebensdauer hinweg durchgeführt werden, sofern realisierbar.

Sogenannte **Biomarker** werden als biologische Indikatoren zur Bestimmung der Anwesenheit eines Umwelthormons herangezogen. Als Paradebeispiel hierfür dient die Induktion des Eidotterproteins Vitellogenin in männlichen Fischen nach Exposition mit östrogen wirksamen Verbindungen. Die Forschung sollte sich nun auf Studien über mehrere Generationen hinweg konzentrieren und Biomarker in den

Nachkommen finden, die Langzeiteffekte einer Exposition bei niedriger Dosis offenbaren.

7.2 Entwicklung und Validierung von Modellen

Modelle stellen ein hilfreiches Mittel zur Vorhersage von Effekten dar. Basierend auf mathematischen Beschreibungen können sie helfen, Risikofaktoren wie Geschlecht, Alter, Ernährung, Expositionsdaten, genetische Faktoren u. a. in die Betrachtung der biologischen und physiologischen Gegebenheiten einzuordnen. Dabei systematisieren Modelle die Parameter einer Toxizitätsstudie und helfen, die Dosis-Wirkungs-Beziehung quantitativ zu erfassen. In diese Modelle fließen Daten aus verschiedensten Disziplinen wie Toxikokinetik, Molekularbiologie, Umweltchemie, Ökologie und Verhaltensforschung ein.

Für die durch Umwelthormone zu erwartenden Effekte müssen realistische **Risikomodelle** entwickelt bzw. verbessert werden. Gegenwärtig existieren z. B. Modelle zur Wechselwirkung zwischen Hormon und Rezeptor, jedoch kann eine eindeutige Korrelation zwischen Bindung und dem folgenden, schädlichen Effekt selten eindeutig festgestellt werden. Als Paradebeispiel sei hier TCDD genannt, welches nicht als Hormon durch Bindung an den Rezeptor wirkt, sondern den Ah-Rezeptor (Arylhydrocarbon) aktiviert. Des weiteren besteht Bedarf zur Entwicklung von Modellen zur

- Abschätzung der umweltrelevanten Konzentrationen im Zielgebiet durch Analyse der Anwendungsmuster und Emission, evtl. Stoffstromanalyse
- Abschätzung der Exposition
- Vorhersage des Transports, des Verbleibs und der Persistenz der verdächtigen Chemikalien in verschiedenen Umweltkompartimenten
- Vorhersage der Konsequenzen für die Gesundheit von Mensch und Umwelt.

Grundlagenforschung auf dem Gebiet molekularer Wirkmechanismen ist essentiell, um die Wechselwirkungen von potentiellen EDCs mit den Rezeptoren und anderen Orten des endokrinen Systems verstehen zu können. Um altersabhängige Dosis-Wirkungs-Beziehungen besser verstehen zu können, ist die genaue Kenntnis der endokrinen Regelmechanismen in jugendlichen und erwachsenen Organismen erforderlich. Besondere Aufmerksamkeit sollte auf die zellulären und molekularen Wirkmechanismen der Hormone, sowohl auf die rezeptorvermittelten wie auf die nicht-rezeptorvermittelten, gerichtet werden. Der Zeitpunkt und die Dauer der Exposition ist ein weiterer Punkt, den es hierbei zu berücksichtigen gilt. Grundlegende Forschung ist außerdem nötig, um geeignete Modelltiere für Studien mit EDCs sowie frühe Biomarker für die entstehenden Effekte zu finden.

Bislang ist nur wenig über die Gefahren bekannt, die von komplexen **Gemischen aus Chemikalien** im Körper ausgehen. Das Prinzip der Additivität von Wirkungen kann mit größerer Sicherheit nur für Mischungen aus Chemikalien mit gleichem Wirkmechanismus wie PCBs oder Dioxine angenommen werden. Dieses Prinzip muß jedoch nicht für alle Mixturen gelten, es kann zu synergistischen oder antagonistischen Wechselwirkungen kommen. Betrachtet man die realistische Gesamtbelastung eines Individuums mit Hunderten von Verbindungen, so sollten *in vivo* und *in vitro* Studien mit einer Vielzahl verschiedener, komplexer Mischungen durchgeführt werden. Weil es jedoch zur Zeit an Geld und Mitteln fehlt, um eine groß angelegte Studie durchzuführen, kann auch hier die Entwicklung aussagekräftiger Modelle aushelfen. Diese sind jedoch für die Ausgangsparameter und ihre algorithmische Verknüpfung auf reelle Daten angewiesen.

7.3 Messungen zur Schaffung der Datengrundlage

Das **Ausmaß und die Größenordnung einer Exposition** und die auftretenden Effekte müssen systematisch festgehalten und ausgewertet werden. Programme zur regelmäßigen Überwachung der vorliegenden Umweltkonzentrationen relevanter Stoffe aus der Gruppe der Endokrinen Disruptoren in den Kompartimenten Luft, Wasser und Boden sollten flächendeckend in regelmäßigen Abständen durchgeführt werden, um lückenlose Datensammlungen anlegen zu können und kritische Wissenslücken zu schließen. Dabei müssen die letzten Erkenntnisse über Chemikalien mit endokriner Wirkung stärker berücksichtigt werden und nicht wie bisher nur Chemikalien mit kanzerogener oder mutagener Wirkung im Vordergrund stehen. Mit der so erhaltenen Information können neue Grenzwerte erlassen oder alte korrigiert werden, welche die Gehalte in der Umwelt, biologischen Geweben und der Nahrung reglementieren. Außerdem erleichtern sie eine zukünftige oder retrospektive Trendanalyse, z. B. zur Spermienqualität und anderen Effekten, die mit EDCs in Verbindung gebracht werden.

Eine **fortlaufende Überwachung der Exposition** ist von großer Bedeutung, um das Ausmaß der Kontamination in der Umwelt zu erfassen und die Belastung von Menschen und wildlebenden Tieren, welche mit schädlichen Auswirkungen durch EDCs einhergehen kann, zu verfolgen. Deshalb ist die Einrichtung neuer und die Fortführung laufender Monitoringprogramme entscheidend. Dabei gilt es wiederum, die besonderen Gegebenheiten in bezug auf EDCs zu berücksichtigen bzw. zu adaptieren.

Bereits existierende Daten müssen evaluiert und systematisch geordnet werden, um lokale und globale Trends von Konzentrationen oder Effekten in der Bevölkerung ableiten zu können. Wichtig ist, daß diese Daten untereinander vergleichbar sind,

sich ergänzen und eine Perspektive zur Risikoabschätzung eröffnen. Aus ökologischer Sicht sollten die gesammelten Daten, die als Grundlage einer Risikoabschätzung herangezogen werden, in bezug auf ihre Bioindikatoren und den biologischen Endpunkt einheitlich gewonnen werden. Dies ist besonders wichtig, wenn es darum geht, bereits laufende Monitoringprogramme international zu koordinieren.

Populationsstudien können helfen, besonders belastete Tiergruppen und menschliche Bevölkerungen zu identifizieren, wenn man gleichzeitig weniger belastete Regionen untersucht. Da es auf unserem Planeten keinen mit EDCs absolut unbelasteten Organismus mehr gibt, müssen angemessene Grundwerte endokriner Normalität abgeschätzt werden.

Die Evaluierung der menschlichen Gesundheit und des Zustandes der Ökosphäre ist am vielversprechendsten, wenn die Daten aus mehreren wissenschaftlichen Disziplinen zusammengetragen werden. Ein **interdisziplinärer Ansatz**, der die Ergebnisse der Biochemie, Molekularbiologie, Endokrinologie, Neurotoxikologie, Reproduktionstoxikologie, Umweltanalytik und Umweltchemie berücksichtigt, hat eine größere Aussicht auf Erfolg als Aktionen, die innerhalb ihrer Fachdisziplin bleiben.

Jene Tiere, die aufgrund ihrer einzigartigen Physiologie, ihres Verhaltens oder ihrer Position in der Nahrungskette als erste auf Veränderungen in ihrer Umwelt reagieren, können als **Indikatorspezies** dienen. Die Identifizierung und anschließende Überwachung dieser Indikatortiere kann eine bedeutende Rolle zur Früherkennung einer Kontamination ihrer Umwelt mit EDCs darstellen.

Um eine Verbindung zwischen Feldstudien und Laborstudien herstellen zu können, sollten diese Tierarten einige Voraussetzungen erfüllen:

- Billige und einfache Unterbringung und Versorgung
- Stetige Reproduktion unter Laborbedingungen
- Möglichst globale Verbreitung
- Ökologische Relevanz sowie repräsentativ für eine möglichst große Vielzahl anderer Spezies

Neben den klassischen Wirbeltieren wie Ratte und Maus müssen auch die bislang eher vernachlässigten Spezies wie Amphibien, Singvögel oder Meeressäuger stärker berücksichtigt werden. Einige Vertreter dieser Arten leiden unter einem signifikanten lokalen oder globalen Populationsrückgang bis hin zum Aussterben, jedoch konnte eine Verbindung mit EDCs noch nicht schlüssig bewiesen werden.

Zuletzt sollte die Entwicklung eines internationalen **Datenbanknetzes** vorangetrieben werden, um die Information systematisch und sinnvoll zu gliedern und zugänglich zu machen. In der Tat können zeitabhängige Trends am Besten mit Hilfe von Datenbanken erkannt werden. Bereits existierende Daten wie medizinische Dokumentationen über chronische Exposition mit EDCs oder das Auftreten von Tumoren in wildlebenden Tierarten können darin aufgenommen, sollten aber regelmäßig aktualisiert und überarbeitet werden. Vor allem ist jedoch das Anlegen neuer Datenbanken anzustreben, in denen die aktuellsten Ergebnisse aus *in vivo* und *in vitro* Screening-Tests aufgenommen sind. Zu den Vorteilen einer solchen Datenbank gehören:

- Die Empfindlichkeit, Spezifität und allgemeine Verlässlichkeit dieser Testsysteme wird verbessert.
- Eine Abschätzung der Folgen für die menschliche Gesundheit und Fortpflanzungsfähigkeit wäre möglich, wenn z. B. verlässliche Angaben zur lokalen oder globalen Abnahme der Spermienzahlen oder einem Anstieg von Brust- bzw. Hodenkrebsfällen vorlägen.
- Eine globale Zusammenstellung aller Forschungsaktivitäten auf dem Gebiet der EDCs würde dazu beitragen, daß Unklarheiten angesprochen, Forschungsbedarf definiert und überflüssige Aktivitäten minimiert werden. Das GEDRI und das EEDRI stellen einen vielversprechenden Ansatz hierfür dar.

8 Beurteilung der Umweltrelevanz

Aktuelle Meßdaten zur Exposition in deutschen Oberflächengewässern liegen nur für einige wenige, 'klassische' Umweltchemikalien vor. Deren Verteilungsverhalten auf Basis physiko-chemischer Konstanten wie dem Oktanol-Wasser-Verteilungskoeffizienten $\log K_{ow}$ (vgl. Kap. 5.1.2), ihre Persistenz, ihr Verbleib in den Stoffkreisläufen der Ökosphäre sowie ihre ökotoxikologischen Eigenschaften sind gut erforscht, so daß eine aktuelle Einschätzung ihres Gefährdungspotentials für aquatische Organismen relativ gut möglich ist.

Hierzu werden folgende, in dieser Literaturstudie behandelte Verbindungsklassen gezählt:

- Ubiquitär verbreitete Organohalogenverbindungen mit hochgradiger Persistenz wie PCBs, PCTs, PCDDs, PCDFs, DDT und seine Metaboliten, Dieldrin, Chlordan, Toxaphen, Kepon und Mirex
- Teils ubiquitär verbreitete Kohlenwasserstoffe mit mittlerer bis geringer Persistenz wie PAK, Methoxychlor, Endosulfan und Diuron

Aufgrund der hohen Tendenz zur Bioakkumulation insbesondere der chlorierten Abkömmlinge kann es lokal zu starken Anreicherungen dieser Verbindungen innerhalb einer Nahrungskette kommen. Somit sind, je nach Dosis, akute und chronische Schadwirkungen, Effekte auf das endokrine System eingeschlossen, möglich. Ihre Umweltrelevanz wird daher noch über Jahrzehnte hinaus bestehen bleiben. Dies gilt für Verbindungen wie Dieldrin, DDT, Chlordan oder Aldrin, deren Produktion und Anwendung in Europa seit Jahren eingestellt ist, in geringerem Maße. Jedoch werden DDT oder Chlordan wegen der geringen Herstellungskosten noch immer in Ländern der Dritten Welt produziert, ausgebracht und durch die globalen Stoffkreisläufe auch in unsere Breiten eingetragen. Ähnlich verhält es sich mit den PCBs, deren fortwährender, weltweiter Einsatz in Kondensatoren und sonstigen elektrischen Einrichtungen durch Defekte oder unsachgemäße Entsorgung eine immense Quelle darstellen können.

Daneben treten auch einige nicht persistente Pestizide auf, die entweder nicht großflächig ausgebracht oder aufgrund einer kurzen Halbwertszeit kaum in Oberflächengewässer eingetragen werden. Daher sind sie nur lokal und kaum in größeren Konzentrationen nachzuweisen. Ihr Gefährdungspotential bzw. ihre Umweltrelevanz dürfte daher als gering einzuschätzen sein.

- Das Insektizid Methoxychlor
- Das Fungizid Vinclozolin
- Das Herbizid Linuron

- 3,4-Dichloranilin als Synthesebaustein und Abbauprodukt von Linuron und Diuron

Neben diesen chlorierten Pestiziden und Xenobiotika werden aber mengenmäßig in weitaus größerem Umfang Industriechemikalien in Kosmetika, Kunststoffen, Farben, Nahrungs-, Holzschutz-, Konservierungs-, Desinfektionsmitteln usw. zugesetzt. Zu diesen Stoffen zählen:

- Bisphenole als monomere Bausteine in Kunststoffen
- Phthalsäureester als Weichmacher
- Hydroxyphenole als Desinfektionsmittel
- Alkylphenolpolyethoxylate und ihre Abbauprodukte als Detergentien
- Anisole als Antioxidantien
- Parabene als Konservierungsmittel
- Xylene als Duftstoffe in Parfüm
- Naphthole als Synthesebaustein für Parfüm, Konservierungsmittel, Farbstoffe
- Phenylsiloxane in Silikon
- Benzophenone als UV-absorbierende Stabilisatoren

Einige dieser Verbindungen wie Phthalate oder Alkylphenole werden auch mit Methoden der Routineanalytik regelmäßig in Oberflächenwasser, Schwebstoffen und Sediment nachgewiesen. Der überwiegende Teil wird jedoch noch nicht untersucht, weil keine problemangepassten Methoden entwickelt wurden. Oftmals kommen sogar analytische Verfahren zum Einsatz, deren Nachweisstärke nicht ausreicht, um diese Verbindungen im Ultraspurenbereich überhaupt bestimmen zu können. Der Sinn von Untersuchungen muß dann in Frage gestellt werden, wenn eine Methodik zum Einsatz kommt, deren Bestimmungsgrenze deutlich über den zu erwartenden Gehalten liegt (vgl. Kap. 5.1.5.1 und Kap. 5.4.1). Besonders wenn man sich die außerordentliche Persistenz einiger Organohalogenpestizide verbunden mit ihrer ausgeprägten Neigung zur Bioakkumulation (BCF über 10^6) vor Augen führt, müssen Analyseergebnisse wie "bei einer Bestimmungsgrenze von 50 ng/L in keiner Probe bestimmbar" differenziert betrachtet werden. "Nicht bestimmbar" darf also auf keinen Fall gleichgesetzt werden mit "nicht anwesend".

Des Weiteren liegen nur für die wenigsten Verbindungen ausreichende Toxizitätsdaten und Dosis-Wirkungsbeziehungen für aquatische Lebewesen vor. Hierunter fallen genaugenommen lediglich Oktylphenol und Nonylphenol (Harries et al., 1995), 17α -Ethinylöstradiol und 17β -Östradiol (Sheahan et al., 1994) sowie Tributylzinn-Verbindungen (Bettin et al., 1996). Anhand dieser Daten kann abgeschätzt werden, ab welchen Konzentrationen Schadwirkungen auftreten können oder mit Sicherheit ausgelöst werden. Daher kann eine Umweltrelevanz bei

vorhandener Datenlage gut erkannt und können Gegenmaßnahmen, wenn lokal oder regional möglich, ergriffen werden.

Unter den Endokrinen Disruptoren befinden sich auch eine Reihe von in den 30er und 40er Jahren synthetisierten und mit dem Allen-Doisy-Test identifizierten Derivate von Diphenylmethan, Diphenylethan, Diphenylethylen, Diphenylpropan, Diphenylether, Triphenylmethan und Triphenylethylen. Von diesen Verbindungen haben nur wenige wie DES oder Tamoxifen breitere pharmazeutische Anwendung gefunden und sind somit nicht umweltrelevant.

Zusammenfassend läßt sich folgende Aussage treffen:

Für die Mehrheit der in dieser Studie behandelten Verbindungen fehlen die adäquaten Expositions-Wirkungsdaten. Aus diesem Grund wird gegenwärtig versucht, die Ergebnisse aus *in vitro*-Studien auf die Expositionsbedingungen in der Natur zu übertragen. Die *in vitro* bestimmte endokrine Potenz einer Chemikalie ist jedoch stark abhängig von dem untersuchten Testsystem, dem jeweiligen Endpunkt sowie der Expositionsdauer und -konzentration. Es wird also die Möglichkeit untersucht, die *in vitro* bestimmten relativen Potenzen und wirksamen Konzentrationen (z. B. bezogen auf DES) direkt auf *in vivo* lebende aquatische Organismen zu übertragen und die Relevanz der wenigen gemessenen Gehalte zu beurteilen.

Für einen nicht unwesentlichen Anteil der hier behandelten Verbindungen existieren noch keine problemangepassten Analysenverfahren und ihr Vorkommen und Verhalten in der Umwelt werden daher noch nicht routinemäßig untersucht. Hierzu zählen Hydroxyphenole, Anisole, Parabene, Xylene, Naphthole und Benzophenone, allesamt Industriechemikalien mit einer weltweiten Produktion im Maßstab von vielen tausend Tonnen jährlich. Es fehlen daher neben den gegenwärtig erforschten Dosis-Wirkungsdaten die Expositionsdaten.

Eine abschließende und sichere Aussage zur Umweltrelevanz der meisten als endokrin wirksam identifizierten Verbindungen beim derzeitigen Kenntnisstand ist derzeit entweder gar nicht oder nur mit erheblichen Unsicherheitsfaktoren zu treffen. Diese Einschätzung wird durch die intensiven internationalen Forschungsaktivitäten untermauert.

9 Zusammenfassung

Neben einigen natürlichen Chemikalien hat eine Vielzahl vom Menschen produzierter Verbindungen das Potential, störend in das hormonelle System von Mensch und Tier einzugreifen. Diese Verbindungen sind teilweise hochgradig persistent und daher bereits überall Teil der globalen Stoffkreisläufe geworden. Durch ihre teils ausgeprägte Fettlöslichkeit werden sie leicht in Körperzellen aufgenommen und reichern sich in den Lipidbereichen (Körperfett, Leber, Gehirn) von Lebewesen an. Dadurch können diese Substanzen in Mensch und Tier in weitaus höheren Konzentrationen vorkommen als in der Umgebung oder Nahrung (Bioakkumulation). Dieser Effekt wird innerhalb einer Nahrungskette des Fressens und Gefressenwerdens noch verstärkt (Biomagnifikation). Dadurch können im Endorganismus Konzentrationen auftreten, die sowohl im Reagenzglas als auch in Testsystemen mit lebenden Organismen meßbare Reaktionen bewirken.

Diese (Umwelt-)Hormone zeigen in ihrem Wirkungsspektrum einige Besonderheiten, die bei anderen Substanzklassen von Umweltchemikalien nicht auftreten:

- Endogene und manche exogene Hormone wirken bereits in kleinsten Konzentrationen in den Zielgeweben der Organismen.
- Die meisten Organismen sind während bestimmter Entwicklungsphasen, vor allem in der Embryonalentwicklung oder als Säugling, gegenüber diesen Hormonen ganz besonders sensibel. Eine Störung des natürlichen Gleichgewichts durch hormonell wirksame Substanzen, seien sie nun fördernd oder hemmend, kann zu schweren Fehlentwicklungen, z.B. in der Sexualdifferenzierung, führen.
- Die nachteiligen Effekte einer frühkindlichen Exposition können erst mit deutlicher Verzögerung, z.B. nach der Pubertät, auftreten und werden oft nicht mehr mit der damaligen Kontamination in Verbindung gebracht.
- Die durch Störungen des Hormonhaushalts verursachten Schäden sind meist irreversibel und prägen ein Leben lang die körperliche, geistige und sexuelle Entwicklung.

Die Bandbreite der als hormonell aktiv identifizierten Verbindungen erstreckt sich über eine Vielzahl von Verbindungsklassen. Eine Korrelation von chemischer Struktur und Wirkweise ist bislang nicht eindeutig möglich. Daher muß damit gerechnet werden, daß die Liste der bisher identifizierten, hormonähnlichen Chemikalien nur einen Bruchteil der tatsächlich wirksamen Verbindungen umfaßt.

Eine genaue Kenntnis der Beziehung zwischen Konzentration und Wirkung ist Voraussetzung für eine verlässliche Risikoabschätzung. Für die meisten identifizierten Chemikalien liegen aber neben (oft unsicheren) qualitativen keine gesicherten quantitativen Angaben zu ihrer Wirkstärke verglichen mit den endogenen Hormonen vor.

Nur für jene Verbindungen wie Pestizide, Polychlorierte Biphenyle (PCB) oder Dioxine, die schon seit Jahrzehnten routinemäßig in allerlei biologischem Material analysiert werden, liegen ausreichende und auch aktuelle Meßdaten aus Oberflächengewässern vor. Diese klassischen Verbindungen der Organohalogene machen aber nur einen Bruchteil der Umwelthormone aus. Für den überwiegenden Teil gilt, daß er weder in Routine-Meßprogrammen berücksichtigt wird noch die entsprechende Analytik zur Bestimmung kleinster Spuren entwickelt ist. Das Verhalten einer Chemikalie in der Umwelt läßt sich in gewissem Maß in einem Modell simulieren. Für die Beurteilung der Umweltrelevanz mittels einer solchen Modellierung fehlt jedoch ausreichendes Datenmaterial über Produktionsvolumina, Verwendung, Freisetzung in die Umwelt und Verbleib.

Auch sofern ausreichende Angaben zu den Konzentrationsbereichen in Oberflächengewässern gemacht werden können, kann die Frage nach der Relevanz für aquatische Organismen oder schließlich für den Menschen noch nicht zufriedenstellend beantwortet werden. Dies liegt teilweise auch daran, daß Aktivitäten, die in Reagenzglas-Tests gefunden wurden, beim lebenden Organismus in relevanten Konzentrationsbereichen nicht bestätigt werden konnten.

In dieser Literaturstudie wurde versucht, die bislang in der wissenschaftlichen Literatur als hormonell wirksam identifizierten Verbindungsklassen möglichst vollständig zusammenzustellen und nach ihrer Wirkweise den Östrogenen, Antiöstrogenen, Androgenen und Antiandrogenen zuzuordnen. Die derzeit geläufigsten Testsysteme und Strategien zu ihrer Identifizierung und Einordnung werden kurz umrissen, ebenso wird ein Einblick in die Analytische Chemie zur Bestimmung der Substanzen in der Umwelt gegeben.

Weiterhin sind einige Daten zum Vorkommen dieser Chemikalien in deutschen Oberflächengewässern, mit Schwerpunkt auf dem baden-württembergischen Raum, enthalten, die einen Einblick in die auftretenden Konzentrationsbereiche in der Umwelt gewähren sollen. In einem weiteren Kapitel sind die derzeit laufenden nationalen und internationalen Forschungsaktivitäten im Themenfeld „Hormonell wirksame Substanzen in der Umwelt“ enthalten.

Der momentane Wissensstand sowie der zukünftige Forschungsbedarf wird anhand von Beispielen umrissen.

10 Literaturverzeichnis

- Ahel, M., Giger, W., Koch, M.: Behavior of alkylphenol polyethoxylate surfactants in the aquatic environment - I. Occurrence and transformation in sewage treatment. *Wat.Res.* **1994**, 28, 1131.
- Ahel, M., Giger, W., Schaffner, C.: Behavior of alkylphenol polyethoxylate surfactants in the aquatic environment - II. Occurrence and transformation in rivers. *Wat.Res.* **1994**, 28, 1143.
- Ahlborg, U.G., Lipworth, L., Titus-Ernstoff, Hsieh, C.-C., Hanberg, A., Baron, J., Trichopoulos, A.: Organochlorine compounds in relation to breast cancer, endometrial cancer and endometriosis: an assessment of the biological and epidemiological evidence. *Crit.Rev.Toxicol.* **1995**, 25, 463.
- Arnold, S.F., Klotz, B.M., Collins, P.M., Vonier, P.M., Guillette, L.J. McLachlan, J.A.: Synergistic activation of estrogen receptor with combinations of environmental chemicals. *Science* **1996**, 272, 1489.
- Astroff, B., Safe, S.: 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxine as an antiestrogen: effect on rat uterine peroxidase activity. *Biochem.Pharmacol.* **1990**, 39, 485.
- Ballschmiter, K.: Polychlorbiphenyle: Chemie, Analytik und Umweltchemie. Analytiker Taschenbuch, Bd. 7. **1997** S.393-429. Springer Verlag Berlin/Heidelberg/London
- Ballschmiter, K., Bacher, R.: Dioxine - Chemie, Analytik, Vorkommen, Umweltverhalten und Toxikologie der halogenierten Dibenzo-p-dioxine und Dibenzofurane. **1996**, VCH Weinheim, ISBN 3-527-28768-X.
- Belfroid, A.C., Van der Horst, A., Vethaak, A.D., Schäfer, A.J., Rijs, G.B.J., Wegener, J., Cofino, W.P.: Analysis and occurrence of estrogenic hormones and their glucuronides in surface water and waste water in The Netherlands. *Sci.Total.Environm.* **1999**, 225(1-2), 101.
- Béland, P., DeGuise, S., Girard, C., Lagacée, A., Martineau, D., Michaud, R., Muir, D., Norstrom, R., Pelletier, E., Ray, S., Shugart, L.: Toxic compounds and health and reproductive effects in St. Lawrence Beluga Wales. *Journal of Great Lakes Research* **1993**, 19, 766.

- Bergeron, J.M., Crews, D., McLachlan, J.A.: PCBs as environmental estrogens: turtle sex determination as a biomarker of environmental contamination. *Environ.Health.Perspect.* **1994**, 102, 780.
- Bettin, C., Oehlmann, J., Stroben, E.: TBT-induced imposex in marine neogastropods is mediated by an increasing androgen level. *Helgol. Meeresunters.* **1996**, 50, 299.
- Bindal, R.D., Katzenellenbogen, J.A.: Bis(4-hydroxyphenyl)[2-(phenoxy-sulfonyl)-phenyl]methane: isolation and structure elucidation of a novel estrogen from commercial preparations of phenol red (phenolsulfonphthalein). *J.Med.Chem.* **1988**, 31, 1978.
- Bitman, J., Cecil, H.C.: Estrogenic activity of DDT analogs and polychlorinated biphenyls. *J.Agr.Food.Chem.* **1970**, 18, 1108.
- Bitman, J., Cecil, H.C., Harris, S.J., Feil, F.J.: Estrogenic activity of o,p'-DDT metabolites and related compounds. *J.Agr.Food.Chem.* **1978**, 26, 149.
- Broley, C.: The Plight of the American Bald Eagle. *Audubon Magazine* **60** **1958**, 171, 162.
- Brontos, J.A., Olea-Serrano, M.F., Villalobos, M., Pedraza, V., Olea, N.: Xenoestrogens released from lacquer coatings in food cans. *Environ.Health Perspect.* **1995**, 103, 608.
- Bulger, W.H., Kupfer, D.: Studies on the induction of rat uterine ornithine decarboxylase by DDT analogs. I. Comparison with estradiol-17 β activity. *Pesticide Biochem.Physiol.* **1978**, 8, 253.
- Carlsen, E., Giwercman, A., Keiding, N., Skakkebaek, N.E.: Evidence for the Decreasing Quality of Semen during the last 50 Years. *Brit. Med. J.* **1992**, 305, 609.
- Celius, T., Walther, B.Th.: *J.Endocrinology* **1999**, 158, 258.
- Chapin, R.E., Stevens, J.T., Hughes, C.L., Kelce, W.R., Hess, R.A., Daston, G.P.: Symposium overview: endocrine modulation of reproduction. *Fundamental and Applied Toxicology* **1996**, 29, 1.

- Colborn, T., vom Saal, F.S., Soto, A.M.: Developmental effects of endocrine disrupting chemicals in wildlife and humans. *Environ.Health Perspect.* **1993**, *101*, 378.
- Colborn, T., Dumanoski, D., Myers, J.P.: Die bedrohte Zukunft - Gefährden wir unsere Fruchtbarkeit und Überlebensfähigkeit? **1996**, Droemer Knaur, München.
- Comhaire, F., Van Waeleghem, K., De Clercq, N., Schoonjans, F.: Declining sperm quality in European men. *Andrologia* **1996**, *28*, 300.
- Cook, J.W., Dodds, E.C.: Sex hormones and cancer-producing compounds. *Nature*, **1933**, *131*, 205.
- Cook, J.W., Dodds, E.C., Hewett, C.L., Lawson, W.: The estrogenic activity of some condensed-ring compounds in relation to their other biological activities. *Proc.Roy.Soc.B.* **1934**, *114*, 272.
- Cook, J.C., Mullin, L.S., Frame, S.R., Biegel, L.B.: Investigation of a mechanism for Leydig cell tumorigenesis by Linuron in rats. *Toxicol.Appl.Pharmacol.* **1993**, *119*, 195.
- Davis, W.P., Bortone, S.A.: Effects of kraft mill effluent on the sexuality of fishes: An environmental early warning? In: Advances in modern environmental toxicology. Vol XXI, Chemically induced alterations in sexual and functional developments. The wildlife/human connection. Colborn, T., Clement, C. **1992**, p.113-127, Princeton Scientific Publishing Co., Inc.
- Desbrow, C., Routledge, E.J., Brighty, G.C., Sumpter, J.P., Waldock, M.: Identification of Estrogenic Chemicals in STW Effluent. 1. Chemical Fractionation and in Vitro Biological Screening. *Environ. Sci. Technol.* **1998**, *32*, 1549.
- Dodds, E.C., Lawson, W.: Synthetic estrogenic agents without the phenanthrene nucleus. *Nature* **1936**, *137*, 996.
- Dodds, E.C., Goldberg, L., Lawson, W., Robinson, R.: Estrogenic activity of certain synthetic compounds. *Nature* **1938**, *141*, 247.

- Dodds, E.C., Golberg, L., Lawson, W., Robinson, R.: Synthetic oestrogenic compounds related to stilbene and diphenylethane. Part I. *Proc.Roy.Soc.B.* **1939**, 127, 140.
- EPCI - European Council for Plasticisers and Intermediates: Assessment of the release, occurrence and possible effects of plasticisers in the environment. Phthalate esters used in PVC. EPCI, Brüssel, **1996**.
- Eroschenko, V.P., Palmiter, R.D.: Estrogenicity of kepone in birds and mammals. In: McLachlan, J.A.: Estrogens in the environment. Elsevier, New York **1980**, p.305-325.
- Eustache, F., Auger, J., Jouanet, P.: Are human reproductive functions changing? Could Endocrine Disruption be responsible? Vortrag gehalten auf der internationalen Konferenz 'Environmental Endocrine Disrupting Chemicals', 07.-12.03.1999, Ascona, Monte Verità.
- Fent, K., Ackermann, G., Brombacher, E.: Cell line based *in vitro* systems for detection of estrogenic compounds in fish. Vortrag gehalten auf der internationalen Konferenz 'Environmental Endocrine Disrupting Chemicals', 07.-12.03.1999, Ascona, Monte Verità.
- Forth, W., Henschler, D., Rummel, W., Starke, K.: Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie. **1996**, 6. Aufl., Spektrum Akademischer Verlag Heidelberg/Berlin/Oxford.
- Fox, G., Gilman, A., Peakall, D., Anderka, F.: Behavioral abnormalities of nesting Lake Ontario herring gulls. *Journal of Wildlife Management* **1978**, 42(3), 477.
- Fry, D.M., Toone, C.K.: DDT-induced feminization of Gull embryos. *Science* **1981**, 213, 922.
- Gellert, R.J., Heinrichs, W.L., Swerdloff, R.: Effects of neonatally-administered DDT homologs on reproductive function in male and female rats. *Neuroendocrinology* **1974**, 16, 84.
- Gellert, R.J.: Kepone, mirex, dieldrin and aldrin: estrogenic activity and the induction of persistent vaginal estrus and anovulation in rats following neonatal treatment. *Environm.Res.* **1978**, 16, 131.

- Gellert, R.J.: Uterotrophic activity of polychlorinated biphenyls (PCB) and induction of precocious reproductive aging in neonatally treated female rats. *Environm.Res.* **1978**, 16, 123.
- Gladen, B., Rogan, W., Hardy, P., Thullen, J., Tinglestad, J., Tully, M.: Development after exposure to polychlorinated biphenyls and dichlorodiphenyl dichlorethene transplacentally and through human milk. *J.Pediatrics* **1988**, 113, 991.
- Götz, R., Schumacher, E., Roch, E., Specht, W., Weeren, E.D.: Chlorierte Kohlenwasserstoffe (CKW) in Hamburger Hafensedimenten. *Vom Wasser*, **1990**, 75, 393.
- Gray, L.E., Ostby, J., Ferrell, J., Rehnberg, G., Linder, R., Cooper, R., Goldman, J., Slott, V., Laskey, J.: A dose-response analysis of methoxychlor-induced alterations of reproductive development and function in the rat. *Fund.Appl.Toxicol.* **1989**, 12, 92.
- Guillette Jr., L.J., Pickford, D.B., Crain, D.A., Rooney, A.A., Percival, H.F.: Reduction in Penis Size and Plasma Testosterone Concentrations in Juvenile Alligators living in Contaminated Environment. *Gen.Comp.Endocrinol.* **1996**, 101, 32.
- Harries, J.E., Jobling, S., Matthiesen, P., Sheahan, D.A., Sumpter, J.P.: Effects of trace organics on fish - phase 2. Report for the Department of the Environment, **1995**, London UK.
- Hayden, J.F., Barlow, S.A.: Structure-activity relationships of organosiloxanes and the female reproductive system. *Toxicol.Appl.Pharmacol.* **1972**, 21, 68.
- Howard, P.H.: Handbook of environmental fate and exposure data for organic chemicals. Volume III: Pesticides, **1991**, Lewis Publishers, Chelsea, Michigan, USA.
- IARC - Polynuclear Aromatic Compounds, Part 1. Chemical, Environmental and Experimental Data. IARC Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans, Vol. 32. **1983**, IARC, Lyon.
- Jacobsen, J., Jacobsen, S., Schwartz, P., Fein, G., Dowler, J.: Prenatal exposure to an environmental toxin: A test of the multiple effects model. *Developmental Psychology* **1984**, 20, 523.

- Janda, I., Deißler, A., Ballschmiter, K.: Bioakkumulaton von persistenten Organochlorverbindungen in Mensch und Tierwelt Baden-Württembergs. Arbeitsbericht der Akademie für Technikfolgenabschätzung Baden-Württemberg **1999**.
- Jobling, S., Sumpter, J.P.: Detergent components in sewage effluent are weakly oestrogenic to fish: an in vitro study using rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) hepatocytes. *Aquatic Toxicol.* **1993**, 27, 361.
- Jobling, S., Reynolds, T., White, R., Parker, M.G., Sumpter, J.P.: A variety of environmentally persistent chemicals, including some phthalate plasticizers, are weakly estrogenic. *Environ.Health Perspect.* **1995**, 103, 582.
- Kelce, W.R., Stone, C.R., Laws, S.C., Gray, L.E., Kemppainen, J.A., Wilson, E.M.: Persistent DDT metabolite p,p'-DDE is a potent androgen receptor antagonist. *Nature* **1995**, 375, 581.
- Kelce, W.R., Gray, L.E.: Environmental Antiandrogens as Endocrine Disruptors. Vortrag gehalten auf der internationalen Konferenz 'Environmental Endocrine Disrupting Chemicals', 07.-12.03.1999, Ascona, Monte Verità.
- Knights, W.M.: Estrogens administered to food-producing animals: Environmental consideration. In: McLachlan, J.A. Estrogens in the Environment, North Holland, Amsterdam **1980**, 391.
- Koch, R.: Umweltchemikalien. **1989**, VCH Verlagsgesellschaft, Weinheim.
- Korach, K.S., Sarver, P., Chae, K., McLachlan, J.A., McKinney, J.D.: Estrogen receptor-binding activity of polychlorinated biphenyls: conformationally restricted structural probes. *Molec.Pharmacol.* **1988**, 33, 120.
- Krishnan, A.V., Starhis, P., Permuth, S.F., Tokes, L., Feldman, D.: Bisphenol-A: an estrogenic substance is released from polycarbonate flasks during autoclaving. *Endocrinology* **1993**, 132, 2279.
- Krishnan, A.V., Safe, S.: Polychlorinated biphenyls (PCBs), dibenzo-p-dioxins (PCDD) and dibenzofuranes (PCDFs) as antiestrogens in MCF-7 human breast cancer cells: quantitative structure-activity relationships. *Toxicol.Appl.Pharmacol.* **1993**, 120, 55.

- Kuch, H., Ballschmiter, K.: Determination of endogenous and exogenous estrogens in STP-effluents at the ng/L-level. Posterpräsentation auf der internationalen Konferenz 'Environmental Endocrine Disrupting Chemicals', 07.-12.03.1999, Ascona, Monte Verità.
- Kupfer, D.: Effects of pesticides and related compounds on steroid metabolism and function. *CRC Crit.Rev.Toxicol.* **1975**, 4, 83.
- Kupfer, D., Bulger., D.: Metabolic activation of pesticides with proestrogenic activity. *Fed.Proc.* **1987**, 46, 1864.
- Lewis, S.K., Lech, J.J: Uptake, disposition and persistence of nonylphenol from water in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Xenobiotica* **1996**, 26, 813.
- Matthiessen, P.: Aspects of the UK programme on endocrine disruption in the marine environment (EDMAR). Vortrag gehalten auf der internationalen Konferenz 'Environmental Endocrine Disrupting Chemicals', 07.-12.03.1999, Ascona, Monte Verità.
- Meyers, C., Kolb, V.M., Gass, G.H., Rao, B.R., Ross, C.F.: Doisynol-type acids-uterotropically potent estrogens which compete poorly with estradiol for cytosolic receptors. *J.Steroid Biochem.* **1988**, 31, 393.
- Mocarelli, P., Brambilla, P., Gerthoux, P.M., Patterson, D.G., Needham, L.: Change in sex ratio with exposure to dioxin. *Lancet* **1996**, 348, 409.
- Moore, N.: Do phthalic acid esters cause endocrine disruption? Vortrag gehalten auf der internationalen Konferenz 'Environmental Endocrine Disrupting Chemicals', 07.-12.03.1999, Ascona, Monte Verità.
- Möller, H.: Recent decrease in the male: Female ration among newborns in Denmark. *Lancet* **1996**, 348, 828.
- Mueller, G.C., Kim, U.H.: Displacement of estradiol from estrogen receptors by simple alkyl phenols. *Endocrinology* **1978**, 102, 1429.
- Nimrod, A.C., Benson, W.H.: Environmental estrogenic effects of alkylphenol ethoxylates. *Crit.Rev.Toxicol.* **1996**, 26, 335.

- Oehlmann, J., Fiorini, P., Stroben, E., Markert, B.: Tributyltin (TBT) effects on *Ocinebrina aciculata* (Gastropoda: Muricidae): Imposex development, sterilization, sex change and population decline. *Sci.Total Environ.* **1996**, 188, 205.
- Ousterhout, J., Struck, R.F., Nelson, J.A.: Estrogenic activities of methoxychlor metabolites. *Biochem.Pharmacol.* **1981**, 30, 2869.
- Perkow, W., Ploss, H.: Wirksubstanzen der Pflanzen- und Schädlingsbekämpfungsmittel. Blattsammlung **1996**. Parey Buchverlag, Berlin, Hamburg.
- Pickering, A.D.: COMPREHEND - Community Programm of Research on Environmental Hormones and Endocrine Disruptors. Vortrag gehalten auf der internationalen Konferenz 'Environmental Endocrine Disrupting Chemicals', 07.-12.03.1999, Ascona, Monte Verità.
- Platt, A.E.: Breast and prostate cancer rising. *Vital Signs* **1995**, 136.
- Purdum, C.E., Hardiman, P.A., Bye, V.J., Eno, N.C., Tyler, C.R., Sumpter, J.P.: Estrogenic Effects of Effluents from Sewage Treatment Works. *Chem.Ecol.* **1994**, 8, 275.
- Rathner, M. von, Sonneborn, M.: Biologisch wirksame Östrogene in Trink- und Abwasser. *Forum Staedte-Hyg.* **1979**, 30, 45.
- Reid, E.E., Wilson, E.: The relation of estrogenic activity to structure in some 4,4'-Dihydroxydiphenylmethanes. *J.Am.Chem.Soc.* **1944**, 66, 967.
- Ren, L., Lewis, S.K., Lech, J.J.: Effects of estrogen and nonylphenol on the post-transcriptional regulation of vitellogenin gene expression. *Chem.Biol.Interact.* **1996**, 100, 67.
- Rippen, G.: Handbuch Umweltchemikalien. Blattsammlung **1996**, ecomed, Landsberg, Lech.
- Rogan, W., Gladen, B., McKinney, J., Careras, N., Hardy, P., Thullen, J., Tinglestad, J., Tully, M.: Neonatal effects of transplacental exposure to PCBs and DDE. *J.Pediatrics* **1986**, 109, 335.

- Routledge, E.J., Sumpter, J.P.: Estrogenic activity of surfactants and some of their degradation products assessed using a recombinant yeast screen. *Environ.Toxicol.Chem.* **1996**, 15, 241.
- Routledge, E.J., Parker, J., Odum, J., Ashby, J., Sumpter, J.P.: Some alkyl hydroxy benzoate preservatives (parabens) are estrogenic. *Toxicol.Appl.Pharmacol.* **1998**, 153, 12.
- Safe, S., Astroff, B., Harris, M., Zacharewski, T., Dickerson, R., Romkes, M., Biegel, L.: 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) and related compounds as antioestrogens: characterisation and mechanism of action. *Pharmacol.Toxicol.* **1991**, 69, 400.
- Schmidt, R.F., Thews, G.: Physiologie des Menschen. **1995**, 26.Aufl. Springer Verlag Berlin/Heidelberg/New York
- Schneider, S.L., Alks, V., Morreal, C.E., Sinha, D.K., Dao, T.L.: Estrogenic properties of 3,9-Dihydroxybenz(a)anthracen, a potential metabolite of benz(a)anthracen. *J.Natl.Cancer.Inst.* **1976**, 57, 1351.
- Sharpe, R.M., Fisher, J.S., Millar, M.M., Jobling, S., Sumpter, J.P.: Gestational and lactational exposure of rats to xenoestrogens results in reduced testicular size and sperm production. *Environ.Health Perspect.* **1995**, 103, 1136.
- Sheahan, D.A., Bucke, D., Matthiessen, P., Sumpter, J.P., Kirby, M.F., Neall, P., Waldock, M.: The effects of low levels of 17 α -Ethinylestradiol upon plasma vitellogenin levels in male and female rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, held at two acclimation temperatures. In: Müller, R., Lloyd, R. Sublethal and Chronic Effects of Pollutants on Freshwater Fish. **1994**, p.99-112, Fishing News Books, Blackwell Science Ltd., Oxford.
- Shihe, X.: Fate of cyclic methylsiloxanes in soils. 1. The degradation pathway. *Environ.Sci.Technol.* **1999**, 33, 603.
- Soto, A.M., Justicia, H., Wray, J.W., Sonnenschein, C.: p-Nonyl-phenol: an estrogenic xenobiotic released from "modified" polystyrene. *Environ.Health.Perspect.* **1991**, 92, 167.

- Soto, A.M., Lin, T.M., Justicia, H., Silvia, R.M., Sonnenschein, C.: An "in culture" bioassay to assess the estrogenicity of xenobiotics (e-screen). In: Chemically induced alterations in sexual and functional developments. The wildlife/human connection. Colborn, T., Clement, C. **1992**, p.113-127, Princeton Scientific Publishing Co., Inc.
- Soto, A.M., Chung, K.L., Sonnenschein, C.: The pesticides endosulfan, toxaphene and dieldrin have estrogen effects on human estrogen-sensitive cells. *Environ.Health.Perspect.* **1994**, 102, 380.
- Soto, A.M., Sonnenschein, C., Chung, K.L., Fernandez, M.F., Olea Serrano, F.: The e-screen assay as a tool to identify estrogens: an update on estrogenic environmental pollutants. *Environ.Health.Perspect.* **1995**, 103, 113.
- Spengler, P., Orth, C., Kempter, C., Körner, W., Metzger, J.W.: Quantification of substances with estrogenic activity in effluents of municipal and industrial sewage plants. Posterpräsentation auf der internationalen Konferenz 'Environmental Endocrine Disrupting Chemicals', 07.-12.03.1999, Ascona, Monte Verità.
- Spink, D.C., Johnson, J.A., Connor, S.P., Aldous, K.M., Gierthy, J.F.: Stimulation of 17 β -estradiol metabolism in MCF-7 cells by bromochloro- and chloromethyl-substituted dibenzo-p-dioxins and dibenzofuranes: correlations with antiestrogenic activity. *J.Toxicol.Environm.Hlth.* **1994**, 41, 451.
- Strauss, H. *M.C.E.* **1998**, 144, 83.
- Stumpf, M., Ternes, T.A., Haberer, K., Baumann, W.: Determination of natural and synthetic estrogens in sewage plants and river water. *Vom Wasser* **1996**, 87, 251.
- Swan, H., Elkin, E.P., Fenster, L.: Have sperm densities declined? A reanalysis of global trend data. *Environ.Health Perspect.* **1997**, 105, 1228.
- Takasugi, N., Bern, H.A.: Introduction: Abnormal genital tract development in mammals following early exposure to sex hormones. In: Mori, T., Nagasawa, H. Toxicity of hormones in perinatal life. **1988**, CRC Press, Boca Raton, Florida, USA.

- Ternes, T.A., Stumpf, M., Mueller, J., Haberer, K., Wilken, R.-D., Servos, M.: Behavior and occurrence of estrogens in municipal sewage treatment plants-I. Investigations in Germany, Canada and Brazil. *Sci.Total.Environm.* **1999**, 225(1-2), 81.
- Ternes, T.A., Kreckel, P., Mueller, J.: Behavior and occurrence of estrogens in municipal sewage treatment plants-II. Aerobic batch experiments with activated sludge. *Sci.Total.Environm.* **1999**, 225(1-2), 91.
- Thierfelder, W.: Der Einfluß umweltrelevanter östrogenen und östrogenartiger Substanzen auf das Reproduktionssystem. *Bundesgesundheitsblatt* **1995**, 9, 338.
- Thrupp, L.A.: Sterilisation of workers from pesticide exposure: the causes and consequences of DBCP - induced damage in Costa Rica. *Int. J. of Health Services*, **1991**, 21, 731.
- Tullner, W.W.: Uterotrophic action of the insecticide methoxychlor. *Science* **1961**, 133, 647.
- UBA - Umweltbundesamt Forschungsbericht 102 04 279: Substanzen mit endokriner Wirkung in Oberflächengewässern. **1997**, Texte 46/97.
- UBA - Umweltbundesamt Forschungsbericht 216 02 001/08: Einstufung von Schadstoffen als endokrin wirksame Substanzen. **1998**.
- Verdeal, K., Brown, R.R., Richardson, T., Ryan, D.S.: Affinity of phytoestrogens for estradiol-binding proteins and effects of coumestrol on growth of 7,12-dimethylbenz(a)anthracene-induced rat mammary tumors. *JNCI* **1980**, 64, 285.
- Walther, B.Th.: Assessing reproductive toxicity based on zonagenesis assays of xenoestrogens, and new concepts concerning animal gestation. Vortrag gehalten auf der internationalen Konferenz 'Environmental Endocrine Disrupting Chemicals', 07.-12.03.1999, Ascona, Monte Verità.
- Weybridge: European workshop on the impact of endocrine disruptors on human health and wildlife, Weybridge, UK, **1996**.

- White, R., Jobling, S., Hoare, S.A., Sumpter, J.P., Parker, M.G.: Environmentally persistent alkylphenolic compounds are estrogenic. *Endocrinology* **1994**, 135, 175.
- WHO - World Health Organisation: Environmental Health Criteria 83: DDT and its derivatives - Environmental aspects. **1989**, WHO, Genf.
- WHO - World Health Organisation: Environmental Health Criteria 91: Aldrin and Dieldrin. **1989**, WHO, Genf.
- WHO - World Health Organisation: Environmental Health Criteria 116: Tributyl compounds. **1993**, WHO, Genf.
- WHO - World Health Organisation: Environmental Health Criteria 140: Polychlorinated Biphenyls and Triphenyls. **1993**, WHO, Genf.
- Wilcox, M.L., Wahlqvist, M.L., Burger, H.G., Medley, G. Oestrogen effects of plant derived foods in postmonopausal woman. *BMJ* **1996**, 301, 905.
- WWF - World Wildlife Fund: Umweltgifte mit hormoneller Wirkung. Umweltstiftung WWF-Deutschland, **1997**, Frankfurt am Main.

11 Anhang

11.1 Liste der identifizierten und potentiellen Chemikalien mit endokriner Wirkung mit CAS-Nummer

Von verschiedenen Behörden und Autoren sind bereits umfangreiche Listen von Verbindungen mit endokriner Wirkung erschienen (Colborn et al., 1993; WWF, 1997; UBA, 1997/1998). Darin werden insbesondere Industriechemikalien und halogenierte Pestizide in östrogen, antiöstrogen, androgen, antiandrogen bzw. schlicht endokrin wirksame Chemikalien eingeteilt.

Im folgenden sind die als endokrin aktiv identifizierten oder verdächtigten Vertreter der in der vorliegenden Literaturstudie genannten Verbindungsklassen tabellarisch zusammengestellt, wobei keinerlei Anspruch auf Vollständigkeit erhoben wird.

ANISOLE

Name	CAS Nr.
t-Butyl-4-hydroxyanisol (BHA, techn. Gemisch)	25013-16-5

DDT UND METABOLITE

Name	CAS Nr.
DDT (technisch)	50-29-3
o,p'-DDT	789-02-6
3-OH-o,p'-DDT	43216-70-2
4-MeO-o,p'-DDT	65148-72-3
5-OH-o,p'-DDT	65148-73-4
5-MeO-o,p'-DDT	65148-74-5
p,p'-DDT	50-29-3
o,p'-DDD	53-19-0
5-MeO-o,p'-DDD	65148-75-6
p,p'-DDD	72-54-8
m,p'-DDD	4329-12-8
o,p'-DDE	3424-82-6
3-MeO-o,p'-DDE	65148-80-3
4-MeO-o,p'-DDE	65148-81-4
5-MeO-o,p'-DDE	65148-82-5
p,p'-DDE	72-55-9
o,p'-DDA	34113-46-7
3-MeO-o,p'-DDA	65148-76-7
5-MeO-o,p'-DDA	65148-77-8

o,p'-DDA-glycinat	65148-83-6
o,p'-DDMU	14835-94-0
1,1,1,2-Tetrachlor-2,2-bis(4-chlorphenyl)ethan	3563-45-9
1,1,1-Trichlor-2,2-bis(phenyl)ethan	2971-22-4

METHOXYCHLOR UND DERIVATE

Name	CAS Nr.
Methoxychlor (technisch)	72-43-5
p,p'-Methoxychlor	72-43-5
Bis-OH-Methoxychlor	2971-36-0
MDDE	2132-70-9
Bis-OH-MDDE	14868-03-2
1,3-Dichlor-2,2-bis(4-methoxy-3-methylphenyl)propan	30668-06-5
Mono-OH-Methoxychlor	28463-03-8
Mono-OH-MDDE	75938-34-0

PHENYLHYDROXYPHENYLMETHANE

Name	CAS Nr.
Phenyl-4-hydroxyphenylmethan (4-Benzylphenol)	101-53-1
Phenyl-2-hydroxyphenylmethan (2-Benzylphenol)	28994-41-4

BIS(HYDROXYPHENYL)METHANE UND DERIVATE

Name	CAS Nr.
Bis(3-hydroxyphenyl)methan	10193-50-7
Bis(4-hydroxyphenyl)methan	620-92-8
4-Hydroxyphenyl-4'-methoxyphenylmethan	21388-77-2
2,4-Dihydroxybenzophenon (Resbenzophenone)	131-56-6
4,4'-Dihydroxybenzophenon	611-99-4
2,2'-Dihydroxy-4,4'-dimethoxybenzophenon	131-54-4
2,3,4,4'-Tetrahydroxybenzophenon	31127-54-5
2,3,4,3',4',5'-Hexahydroxybenzophenon	52479-85-3
1,1-Bis(4-hydroxyphenyl)ethan	2081-08-5
1,1-Bis(4-hydroxyphenyl)-n-propan	1576-13-2
2,2-Bis(4-hydroxyphenyl)propan (Bisphenol A)	80-05-7
1,1-Bis(4-hydroxyphenyl)-n-butan	4731-84-4
1,1-Bis(4-hydroxyphenyl)-iso-butan	1844-00-4
2,2-Bis(4-hydroxyphenyl)-n-butan (Bisphenol B)	77-40-7
1,1-Bis(4-hydroxyphenyl)-iso-pentan	2081-32-5
2,2-Bis(4-hydroxyphenyl)-n-pentan	4204-58-4
3,3-Bis(4-hydroxyphenyl)-n-pentan	3600-64-4
2,2-Bis(4-hydroxyphenyl)-3-methyl-n-butan	3555-19-9

1,1-Bis(4-hydroxyphenyl)-2-ethyl-n-butan	92569-29-4
1,1-Bis(4-hydroxyphenyl)-n-hexan	24362-98-9
2,2-Bis(4-hydroxyphenyl)-n-hexan	14007-30-8
3,3-Bis(4-hydroxyphenyl)-n-hexan	10196-77-7
2,2-Bis(4-hydroxyphenyl)-4-methyl-n-pentan	6807-17-6
1,1-Bis(4-hydroxyphenyl)-n-heptan	3373-03-3
2,2-Bis(4-hydroxyphenyl)-n-heptan	41709-94-8
4,4-Bis(4-hydroxyphenyl)-n-heptan	7425-79-8
1,1-Bis(4-hydroxyphenyl)-2-n-propylpentan	-
2,2-Bis(4-hydroxyphenyl)-n-oktan	6052-90-0
4,4-Bis(4-hydroxyphenyl)-n-oktan	-
5,5-Bis(4-hydroxyphenyl)-n-nonan	57547-76-9
6,6-Bis(4-hydroxyphenyl)-n-undekan	59176-75-9
2,2,6,6-Tetramethyl-4,4-bis(4-hydroxyphenyl)-n-heptan	-
2,2,5,5-Tetra(4-hydroxyphenyl)-n-hexan	7615-24-9
2,2',6,6'-Tetrabromo-4,4'-isopropylidenebisphenol (TBPA)	79-94-7

DIPHENYLETHAN-DERIVATE

Name	CAS Nr.
3,4-Bis(4-hydroxyphenyl)-hexan (Hexestrol)	84-16-2
3,4-Bis(4-hydroxyphenyl)-2,4-hexadien (Dienestrol)	84-17-3
4,5-Bis(4-hydroxyphenyl)-3,5-octadien	-
3,4-Bis(4-hydroxyphenyl)-3,4-hexandiol	7507-01-9
4,5-Bis(4-hydroxyphenyl)-4,5-octandiol	-
2,3-Bis(4-hydroxyphenyl)-2,3-butandiol	22800-75-5

DIPHENYLETHYLEN-DERIVATE

Name	CAS Nr.
a,a'-Diethyl-4,4'-dihydroxystilben (Diethylstilböstrol, DES)	6898-97-1
a-Methyl-a'-ethyl-4,4'-dihydroxystilben	3810-75-1
a,a'-Dimethyl-4,4'-dihydroxystilben	13366-36-4
a,a'-Dipropyl-4,4'-dihydroxystilben	35752-77-3
a-Methyl-4,4'-dihydroxystilben	72108-22-6
4,4'-Dihydroxystilben	659-22-3
4-Hydroxystilben	3839-46-1
Stilben	588-59-0

DIPHENYLETHER

Name	CAS Nr.
4-Hydroxy-diphenylether	-
4,4'-Dihydroxy-diphenylether	1965-09-9

DIPHENYLPROPAN-DERIVATE

Name	CAS Nr.
2,4-Bis(4-hydroxyphenyl)-3-ethylhexan	85-95-0
2,4-Bis(4-hydroxyphenyl)-3-ethylpentan	-
3,5-Bis(4-hydroxyphenyl)heptan	140131-31-3
1,3-Bis(4-hydroxyphenyl)pentan	4865-83-2
1,3-Bis(4-hydroxyphenyl)propan	2549-50-0

TRIPHENYLMETHAN-DERIVATE

Name	CAS Nr.
4-Hydroxy-triphenylmethan	791-92-4
Bis(4-Hydroxyphenyl)phenylmethan	4081-02-1
1,1-Bis(4-hydroxyphenyl)-1-phenylethan	1571-75-1
1,1-Bis(4-hydroxyphenyl)-1-(4-methoxyphenyl)ethan	115489-12-8
Bis(4-hydroxyphenyl)[(2-phenoxysulfonyl)phenyl]methan	115481-73-7
2-[Bis(4-hydroxyphenyl)methyl]benzylalkohol (Phenolphthalol)	81-92-5
3,3'-Bis(4-hydroxyphenyl)phthalid (Phenolphthalein)	77-09-8
2,4-Dihydroxytriphenylmethancarbonsäurelacton	-
4-Hydroxyphenyl-di-a-naphthylmethan	135505-63-4
Diphenyl-a-naphthylcarbinol	630-95-5

NICHT CHLORIERTE BIPHENYLE UND DERIVATE

Name	CAS Nr.
2,2'-Dihydroxybiphenyl (2,2'-Biphenol)	1806-29-7
4,4'-Dihydroxybiphenyl (4,4'-Biphenol)	92-88-6
4-Phenylphenol (4-Hydroxybiphenyl, PPP)	92-69-3
2-Phenylphenol (2-Hydroxybiphenyl, OPP)	90-43-7

CHLORIERTE UND POLYCHLORIERTE BIPHENYLE (PCBs)

Name	CAS Nr.
PCB Aroclor 1221	11104-28-2
PCB Aroclor 1232	11141-16-5
PCB Aroclor 1242	53469-21-9
PCB Aroclor 1248	12672-29-6
2-Chlorbiphenyl (PCB 1)	2051-60-7
3-Chlorbiphenyl (PCB 2)	2051-61-8

4-Chlorbiphenyl (PCB 3)	2051-62-9
2,2'-Dichlorbiphenyl (PCB 4)	13029-08-8
2,4'-Dichlorbiphenyl (PCB 8)	34883-43-7
3,3'-Dichlorbiphenyl (PCB 11)	2050-67-1
4,4'-Dichlorbiphenyl (PCB 15)	2050-68-2
2,2',5-Trichlorbiphenyl (PCB 18)	37680-65-2
4-Hydroxy-2',4',6'-trichlorbiphenyl	14962-28-8
2,2',4,4'-Tetrachlorbiphenyl (PCB 47)	2437-79-8
2,2';5,5'-Tetrachlorbiphenyl (PCB 52)	35693-99-3
3,3',4,4'-Tetrachlorbiphenyl (PCB 77)	32598-13-3
4-Hydroxy-2',3',4',5'-tetrachlorbiphenyl	67651-34-7
2,2',4,4',5,5'-Hexachlorbiphenyl (PCB 153)	35065-27-1
4-Hydroxy-2-chlorbiphenyl	23719-22-4
4-Hydroxy-4'-chlorbiphenyl	28034-99-3
4,4'-Dihydroxy-2'-chlorbiphenyl	56858-70-9
2-Hydroxy-2',5'-dichlorbiphenyl	53905-30-9
3-Hydroxy-2',5'-dichlorbiphenyl	53905-29-6
4-Hydroxy-2',5'-dichlorbiphenyl	53905-28-5
4-Hydroxy-2',6'-dichlorbiphenyl	79881-33-7
2,3,4-Trichlorbiphenyl (PCB 21)	55702-46-0
4-Hydroxy-2,2',5'-trichlorbiphenyl	53905-33-2
4-Hydroxy-3,4',5-trichlorbiphenyl	4400-06-0
2,2',4,5-Tetrachlorbiphenyl (PCB 48)	70362-47-9
2,3,4,5-Tetrachlorbiphenyl (PCB 61)	33284-53-6
2,4,4',6-Tetrachlorbiphenyl (PCB 75)	32598-12-2
3-Hydroxy-2',3',4',5'-tetrachlorbiphenyl	67651-37-0
4,4'-Dihydroxy-2,3,5,6-tetrachlorbiphenyl	100702-98-5
4,4'-Dihydroxy-3,3',5,5'-tetrachlorbiphenyl	13049-13-3
2,2',3,3',6,6'-Hexachlorbiphenyl (PCB 136)	38411-22-2

CHLORIERTE UND POLYCHLORIERTE TERPHENYLE (PCTs)

Name	CAS Nr.
PCT Aroclor 5442	12642-23-8

POLYZYKLISCHE AROMATISCHE KOHLENWASSERSTOFFE (PAK)

Name	CAS Nr.
1-Oxo-1,2,3,4-tetrahydrophenanthren	573-22-8
Dehydrodoisynolsäure (Bisdehydrodoisynolsäure)	5684-12-8
1,9-Dimethylphenanthren	20291-73-0

2,8-Dihydroxy-4b,5,6,10b,11,12-hexahydrochrysen	58024-06-9
3,9-Dihydroxybenz(a)anthracen	56614-97-2
5,6-Cyklopento-1,2-benzanthracen	7099-43-6
9,10-Dihydroxy-9,10-diethyl-9,10-dihydro-1,2,5,6-dibenzanthracen	-
9,10-Dihydroxy-9,10-di-n-propyl-9,10-dihydro-1,2,5,6-dibenzanthracen	63041-56-5
9,10-Dihydroxy-9,10-di-n-butyl-9,10-dihydro-1,2,5,6-dibenzanthracen	63041-53-2
Benzo(a)pyren	50-32-8
3-Methylcholanthren	56-49-5
7,12-Dimethyl-1,2-benz(a)anthracen	57-97-6

NAPHTHOLE UND DERIVATE

Name	CAS Nr.
2-Hydroxy-6-naphthylpropionsäure	553-39-9
1-Naphthol	90-15-3
2-Naphthol	135-19-3
5,6,7,8-Tetrahydro-2-naphthol (6-Hydroxytetralin)	1125-78-6
6-Brom-2-naphthol	15231-91-1

ALKYLPHENOLE UND DERIVATE

Name	CAS Nr.
4-tert-Pentylphenol (p-tert-Amylphenol)	80-46-6
4-Cyclohexylphenol	1131-60-8
4-tert-Oktylphenol	140-66-9
4-Nonylphenol	104-40-5
4-Nonylphenoxyessigsäure	3115-49-9
4-Nonylphenoldiethoxylat	20427-84-3
4-(4-Hydroxyphenyl)-2,2,6,6-tetramethylcyclohexancarbonsäure	53792-11-3
4-Hydroxypropiophenon	70-70-2
4-Hydroxy-n-butyrophenon	1009-11-6
tert.-Butylhydroxyanisol	25013-16-5
4-sec-Butylphenol (4-(1-Methylpropyl)phenol)	99-71-8
4-tert-Butylphenol	98-54-4
2-sec-Pentylphenol (2-(1-Methylbutyl)phenol)	87-26-3
4-sec-Pentylphenol (4-(1-Methylbutyl)phenol)	94-06-4
4-iso-Pentylphenol (4-(3-Methylbutyl)phenol)	1805-61-4
4-Nonylphenolnonaethoxylat (Tergitol NP 9)	14409-72-4

PHENYLSILOXANE

Name	CAS Nr.
Diphenyltetramethyldisiloxan PhMe ₂ -SiOSiMe ₂ Ph	56-33-7
PhMe[SiCH ₂ CH ₂ SiMePhO]	17964-44-2
Diphenyltetramethylcyclotrisiloxan [(PhMeSiO) ₂ (Me ₂ SiO)]	51134-25-9
2,4-trans-Diphenyltetramethylcyclotrisiloxan-2,4-trans-[(PhMeSiO) ₂ (Me ₂ SiO)]	31751-59-4
Phenylhexamethylcyclotetrasiloxan [(PhHSiO)(Me ₂ SiO) ₃]	17156-72-8
Diphenylhexamethylcyclotetrasiloxan [(PhMeSiO) ₂ (Me ₂ SiO) ₂]	30026-85-8
2,6-cis-Diphenylhexamethylcyclotetrasiloxan-2,6-cis-[(PhMeSiO) ₂ (Me ₂ SiO) ₂]	33204-76-1
2,6-trans-Diphenylhexamethylcyclotetrasiloxan-2,6-trans-[(PhMeSiO) ₂ (Me ₂ SiO) ₂]	33204-77-2
o-Tolylheptamethylcyclotetrasiloxan [(o-TolylMeSiO)(Me ₂ SiO) ₃]	35964-76-2
Phenylheptamethylcyclotetrasiloxan [(PhMeSiO)(Me ₂ SiO) ₃]	10448-09-6

CHLORIERTE CYCLODIENE UND CAMPHENE

Name	CAS Nr.
Kepon (Chlordecon)	143-50-0
Toxaphen (Camphechlor)	8001-35-2
α,β-Endosulfan (technisch)	115-29-7
α-Endosulfan	959-98-8
Aldrin	309-00-2
Chlorden	3734-48-3
1-Hydroxychlorden	2597-11-7
beta-Endosulfan	33213-65-9
Dieldrin	60-57-1
cis-Nonachlor	5103-73-1
trans-Nonachlor	39765-80-5
Chlordan	12789-03-6

PHTHALSÄUREESTER

Name	CAS Nr.
Benzylbutylphthalat (BBP)	85-68-7
Di-n-butylphthalat (DBP)	84-74-2
Di-(2-ethylhexyl)phthalat (DEHP)	117-81-7

HALOGENIERTE DIBENZODIOXINE (PCDDs)

Name	CAS Nr.
2,3,7,8-Tetrachlordibenzo-p-dioxin	1746-01-6
7-Brom-2,3-dichlordibenzodioxin	97741-74-7
1,3,7,8-Tetrachlordibenzodioxin	50585-46-1
1,2,3,7,8-Pentachlordibenzodioxin	40321-76-4
2,3-Dibrom-7,8-dichlordibenzodioxin	50585-40-5
2,8-Dibrom-3,7-dichlordibenzodioxin	109333-32-6
2-Brom-1,3,7,8-tetrachlordibenzodioxin	131167-13-0

HALOGENIERTE DIBENZOFURANE (PCDFs)

Name	CAS Nr.
1,2,7,8-Tetrachlordibenzofuran	58802-20-3
1,3,6,8-Tetrachlordibenzofuran	71998-72-6
2,3,7,8-Tetrachlordibenzofuran	51207-31-9
8-Brom-2,3,4-trichlordibenzofuran	103124-72-7
1,2,3,7,8-Pentachlordibenzofuran	57117-41-6
1,2,3,7,9-Pentachlordibenzofuran	83704-53-4
2,3,4,7,8-Pentachlordibenzofuran	57117-31-4

**ALKYLSUBSTITUIERTE
DIBENZODIOXINE**

Name	CAS Nr.
8-Methyl-2,3,7-trichlordibenzodioxin	112344-57-7

HALOGENIERTE**ALKYLSUBSTITUIERTE CHLORIERTE DIBENZOFURANE**

Name	CAS Nr.
6-Methyl-1,3,8-trichlordibenzofuran	118174-38-2
6-Methyl-2,3,8-trichlordibenzofuran	172485-97-1
8-Methyl-1,3,7-trichlordibenzofuran	172485-98-2
8-Methyl-1,3,6-trichlordibenzofuran	172485-96-0
8-Methyl-2,3,7-trichlordibenzofuran	172485-99-3
6-Ethyl-1,3,8-trichlordibenzofuran	125652-16-6
6-n-Propyl-1,3,8-trichlordibenzofuran	125652-14-4
6-i-Propyl-1,3,8-trichlordibenzofuran	125652-13-3
6-t-Butyl-1,3,8-trichlordibenzofuran	125652-12-2
6-Methyl-2,3,4,8-tetrachlordibenzofuran	139883-51-5
8-Methyl-1,2,4,7-tetrachlordibenzofuran	139883-50-4
8-Methyl-2,3,4,7-tetrachlordibenzofuran	172486-00-9

LINURON, DIURON UND DERIVATE

Name	CAS Nr.
3,4-Dichloranilin	95-76-1
Diuron	330-54-1
Linuron (Lorox)	330-55-2
3-(3,4-Dichlorphenyl)-1-methoxyharnstoff	17356-61-5
3-(3,4-Dichlorphenyl)-1-methylharnstoff	3567-62-2

VINCLOZOLIN UND DERIVATE

Name	CAS Nr.
Vinclozolin	50471-44-8
3,5-Dichlorphenylcarbaminsäure-(1-carboxy-1-methyl)-allyl	88378-55-6
N-(3,5-Dichlorphenyl)-2-hydroxy-2-methyl-3-butensäureamid	83792-61-4

ISOMERE DES HEXACHLORCYCLOHEXANS (HCH)

Name	CAS Nr.
γ -HCH (Lindan)	58-89-9
β -HCH	319-85-7

THIOCARBAMATE

Name	CAS Nr.
Ziram	137-30-4
Maneb	12427-38-2
Metiram	9006-42-2
Zineb	12122-67-7
Thiram	137-26-8
Mancozeb	8018-01-7

BROMIERTE UND POLYBROMIERTE BIPHENYLE (PBBs)

Name	CAS Nr.
PBB (Gruppe von 209 Kongeneren)	67774-32-7

TRIAZINE UND TRIAZOLE

Name	CAS Nr.
Atrazin	1912-24-9
Amitrol (Aminotriazol)	61-82-5
Metribuzin	21087-64-9

CARBAMATE UND DITHIOCARBAMATE

Name	CAS Nr.
Carbaryl	63-25-2
Thiram	137-26-8
Ziram	137-30-4
Maneb	12427-38-2
Metiram	9006-42-2
Zineb	12122-67-7

ORGANISCHE PHOSPHORSÄUREESTER

Name	CAS Nr.
Parathion (Parathion(-ethyl))	56-38-2
Quinalphos (Chinalphos)	13593-03-8

CHLORPHENOLE UND CHLORPHENOXYVERBINDUNGEN

Name	CAS Nr.
2,4,5-Trichlorphenoxyessigsäure (2,4,5-T)	93-76-5
2,4-Dichlorphenoxyessigsäure (2,4-D)	94-75-7
Pentachlorphenol (PCP)	87-86-5
2,4-Dichlorphenol	120-83-2

HALOGENIERTE ALIPHATEN UND HALOGENIERTE AROMATEN

Name	CAS Nr.
Hexachlorbenzol (HCB)	118-74-1

SONSTIGE STOFFE

Name	CAS Nr.
Flutamid	13311-84-7
Dicofol	115-32-2
Fenarimol	60168-88-9
Trifluralin	1582-09-8
Nitrofen	1836-75-5
Styrol	100-42-5
Nitrofen	1836-75-5
Trifluoralin	1582-09-8
Fenarimol	60168-88-9
Ethinylöstradiol	57-63-6
Mestranol	72-33-3