

Chemikalien mit endokrin wirksamem Potenzial: eine Gefährdung für die menschliche Gesundheit?**

Helmut Greim*

Stichwörter:

Endokrine Wirkung · Hormone · Toxikologie · Umweltchemie

1. Einleitung

Im Jahre 1996 wurde das Buch „Die bedrohte Zukunft: Gefährden wir unsere Fruchtbarkeit und Überlebensfähigkeit?“, im Original „Our Stolen Future“ von Colborn, Dumanoski und Myers veröffentlicht.^[1] Danach haben Berichte über verringerte Spermienzahlen und erhöhte Inzidenzen an Hodentumoren bei Männer und Brustdrüsenumoren bei Frauen intensive Diskussionen sowohl in der Öffentlichkeit als auch in der Wissenschaft hervorgerufen. Zuvor hatten Carlsen und Mitarbeiter^[2] insgesamt 61 Studien über Spermienzahlen ausgewertet und festgestellt, dass zwischen 1938 und 1990 eine Abnahme der Spermienzahl von 113 Millionen auf 66 Millionen Spermien pro ml Samenflüssigkeit zu verzeichnen war. Dies veranlasste Sharpe und Skakkebaek^[3] eine Hypothese zu formulieren, derzufolge die im Laufe von drei bis fünf Jahrzehnten zu beobachtende zunehmende Inzidenz an Störungen und Erkrankungen der männlichen Geschlechtsorgane (wie Hodenkrebs, Missbildungen der Harnröhre oder Hodenhochstand) mit Chemikalien, die die Wirkung von Östrogenen imitieren, in Verbindung gebracht werden könnte.

Insbesondere wurden Östrogen-ähnlich wirkende Arzneimittel, pflanzliche Östrogene (Phytoöstrogene), Östrogene in der Kuhmilch und verschiedene Industriechemikalien mit östrogener Wirkung in der Umwelt betrachtet. Die Hypothese wurde gestützt durch die Befunde bei Untersuchungen an wildlebenden Tieren: So wird DDT im Körper von Greifvögeln akkumuliert, die am Ende der Nahrungskette stehen, und führt zu Störungen der Reproduktion. Colborn et al.^[4] beobachteten bei einer Alligatorenpopulation, dass die Männchen verkleinerte Penisse aufwiesen und die abgelegten Alligatoreneier meist unbefruchtet blieben. Der Grund war hier die Einleitung großer Mengen des Insektizids Dicofol in einen See. In anderen Regionen zählte man mehr weibliche als männliche Nachkommen bei mehreren Raubfischarten sowie bei Möwen, die sich von diesen Fischen ernährten. Diese Beobachtungen und Hypothesen führten dazu, dass eine Vielzahl an Studien durchgeführt wurde, um Chemikalien mit Hormon-ähnlichen Wirkungen zu identifizieren, ihren Wirkungsmechanismus aufzuklären und ihre Bedeutung für Mensch und Umwelt zu erfassen.

Die verschiedenen Effekte wurden von vielen Autoren und Gremien beschrieben und diskutiert,^[5–14] ebenso die Konsequenzen für die Entwicklung geeigneter Testverfahren.^[15,16] Es existiert eine kontinuierliche Reihe von Berichten, die eine Assoziation zwischen einer Exposition gegenüber Chemikalien und Hormon-ähnlichen Störungen bei Kindern beschreibt. Darunter sind:

- Geburtsdefekte,
- Entwicklungsstörungen,

- sinkender Anteil an männlichen Neugeborenen,
- psychische Störungen in Familien von Pestizid-Arbeitern,^[17,18]
- Testicular-Dysgenesis-Syndrom als Folge einer Störung der embryonalen Programmierung und der Entwicklung der Geschlechtsorgane während der Fetalperiode durch adverse (ungünstige) Umwelteinflüsse,^[19]
- nicht ausreichende androgene Wirkungen im männlichen Fetus mit nachfolgender Demaskulinisierung und Fehlmündung der Harnröhre (Hypospadie) im Neugeborenen aufgrund einer Exposition in utero gegenüber Hormon-ähnlich wirkenden Substanzen aus der Umwelt.^[20]

Jedoch zeigt keine dieser vorgeschlagenen Assoziationen – außer bei Szenarien mit hoher Exposition wie bei der Yusho-Erkrankung nach Aufnahme von großen Mengen polychlorierter Biphenyle, Dibenzodioxine und Dibenzofurane^[21,22] – eine ausreichend robuste Korrelation zwischen Exposition und Effekt, sodass zunehmend andere Faktoren wie sozio-demographische Charakteristiken^[23] oder Kombinationen von mehr als einem Problem^[19] diskutiert werden.

Es ist nicht möglich, alle verfügbaren Informationen zusammenzufassen und die sorgfältig ausgearbeiteten Berichte verschiedener Bewertungsgremien zu ergänzen. Deshalb werden in den folgenden Abschnitten nur mögliche Mechanismen und Kriterien beschrieben, anhand derer sich beurteilen lässt, wie plausibel eine Korrelation zwischen adversen Effekten bei Kindern und der Exposition gegenüber Chemikalien mit

[*] Prof. Dr. H. Greim
Institut für Toxikologie und
Umwelthygiene
Technische Universität München
Hohenbacherstraße 15–17
85350 Freising Weihenstephan
(Deutschland)
Fax: (+49) 8161-715618
E-mail: helmut.greim@lrz.tum.de

[**] Für eine Erklärung der verwendeten Fachbegriffe siehe Glossar am Ende des Essays.

endokriner (Hormon-ähnlicher) Wirkung ist. Mögliche Effekte endokrin wirksamer Substanzen in der Umwelt wurden vor kurzem von Lintelmann und Mitarbeitern zusammengefasst.^[24]

2. Substanzen, die die Wirkung von Hormonen imitieren

Eine Substanz mit endokriner Wirkung („endocrine disruptor“) ist definiert als eine exogene Substanz oder ein exogenes Gemisch, das die Funktion(en) des endokrinen Systems verändert und infolgedessen adverse gesundheitliche Effekte in einem intakten Organismus, seinen Nachkommen oder seinen (Sub-)Populationen hervorruft.^[7,25] Interaktionen mit endogenen Hormonen können über unterschiedliche Mechanismen erfolgen: Eine Gruppe von Fremdstoffen kann Synthese, Ausschüttung, Transport, Wirkung, Metabolismus und Ausscheidung von Hormonen beeinflussen. Eine weitere Gruppe konkurriert mit Hormonen um deren Rezeptoren. Zu dieser Gruppe gehören Phytoöstrogene wie Coumestrol, Daidzein oder Genistein, Arzneimittel wie Diethylstilbostrol, Ethinylöstradiol oder Tamoxifen sowie Industriechemikalien wie DDT, 4-Nonylphenol oder Bisphenol A. Sie binden an den Östrogenrezeptor und interagieren mit der Bindung des Hormons. Eine dritte Gruppe, wie der DDT-Metabolit *p,p'*-DDE oder Vinclozolin-Metabolite, interagiert mit dem Androgenrezeptor, dem Rezeptor für das männliche Hormon Testosteron. Für die Vermutung, dass Xenoöstrogene über einen einzelnen zellulären Rezeptor agieren, an den endogene endokrine Modulatoren nicht binden, gibt es keinen Beleg.

Stoffe, die mit einem Rezeptor interagieren, lösen eine Kaskade an Rezeptor-regulierten Wirkungen aus. Substanzen, die mit physiologischen Liganden wie einem Hormon um einen Rezeptor konkurrieren und seinen Effekt imitieren, werden Agonisten genannt, Stoffe, die den Rezeptor blockieren, Antagonisten. Die Kinetik der Interaktionen von Fremdstoffen mit einer endogenen Verbindung an einem Rezeptor ist gut erforscht und stellt die Basis für die Bewertung von Rezeptor-vermittelten Arzneimittelwirkungen dar.

(siehe Lehrbücher der Pharmakologie). Interaktionen eines Liganden mit einem Rezeptor werden gemäß Gleichung (1) beschrieben (siehe auch Abbildung 1).

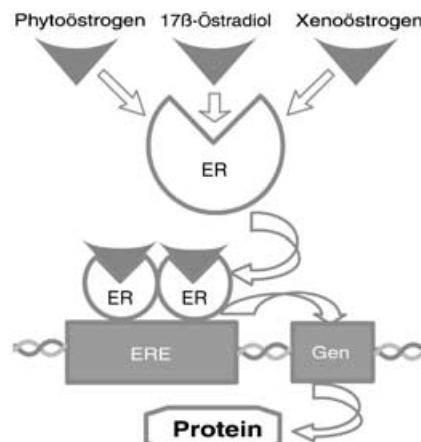
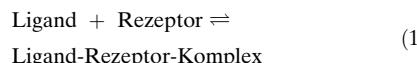


Abbildung 1. Kompetitive Hemmung von Xenoöstrogenen und Phytoöstrogenen mit 17β-Östradiol an einem Östrogenrezeptor (ER). Der Ligand-Rezeptor-Komplex interagiert mit dem „estrogen responsive element“ (ERE), das die verantwortlichen Gene aktiviert, die wiederum eine Östrogen-abhängige Produktion von Proteinen auslösen.

Der Austausch eines physiologischen Liganden wie eines Östrogens an einem Rezeptor gegen einen Konkurrenten wie ein Xenoöstrogen hängt von der relativen Affinität zum Rezeptor und der Konzentration ab. Zum Beispiel erfordert der Austausch des physiologischen Liganden vom Rezeptor gegen eine Substanz mit 1000fach niedrigerer Affinität eine 1000fach höhere Konzentration des Fremdstoffs. Obwohl dieses Beispiel die kompetitive Interaktion einer Substanz am Rezeptor stark vereinfacht, zeigt es doch, dass die relative Bindungsaffinität der zu untersuchenden Substanzen und ihre Konzentrationen im Körper Hauptkriterien für die Beurteilung möglicher Effekte von Substanzen mit endokriner Wirkung sind.

Der Wissenschaftliche Ausschuss „Toxizität, Ökotoxizität und Umwelt“ (Scientific Committee on Toxicology, Ecotoxicology and the Environment, CSTEE)^[7] der Europäischen Kommission hat die Wirkungsstärken von Xenoöstrogen-Konzentrationen, die in menschlichem Blut gemessen wurden,

als Surrogat für deren Konzentrationen am Rezeptor mit der Wirkungsstärke von Östradiol-Konzentrationen in menschlichem Blut verglichen. Es scheint, dass die relative Wirkungsstärke von *o,p'*-DDT, 4-Nonylphenol oder Bisphenol A ungefähr 10⁶-mal geringer ist als die von Östradiol. Nur das Phytoöstrogen Genistein ließ eine Wirkungsstärke erkennen, die jene von Östradiol übersteigt. Hieraus wurde geschlossen, dass eine Interaktion der Verbindungen mit dem Rezeptor, bei der physiologische Auswirkungen zu beobachten sind, unwahrscheinlich ist.

Neben den Reproduktionsorganen sind die Zielorgane der Wirkungen von Steroidhormonen Leber, Nieren, Nebennieren, ZNS, Immunsystem, kardiovaskuläres System und Knochen. Die entsprechenden Rezeptoren sind in diesen Geweben identifiziert worden. Darüber hinaus gibt es Hinweise auf eine konzentrationsabhängige Stimulation (bei niedrigen Konzentrationen) oder Hemmung (bei hohen Konzentrationen) des Tumorwachstums durch Steroidhormone.^[10,26,27] Zum Beispiel stimulieren Xenoöstrogene die mitotische Aktivität durch Interaktion mit spezifischen Rezeptoren in Zellen des weiblichen Genitaltraktes. Viele Chemikalien, die vom Menschen mit der Nahrung aufgenommen werden, haben Östrogenähnliche Wirkungen, die in einer Vielzahl von Testsystemen identifiziert wurden.^[28] Unter diesen finden sich Industriechemikalien wie bestimmte Herbizide, Fungizide, Organochlor-Insektizide, Nematozide, Organophosphate, Pyrethroide, Schwermetalle, polychlorierte Biphenyle und Phthalate. Colborn und Mitarbeiter^[4] haben eine Liste von 45 Chemikalien zusammengestellt, darunter polychlorierte Biphenyle, Dibenzodioxine, Dibenzofurane und DDT, denen sie einen Einfluss auf das menschliche Reproduktionssystem zuordnen. Diese Liste enthält auch Phytoöstrogene, d.h. natürlich vorkommende Pflanzeninhaltsstoffe.

3. Testsysteme zur Identifizierung von Stoffen mit endokriner Wirkung

Es gibt eine große Vielfalt an Testsystemen, die in verschiedenen experi-

mentellen Modifizierungen eingesetzt werden, was einen direkten Vergleich der Ergebnisse erschwert.^[28,15] In den meisten Fällen ist eine Standardisierung erforderlich. Die In-vitro-Testsysteme sind geeignet, um das intrinsische Hormon-ähnliche Potenzial („hazard identification“) einer Chemikalie und ihre relative Wirkungsstärke (Potenz) zu erfassen. Sie erfassen allerdings nicht die Toxikokinetik und Metabolite der Substanz, sodass die Resultate durch In-vivo-Tests bestätigt werden müssen. Einige dieser Tests werden in diesem Abschnitt kurz vorgestellt.

3.1. In-vitro-Testsysteme

Beim Hefe-Östrogenrezeptor-Test werden gentechnisch veränderte Hefezellen verwendet, die mit dem menschlichen Östrogenrezeptor- α -Gen zusammen mit einem Expressionsplasmid (Östrogen-responsive Sequenzen und lacZ-Reportergen, kodierend für die β -Galactosidase) transfiziert wurden. Die Zellen werden mit der Testsubstanz und einer chromogenen Verbindung inkubiert. Aktive Liganden, die an den Rezeptor binden, induzieren die Expression von β -Galactosidase, was zu einer Gelbfärbung der chromogenen Verbindung führt. Die gelbe Farbe wird mit einem Spektralphotometer quantifiziert.^[29]

Im E-SCREEN-Test werden Zellen der humanen Brustkrebszelllinie MCF-7 über mehrere Tage mit der Testsubstanz inkubiert, um eine Proliferation der Zellen zu ermöglichen. Abschließend wird die Zellzahl z.B. durch Messung der optischen Dichte quantifiziert.^[30]

Beim Östrogen-R(α)-Kompetitor-Screeningtest wird der in den 96 Vertiefungen einer Mikrotiterplatte fixierte, menschliche Östrogenrezeptor mit der Testsubstanz sowie einem Fluoresceinmarkierten 17 β -Östradiol versetzt. Nach Inkubation und Auswaschen wird die Fluoreszenz des 17 β -Östradiols, das dem Rezeptor anhaftet, gemessen.^[31]

Der plazentare Aromatasetest nutzt die durch Aromatase-Cytochrom-P450-vermittelte Umwandlung des C19-Androgens in das aromatische C18-Östrogen. Wie gezeigt wurde, hemmen Androgene diese Reaktion.^[32]

Der Androgenbindungs- oder Reportergentest und der Schilddrüsenrezeptor-Bindungstest bestimmen die Affinität von Androgen-ähnlichen oder Schilddrüsenhormon-ähnlichen Verbindungen für spezifische Rezeptoren in Relation zu denjenigen von endogenen Hormonen.

Es muss darauf hingewiesen werden, dass diese und andere In-vitro-Tests Screeningtests sind, mit deren Hilfe relative Wirkungsstärken der getesteten Chemikalien erfasst werden können, die aber durch adäquate Studien am Tier bestätigt werden müssen.^[33]

3.2. In-vivo-Testsysteme

Der traditionelle Hershberger-Test wurde ursprünglich entwickelt, um zwischen anabolen und androgenen Effekten von Arzneimitteln zu unterscheiden, indem das Gewicht des *musculus levator ani* (Trag- und Haltefunktion für die Beckeneingeweide) und der Samenblasen in Mäusen nach mehrwöchiger Exposition bestimmt wurde. Andere Arbeitsgruppen verwendeten verschiedene Behandlungsstrategien, um das androgeine Potenzial von Chemikalien in intakten und kastrierten Laborieren festzustellen. Die hierfür verwendeten Endpunkte sind z.B. das Prostatagewicht, das Gewicht der Samenblase oder der DNS/RNS-Gehalt in den männlichen Reproduktionsorganen.^[34]

Im „uterotrophic assay“ werden juvenile weibliche Ratten mit der Testsubstanz behandelt, und das Wachstum des Uterus wird über mehrere Behandlungstage verfolgt. Es gibt unterschiedliche Versuchsdesigns, die noch standardisiert werden müssen.^[35]

Der OECD-Test 407 ist ein Test an Ratten mit wiederholter Exposition über 28 Tage. Mit diesen Studien können unter anderem histopathologische Veränderungen an den Geschlechtsorganen erkannt werden. Um endokrine Effekte der Testsubstanz besser zu erfassen, kann zusätzlich in Screening-Tests (OECD 421/422) das Gewicht der Hormon-regulierten Organe bestimmt werden; zudem werden sie histopathologisch untersucht, die epididymalen Spermien werden analysiert, der Östrus-Zyklus wird erfasst und spezifische Hormonspiegel werden gemessen.

Der OECD-Test 416 zur Erfassung der Reproduktion in Nagern erlaubt eine in die Tiefe gehende Untersuchung des Wachstums, der Entwicklung und der Sexualfunktionen der F1-Generation und schließt eine Erfassung der nachfolgenden F2-Generation bis zum Ende der Laktationsperiode ein. Das erst kürzlich überarbeitete Protokoll enthält Parameter wie Gewicht und Histopathologie der Reproduktionsorgane, die detaillierte Untersuchung der Spermatogenese und der Spermien der Elterngeneration sowie ihrer Nachkommen. Ebenso ist die Beurteilung der körperlichen und sexuellen Entwicklung, des Verhaltens sowie der Lern- und Gedächtnisfähigkeit der Nachkommen enthalten.

4. Die relative Wirkungsstärke von xenoöstrogenen Effekten

Die Effektstärke von Substanzen, insbesondere im Vergleich zu der von endogenen Hormonen oder natürlich vorkommenden Hormon-ähnlichen Chemikalien, ist entscheidend für eine Bewertung ihres Gefährdungspotenzials. Sonnenschein und Mitarbeiter^[36] untersuchten den proliferativen Effekt in Östrogen-sensitiven Zellen und fanden, dass die östrogene Wirkungsstärke von Chemikalien wie 4-Octylphenol und Bisphenol A mehr als 3000-mal bzw. mehr als 30 000-mal geringer war als die des endogenen Östradiols (Tabelle 1). Berücksichtigt man den niedrigen Gehalt an diesen Chemikalien im Körper,

Tabelle 1: Östrogene Wirkungsstärke endokrin wirksamer Stoffe im E-SCREEN-Test. Proliferation von Brustkrebszellen MCF-7.^[36,51]

Substanz	Konz. ^[a] [nmol L ⁻¹]	Potenz ^[b] [%]
Östradiol	0.03	100
4-Octylphenol	100	0.03
4-Nonylphenol	1 000	0.003
Bisphenol A	1 000	0.003
Bisphenol-A-dimethacrylat	1 000	0.003
Benzylbutylphthalat	10 000	0.0003
tert-Butylhydroxyanisol	50 000	0.00006

[a] Niedrigste Konzentration zur Auslösung der maximalen Proliferation. [b] Relative proliferative Potenz (Konzentration_{Östradiol}/Konzentration_{Testsubstanz}) × 100.

so ergibt sich ein sehr kleiner Effekt. Safe^[37] berechnete die östrogenen und antiöstrogenen Wirkungsstärken von Xenoöstrogenen, die täglich aufgenommen werden können, im Vergleich zu denen von 17 β -Östradiol. So nimmt eine Frau durch eine Empfängnisverhütungspille etwa 17000 Äquivalente pro Tag ein; während einer Östrogentherapie in der Postmenopause sind es 3300 Äquivalente. Hingegen beträgt die Aufnahme von Östrogen-wirksamen Flavonoiden mit der Nahrung 102 Äquivalente und von Organochlor-Östrogenen aus der Umwelt 2.5×10^{-6} Äquivalente. Ähnliche Daten werden für Antiöstogene erhalten.

Bolt und Mitarbeiter^[33] verglichen die Wirkungsstärken einer geschätzten täglichen Aufnahme an 4-Nonylphenol und Bisphenol A (jeweils 1 $\mu\text{g kg}^{-1}$ Körpergewicht) mit der des Phytoöstrogens Daidzein (1 mg kg^{-1} Körpergewicht) und von Ethinylöstradiol (0.5 $\mu\text{g kg}^{-1}$ Körpergewicht) bei täglicher Einnahme einer Empfängnisverhütungspille mit niedriger Konzentration. Die östrogenen Wirkungsstärken von 4-Nonylphenol und Bisphenol A waren 125–250-mal bzw. 1000-mal geringer als die von Daidzein, die von Ethinylöstradiol war dagegen 20-mal höher. Daidzein ist plazentagängig.^[38] Soja ist die Hauptquelle für Phytoöstrogene in der menschlichen Nahrung, und seine Konzentration kann bei Kleinkindern, die mit einer Fertignahrung auf Sojabasis ernährt werden,^[39] bis zu 8 mg kg^{-1} Körpergewicht betragen; die Exposition gegenüber den anderen Xenoöstrogenen spielt im Vergleich dazu eine untergeordnete Rolle.

Der CSTEE^[7] berechnete in seiner Stellungnahme zu Chemikalien mit endokriner Wirkung die relativen östrogenen Wirkungsstärken verschiedener Verbindungen für den Menschen. Unter Berücksichtigung ihrer Konzentration im Serum des Menschen und ihrer östrogenen Wirkungsstärken im Hefe-Östrogenrezeptor-Test ergaben sich Wirkungsstärken, die um etliche Größenordnungen geringer waren als die von Östradiol (Tabelle 2).

Spezifische Effekte im niedrigen Dosisbereich, die aufgrund von Experimenten der Arbeitsgruppe um vom Saal^[40,41] mit Bisphenol A und 4-Nonylphenol postuliert worden waren, konnten nicht bestätigt werden.^[16,42] Auch

Tabelle 2: Östrogene Wirkungsstärke (Potenz) endokrin wirksamer Stoffe im Hefe-Östrogenrezeptor-Test.^[7]

Substanz	Konz. _{eff} ^[a] [mol L ⁻¹]	Konz. _{Hs} ^[b] [ng L ⁻¹]	Potenz
Östradiol	2.25×10^{-10}	187	1
Testosteron	5.09×10^{-5}	6	1.3×10^{-4}
<i>o,p'</i> -DDT	1.8×10^{-3}	0.006	3.0×10^{-9}
4-Nonylphenol	1.0×10^{-6}	<1	1.5×10^{-6}
Bisphenol A	3.4×10^{-6}	<1	4.0×10^{-7}

[a] Effektive Konzentration. [b] Konzentration in Humanserum.

misslangen Versuche, die zeigen sollten, dass Effekte im niedrigen Dosisbereich in Gegenwart verschiedener anderer Verbindungen potenziert werden: Die Arbeitsgruppe von McLachlan^[43] berichtete zunächst, dass in einem *In-vitro*-System mit Hefen der Effekt zweier einzeln schwach wirksamer Östrogene im Kombination etwa 1000-mal höher war – andere Arbeitsgruppen konnten diese Ergebnisse allerdings nicht reproduzieren.^[44] Schließlich nahmen McLachlan et al. ihre Ergebnisse und alle daraus gezogenen Schlussfolgerungen offiziell zurück.^[45]

In Anbetracht dessen sind toxikologisch relevante Effekte auf die pränatale oder postnatale Phase durch synthetische Chemikalien unwahrscheinlich. Die potenziellen gesundheitsfördernden oder adversen Effekte von Phytoöstrogenen und anderen natürlich vorkommenden Verbindungen mit Hormonähnlichen Wirkungen müssen dagegen bei der toxikologischen Bewertung berücksichtigt werden.

5. Phytoöstrogene in der menschlichen Nahrung

In der Natur kommen Phytoöstrogene in Pflanzen vor. Häufige Strukturklassen sind Isoflavone, Lignane, Coumestane oder Resorcylsäurelactone, die strukturell dem Östrogen der Säugetiere ähnlich sind und ein schwaches östrogenes Potenzial aufweisen. Verglichen mit 17 β -Östradiol ist ihre östrogenen Wirkung um den Faktor 500–1000 geringer. Die wichtigste Phytoöstrogen-haltige Nahrungsquelle des Menschen sind Sojabohnenprodukte, die die Isoflavone Daidzein und Genistein enthalten. Wegen der unterschiedlichen Nahrungswohnheiten nehmen Erwachsene in Großbritannien und den USA ungefähr 1 mg Isoflavone pro Tag zu sich, Asiaten

dagegen täglich 50–100 mg.^[46] Kinder, die als alleinige Nahrungsquelle Sojaprodukte erhalten, nehmen täglich 22–45 mg auf.^[47]

Der gesundheitsfördernde Effekt von Phytoöstrogenen bei Frauen wurde in verschiedenen Studien untersucht.^[46,48] Diese Studien weisen darauf hin, dass Phytoöstrogene in der Nahrung vor Brustkrebs schützen können, wahrscheinlich indem sie den Menstruationszyklus verlängern. In westlichen Ländern mit hohem Brustkrebsrisiko beträgt die mittlere Zykluslänge 28–29 Tage. In Japan, wo das Brustkrebsrisiko um den Faktor 4 niedriger ist, beträgt die Zykluslänge 32 Tage. Da die Teilungsgeschwindigkeit von Zellen in der Brust während der follikulären Phase des Zyklus viermal niedriger ist, nehmen die Autoren an, dass längere Menstruationszyklen längere follikuläre Phasen zur Folge haben, mit verringelter Zellteilung während der Jahre vor der Menopause. Andere positive Effekte könnten in verringerten Serumcholesterinspiegeln liegen, in niedrigeren Raten von kardiovaskulären Erkrankungen und Krebs sowie speziell bei Frauen nach der Menopause in einer Erhaltung der Knochenmasse.^[49]

Bei Neugeborenen, denen während der ersten drei bis sechs Monate Nahrung auf Sojabasis gegeben wurde, wurden bisher keine klinischen Effekte wie Feminisierung beobachtet. Essex^[50] vermutet, dass in Neugeborenen die Hypothalamus-Hypophysen-Gonaden-Achse (Abbildung 2) aktiver ist als in älteren Kindern und Erwachsenen und somit östrogene Effekte einer hohen Aufnahme an Isoflavonen kompensiert werden. Allerdings schließen die Autoren, dass offensichtlich Muttermilch die beste Nahrung für Säuglinge darstellt.

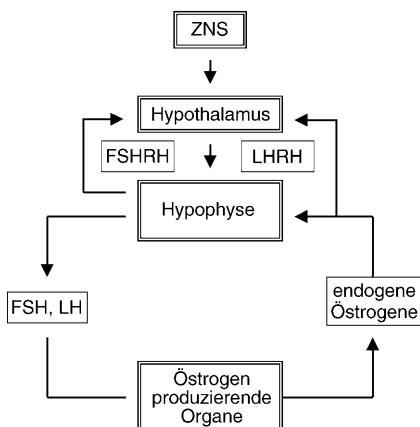


Abbildung 2. Schematische Darstellung der Hypothalamus-Hypophysen-Gonaden-Achse. FSHRH: follicelstimulierendes Hormon freisetzendes Hormon; LHRH: luteinisierendes Hormon freisetzendes Hormon; FSH: follicelstimulierendes Hormon; LH: luteinisierendes Hormon.

6. Fragliche Korrelation zwischen Erkrankungen und Chemikalien mit endokriner Wirkung

Verschiedene anerkannte Institutionen bewerteten die Hinweise auf adverse gesundheitliche Effekte einer Exposition des Menschen gegenüber endokrin wirksamen Substanzen.^[7,51,52] Sie schließen, dass die Analyse der Daten beim Menschen bisher keine eindeutigen Beweise für einen direkten Zusammenhang zwischen der Exposition der Bevölkerung gegenüber endokrin wirksamen Substanzen im niedrigen Dosisbereich und adversen Gesundheitseffekten ergeben hat. Die Schlussfolgerungen von CSTE^[7] und IPCS^[52] lauten im Detail:

- Über die Zeit wurden erhöhte Häufigkeiten an Entwicklungsanomalien des männlichen Reproduktionstraktes, insbesondere Hodenhochstand und Hypospadie (Fehlmündung der Harnröhre), beobachtet. Allerdings konnte keine ursächliche Rolle von Chemikalien mit endokriner Wirkung ermittelt werden. Die Daten über zunehmende Trends in der Inzidenz an Hypospadie und Hodenhochstand sollten mit großer Vorsicht interpretiert werden, da keine Längsschnittstudien vorliegen und Daten aus unterschiedlichen Studien, in denen sich Definition, Erfassung und Registrierung dieser Ef-

fekte grundlegend unterscheiden können, schwierig zu vergleichen sind.

- Die Berichte über den sich verringern Anteil männlicher Neugeborener während der letzten Jahrzehnte bleiben ohne Erklärung.
- Bedenken werden geäußert, was den Einfluss von Chemikalien mit endokriner Wirkung auf die zeitliche Verschiebung der Pubertät angeht; jedoch müssen die möglichen Wirkungsmechanismen und die Bedeutung anderer Faktoren wie der Ernährung noch geklärt werden.
- Unbeabsichtigte, hohe Expositionen von schwangeren Frauen gegenüber bestimmten Organochlor-Verbindungen wie polychlorierten Biphenylen führten zu einer Verzögerung in der körperlichen und geistigen Entwicklung der Nachkommen. Einige dieser Effekte scheinen auf einer veränderten Funktion der Schilddrüse oder von Neurotransmittern zu beruhen, aber in den meisten Fällen konnten keine endokrinen Mechanismen aufgezeigt werden.
- In einigen Studien wird über eine Verringerung der Samenqualität in mehreren Ländern (seit 1939) berichtet. In nochmaligen Analysen dieser Daten wurde auf mögliche systematische Fehler („Bias“) und Störfaktoren („Confounder“) hingewiesen, allerdings wurden, abhängig von der verwendeten Methode, unterschiedliche Schlussfolgerungen in Bezug auf die Samenqualität gezogen. Kürzlich zeigten gut ausgearbeitete Studien große regionale Unterschiede in der Spermienqualität insgesamt und auch im Hinblick auf zeitliche Entwicklungen sowohl innerhalb eines Landes als auch zwischen verschiedenen Ländern. Selbst wenn es zu einer Verschlechterung der Samenqualität gekommen ist, muss das nicht unbedingt durch Stoffe mit endokriner Wirkung verursacht worden sein.
- In verschiedenen Ländern wurde über zunehmende Inzidenzen an Hodenkrebs berichtet, jedoch unterschieden sich die Inzidenzen von Land zu Land beträchtlich. Die den erhöhten Inzidenzen zugrunde liegenden Ursachen wurden bisher

nicht bestimmt. Zudem fehlen Expositionsdaten zu Chemikalien mit endokriner Wirkung für die kritischen Zeiträume.

- Die Exposition gegenüber Pestiziden und Organochlor-Verbindungen wurde in wenigen Studien mit begrenzter Aussagekraft mit erhöhten Inzidenzen an Prostatakrebs in Zusammenhang gebracht. Die meisten Studien ließen allerdings keinen Zusammenhang erkennen, und der Wirkungsmechanismus ist unbekannt.
- In den letzten Jahrzehnten zeigte sich eine stetige Zunahme der Inzidenz an Brustkrebs (in Europa). Die vorliegenden Daten zur Entwicklung von Brustkrebs stützen jedoch keinen ursächlichen Zusammenhang mit einer Exposition gegenüber Organochlor-Verbindungen. Erwachsene Frauen, für die derzeit ein Risiko besteht, könnten in der Mitte des 20. Jahrhunderts, als die Kontamination mit Organochlor-Verbindungen hoch war, in utero, während des Säuglingsalters, der Kindheit oder der Pubertät diesen Chemikalien ausgesetzt gewesen sein.

7. Laufende Bewertung durch die Europäische Kommission

Im Juni 2000 stellte die Kommission eine erste Prioritätenliste mit 553 Substanzen auf. Von diesen wurden für 118 Substanzen Hinweise auf endokrine oder auf potenzielle endokrine Wirkungen erhalten. Bei der Beurteilung dieser Liste gelangte der CSTE jedoch zu dem Schluss, dass die Herkunft des verwendeten Materials, die Methodik und die zur Aufstellung der Liste verwendeten Auswahlkriterien nicht den wissenschaftlichen Anforderungen entsprachen.^[53,54] Besonders kritisiert wurden das Fehlen von Überlegungen zu Dosis-Wirkungs-Beziehung, Wirkungsstärke und Exposition sowie die Tatsache, dass synthetische, in die Umwelt freigesetzte Hormone nicht betrachtet wurden. Es wurden mehrere Verbesserungsvorschläge vorgelegt, darunter ein stufenweiser Ansatz für die Auswahl von Substanzen für die weitere Beurteilung und Priorisierung.

Danach initiierte die Kommission eine vertiefte Beurteilung einer Gruppe von zwölf Verdachtsstoffen, darunter neun Industriechemikalien und drei natürliche, synthetische Hormone. Zur gleichen Zeit wurden Informationen über Persistenz, Produktionsvolumen und Legaleinstufungen von weiteren 435 Substanzen zusammengetragen, für die die Datenlage ungenügend war, um zu entscheiden, ob sie endokrin wirksam sind. Die zwei Berichte wurden dem CSTEE zur Beurteilung vorgelegt, ob sie wissenschaftlich fundiert sind.

Hinsichtlich der ersten Gruppe aus zwölf Chemikalien kam der CSTEE zu folgenden Schlüssen:

- BADGE (BADGE = Bisphenol-A-diglycidylether), Schwefelkohlenstoff, 4-Chlor-3-methylphenol, 2,4-Dichlorphenol, 4-Nitrotoluol und 2-Phenylphenol haben offenbar keine kritischen endokrinen Wirkungen auf Menschen und wildlebende Tiere.
- 4-(5,5-Dimethylhexyl)phenol und Resorcin scheinen beim Menschen keine kritischen endokrinen Wirkungen aufzuweisen, es besteht aber ein potenzielles Risiko für aquatische Organismen in Bereichen, wo Abwasser eingeleitet wird.
- Für 4-Chlor-3-methylphenol, 2,4-Dichlorphenol, 2-Phenylphenol, 4-Nitrotoluol und 4-(5,5-Dimethylhexyl)phenol wiesen die Daten, insbesondere die zur Umweltwirkung, beträchtliche Limitierungen auf.
- Für Resorcin werden noch weitere Untersuchungen zur endokrinen Wirkung sowohl auf die menschliche Gesundheit als auch auf die Umwelt benötigt.
- Die Überwachung von 2,2',4,4'-Tetrabromdiphenylether (tetra-BDE) wird durch die Überwachung von Pentabromdiphenylether (penta-BDE) abgedeckt. Da tetra-BDE

nicht kommerziell hergestellt wird, wurde es als nicht erforderlich angesehen, diese Substanz im Detail zu bewerten.

- Wie erwartet haben die Hormone Östron, 17 β -Östradiol und Ethinylöstradiol kritische endokrine Wirkungen auf die Umwelt.

Der Bericht über die 435 Substanzen legt nun angemessene Selektionskriterien wie Exposition und Daten zur Persistenz zugrunde. Fehlende Daten, z. B. die zum Einfluss auf die Umwelt, wurden identifiziert. Eine vorläufige Bewertung lässt erkennen, dass von den 435 Verbindungen 30 in Kategorie 1 (mindestens eine positive In-vivo-Studie) aufgeführt sind; von diesen Stoffen zeigte 2,3,7,8-TBDD (2,3,7,8-Tetrabromdibenz-p-dioxin) eine höhere endokrinen Wirksamkeit, die anderen Stoffe eine 50- bis 1000000-mal geringere als 17 β -Östradiol. Von den 57 in Kategorie 3 aufgelisteten Stoffen gab es für 19 keine ausreichende wissenschaftliche Basis für eine Bewertung (3a), die anderen wurden mit „keine Daten“ (3b) klassifiziert. Da der Bericht nun die Reproduktionstoxizität als Teil der anderen systemisch-toxischen Effekte bewertet, wird die weitere Bewertung der Daten einen Vergleich der relativen Sensitivität des endokrinen Systems auf eine Substanz in Relation zu den anderen toxischen Effekten ermöglichen. Die Informationen über wildlebende Tiere sind in der Regel ungenügend, sodass gegenwärtig keine Schlussfolgerungen zum Einfluss von Chemikalien mit endokriner Wirksamkeit auf die Populationen wildlebender Tiere gezogen werden können.

Aus beiden Berichten kann geschlossen werden, dass zwar manche Chemikalien ein intrinsisches Potenzial für endokrine Effekte aufweisen, eine genauere Bewertung aber ergibt, dass die NOELs (no observed effect level)

für diese Effekte gewöhnlich höher als die für Wirkungen auf andere Organe liegen. Daher schützen Umweltstandards oder Arbeitsplatzgrenzwerte, die auf anderen Endpunkten basieren, den Menschen auch vor endokrinen Wirkungen. Wegen ungenügender Informationen ist es nicht möglich, eine Schlussfolgerung zu möglichen endokrinen Effekten auf die Umwelt zu ziehen.

8. Östrogene Aktivität von Sonnenschutzcremes

Vor kurzem untersuchten Schlumpf und Mitarbeiter^[55] Verbindungen, die zur Absorption von UV-Strahlen in Sonnenschutzcremes eingesetzt werden, in vitro im E-SCREEN-Test an MCF-7-Brustkrebszellen und im „uterotrophic assay“ unter Verwendung nicht geschlechtsreifer Long-Evans-Ratten in vivo. Wie aus Tabelle 3 ersichtlich, zeigten fünf der sechs Chemikalien östrogene Effekte in vitro,^[55] wogegen drei der sechs positiv im „uterotrophic assay“ in vivo waren. Jedoch war im „uterotrophic assay“ die östrogene Wirkungsstärke von Benzophenon-3 (Bp-3) 1500000-mal, die von 4-Methylbenzylidencamphor (4-MBC) 300000-mal und diejenige von Octylmethoxycinnamat (OMC) 1000000-mal geringer als die von Ethinylöstradiol.

Jedoch war in In-vitro-Tests die Wirkungsstärke der oben genannten Verbindungen ähnlich der anderer Industriechemikalien und wie diese gering im Vergleich zu der von endogenem Östrogen. Bolt und Mitarbeiter^[33] kritisierten diese Befunde dahingehend, dass ein Protokoll verwendet wurde, das nicht standardisiert war und nicht unter GLP-Bedingungen durchgeführt wurde, sowie dass ungewöhnliche Rattenstämme (Long-Evans- und Nu-Ratten) verwendet wurden (GLP: „Gute Laborpra-

Tabelle 3: Östrogene Aktivität verschiedener Substanzen^[a] in UV-Sonnenschutzcremes (UV-Screens).^[55]

	BP-3	HMS	4-MBC	OMC	OD-PABA	B-MDM	EE ₂
E-SCREEN-Test an MCF-7-Zellen	+	+	+	+	+	negativ	+
Uterot. Assay (ED ₅₀)	max. 1500 mg kg ⁻¹	negativ	309 mg kg ⁻¹	934 mg kg ⁻¹	negativ	negativ	0.8 µg kg ⁻¹
Rel. Wirkungsstärke (ED ₅₀ EE ₂ /ED ₅₀)	1:1.5 × 10 ⁻⁶	negativ	1:0.3 × 10 ⁻⁶	1:1 × 10 ⁻⁶	negativ	negativ	1
UV-Screen im Uterotr. Assay)							

[a] BP-3: Benzophenon-3 (2-Hydroxy-4-methoxybenzophenon); HMS: Homosalat (2-Hydroxybenzoësäure-3,3,5-trimethylcyclohexylester); 4-MBC: 4-Methylbenzylidencamphor; OMC: Octylmethoxycinnamat; PABA: 4-Aminobenzoësäure; OD-PABA: Octyldimethyl-PABA; B-MDM: Butylmethoxydibenzoylmethan; EE₂: Ethinylöstradiol.

xis“; Vorschrift zur Sicherstellung einer vollständigen und korrekten Aufnahme aller in Prüflaboratorien anfallenden Stoffdaten in Prüfberichte). Mit einem standardisierten und GLP-konformen Protokoll fanden die Autoren keine östrogenen Effekte von 4-MBC, Bp-3 und OMC im „uterotrophic assay“.

Darüber hinaus stellen Nakagawa und Suzuki^[31] die In-vitro-Testsysteme zur Bestimmung einer östrogenen Potenz von Chemikalien generell in Frage. In metabolisch kompetenten Rattenhepatocyten wurde 2-Hydroxy-4-methoxybenzophenon (HMB) zum 2,4-Dihydroxy-4-methoxybenzophenon (DHMB) hydroxyliert; ein weiteres hydroxyliertes Zwischenprodukt wurde vorläufig als ein Isomer von 2,2'-Dihydroxy-4-methoxybenzophenon (DHP) identifiziert. Beide Metaboliten und die Ausgangssubstanz wurden schnell mit Glucuronsäuren konjugiert. Die Metaboliten wiesen stärkere östrogene Aktivitäten in MCF-7-Zellen als die Ausgangssubstanz HMB auf (HMB(keine Aktivität) < DHMB(schwach) < DHP). Diese Befunde zeigen weiterhin, dass In-vitro-Tests die Komplexität des intakten Organismus nicht widerspiegeln und dass jedes Resultat erst durch In-vivo-Untersuchungen bestätigt werden muss, bevor Schlussfolgerungen gezogen werden können.

9. Schlussfolgerungen

Unter Verwendung von In-vitro-Testsystemen wurde eine Vielzahl von Chemikalien mit endokriner Wirkung identifiziert. Da Toxikokinetik und Metabolismus, die in diesen Testsystemen nicht oder nicht ausreichend repräsentiert sind, die toxische Wirkungsstärke einer Substanz beeinflussen, müssen Ergebnisse aus In-vitro-Tests durch In-vivo-Studien verifiziert werden. Mit diesen Testsystemen wie dem erweiterten 28-Tage-Toxizitätstest in Nagern (OECD 407), den Screeningtests auf Reproduktion (OECD 421, 422) und der Zwei-Generationen-Reproduktions-toxizitätsstudie (OECD 416) zeigten Stoffe mit endokriner Wirksamkeit entweder keine Effekte oder erst Effekte bei sehr hohen Dosierungen, die über denen anderer toxischer Endpunkte lagen.

Unter Berücksichtigung der relativ niedrigen Exposition des Menschen gegenüber Chemikalien mit endokriner Wirkung gibt es keine plausiblen Argumente, dass Verbindungen mit niedriger Affinität Verbindungen mit hoher Affinität von einem Rezeptor verdrängen können, außer sie liegen in ausreichend hohen Konzentrationen vor. Solch hohe Expositionen ergaben sich für den Menschen bisher nur bei Unfallszenarien. Daher ist die Annahme, dass die Bindung einer Substanz an einen Rezeptor per se biologische Konsequenzen hat, nicht akzeptabel.

Es gibt eine überwältigende Zahl von Erfahrungen aus dem therapeutischen Einsatz hoch potenter synthetischer Östrogene bei der Anwendung während der Schwangerschaft, um einen Abort zu verhindern, zur Schwangerschaftsverhütung oder um Beschwerden während oder nach der Menopause zu behandeln. Alle diese Behandlungen benötigen ausreichend hohe therapeutische Dosierungen, um das endokrine System zu modulieren. Es ist nicht zu erwarten, dass eine Dosis, die um den Faktor 1000 oder mehr unter der therapeutischen Dosis liegt, noch wirksam ist.

Das wissenschaftlich basierte Wissen über die Robustheit des endokrinen Systems, die gut verstandenen Prinzipien der Substrat-Rezeptor-Interaktion und die generell geringe Exposition des Menschen gegenüber Chemikalien mit potenziell endokrinen Wirkungen machen es insgesamt unwahrscheinlich, dass diese eine Ursache für Erkrankungen und Anomalien sind, die bei Kindern oder der Bevölkerung allgemein beobachtet werden.

Das weite Feld der In-vitro-Testsysteme, die relevante Endpunkte zur Erfassung von Substanzen mit endokriner Wirkung abdecken, ist nützlich für mechanistische Studien und hilft dabei, Prioritäten für die Durchführung weiterer Tests zu setzen. Da sie aber die Toxikokinetik und Metabolisierung der Substanz nicht erfassen, können sie falsch-negative wie auch falsch-positive Effekte anzeigen, sodass die Ergebnisse erst durch In-vivo-Studien verifiziert werden müssen. Daher wird empfohlen, statt die weitere Entwicklung von In-vitro-Screeningtests zu unterstützen, die vorhandenen Langzeittests *in vivo* wie die Erweiterung des 28-Tage-Toxizitäts-

tests (OECD 407) und des Zwei-Generationen-Reproduktions-Toxizitäts-Tests (OECD 416) zu verfeinern. Diese Tests werden als relevant für die Erfassung Hormon-ähnlicher Wirkungen von Chemikalien angesehen und zeigen gewöhnlich, dass die endokrinen Effekte von Chemikalien schwächer sind als andere Effekte wie Hepatotoxizität oder Neurotoxizität. Zu möglichen endokrinen Effekten in wildlebenden Tieren können keine Schlussfolgerungen gezogen werden, da die Informationen hier noch unzureichend sind.

10. Glossar

Erklärungen einiger biologischer und medizinischer Ausdrücke:

- Hodenhochstand (Malde scensu testis, Kryptorchismus): Ausbleiben der regelrechten Wanderung des Hodens in den Hodensack (Skrotum);
- Hypospadie (Fehlmündung der Harnröhre): angeborene Entwicklungsstörung, bei der die Harnröhre sich an der Unterseite des Penis oder des Peritoneums öffnet;
- Testicular-Dysgenesis-Syndrom: Syndrom, das durch geringe Samenqualität, Hypospadie, Hodenhochstand und Hodentumoren gekennzeichnet ist;
- Hypothalamus-Hypophysen-Gonaden-Achse: verschiedene Rückkopplungsmechanismen zwischen dem ZNS (Hypothalamus) und dem Hormonsystem (Hypophyse, Gonaden) zur Regulation endogener Geschlechtshormone; so wird z. B. bei Absinken des Spiegels endogener Östrogene im Blut deren Produktion in den Ovarien erhöht, bei Anstieg vermindert.

[1] T. Colborn, D. Dumanoski, J. P. Myers, *Die bedrohte Zukunft. Gefährden wir unsere Fruchtbarkeit und Überlebensfähigkeit?*, Droemer Knaur, München, 1996.

[2] E. Carlsen, A. Giwercman, N. Keiding, N. E. Skakkebaek, *Br. Med. J.* **1992**, 305, 609–613.

[3] R. M. Sharpe, N. E. Skakkebaek, *Lancet* **1993**, 341, 1392–1395.

- [4] T. Colborn, F. S. vom Saal, A. M. Soto, *Environ. Health Perspect.* **1993**, *101*, 378–384.
- [5] S. Barlow, R. J. Kavlock, J. A. Moore, S. L. Schanz, D. M. Sheehan, D. L. Shuey, J. M. Lary, *Teratology* **1999**, *60*, 365–375.
- [6] R. D. Combes, *ATLA Altern. Lab. Anim.* **2000**, *28*, 81–118.
- [7] CSTEE Opinion on human and wildlife health effects of endocrine disrupting chemicals, with emphasis on wildlife and on ecotoxicology test methods, Europäische Kommission, März **1999**, http://europa.eu.int/comm/health/ph_risk/committees/sct/documents/out37_en.pdf
- [8] G. H. Degen, H. M. Bolt, *Int. Arch. Occup. Environ. Health* **2000**, *73*, 433–441.
- [9] J. M. Goldman, S. C. Laws, S. K. Balchak, R. L. Cooper, R. J. Kavlock, *Crit. Rev. Toxicol.* **2000**, *30*, 135–196.
- [10] J. J. A. Mendes, *Fd. Chem. Toxicol.* **2002**, *40*, 781–788.
- [11] National Research Council. Hormonally active agents in the environment. Washington, D.C. (USA), National Academy Press, **1999**.
- [12] R. Nilsson, *Toxicol. Pathol.* **2000**, *28*, 420–431.
- [13] S. H. Safe, *Environ. Health Perspect.* **2000**, *108*, 487–493.
- [14] J. G. Vos, E. Dybing, H. Greim, O. Ladefoged, C. Lambre, J. V. Tarazona, I. Brandt, A. D. Vethaak, *Crit. Rev. Toxicol.* **2000**, *30*, 71–133.
- [15] C. A. Kimmel, S. L. Makris, *Toxicol. Lett.* **2001**, *82*, 73–82.
- [16] C. W. Schmidt, *Environ. Health Perspect.* **2001**, *109*, 420–421.
- [17] V. F. Garry, M. E. Harkins, L. L. Erickson, L. K. Long-Simpson, S. E. Holland, B. L. Burroughs, *Environ. Health Perspect.* **2002**, *110*, 441–449.
- [18] E. A. Guilette, *Cent. Eur. J. Public Health* **2000**, *8*, 58–59.
- [19] N. E. Skakkebaek, E. Rajpert-De Meyts, K. M. Main, *Hum. Reprod.* **2001**, *16*, 972–978.
- [20] C. Sultan, F. Paris, B. Terouanne, P. Balaguer, V. Georget, N. Poujol, C. Jeandel, S. Lumbruso, J. C. Nicolas, *Hum. Reprod. Update* **2001**, *7*, 314–322.
- [21] Y. Aoki, *Environ. Res. A* **2001**, *86*, 2–11.
- [22] M. P. Longnecker, M. A. Kiebanoff, H. Zhou, J. W. Brock, *Lancet* **2001**, *358*, 110–114.
- [23] M. Martuzzi, N. D. DiTanno, R. Bertolini, *Arch. Environ. Health* **2001**, *56*, 358–364.
- [24] J. Lintelmann, A. Katayama, N. Kuhihara, L. Shore, A. Wenzel, *Pure Appl. Chem.* **2003**, *75*, 631–681.
- [25] IPCS (International Programme on Chemical Safety): Report of IPCS/OECD scoping meeting on endocrine disruptors (EDCs). Washington, D.C. (USA), März **1998**.
- [26] *Hormonally active agents in food. Symposium organized by the DFG Senate Commission on the Evaluation of Food Safety* (Hrsg.: G. Eisenbrand), Wiley-VCH, Weinheim, **1998**.
- [27] W. G. Foster, *Can. J. Public Health* **1998**, *89, Suppl. 1*, 37–41.
- [28] ECETOC (European Centre for Ecotoxicology and Toxicology of Chemicals). Environmental Oestrogens: A compendium of test methods. ECETOC Document No. 33, Brüssel, **1996**.
- [29] E. J. Routledge, J. P. Sumpter, *Environ. Toxicol. Chem.* **1996**, *15*, 241–248.
- [30] A. M. Soto, C. Sonnenschein, K. L. Chung, M. F. Fernandez, N. Olea, M. F. Serrano, *Environ. Health Perspect.* **1995**, *103*, 113–122.
- [31] Y. Nakagawa, T. Suzuki, *Chem. Biol. Interact.* **2002**, *139*, 115–128.
- [32] M. J. O'Reilly, N. Li, L. W. Duax, W. R. Brueggemeier, *J. Med. Chem.* **1995**, *38*, 2842–2850.
- [33] H. M. Bolt, P. Janning, H. Michna, G. H. Degen, *Arch. Toxicol.* **2001**, *74*, 649–662.
- [34] W. Kuhnz, S. Beier, *Contraception* **1994**, *49*, 275–289.
- [35] J. Odum, P. A. Lefevre, S. Tittensor, D. Patton, E. J. Routledge, N. A. Beresford, J. P. Sumpter, J. Ashby, *Regul. Toxicol. Appl. Pharmacol.* **1997**, *25*, 176–188.
- [36] C. Sonnenschein, A. M. Soto, M. F. Fernandez, N. Olea, M. F. Olea-Serrano, M. D. Ruiz-Lopez, *Clin. Chem.* **1995**, *41*, 1888–1895.
- [37] S. H. Safe, *Environ. Health Perspect.* **1995**, *103*, 346–351.
- [38] G. H. Degen, P. Janning, P. Diel, H. Michna, H. M. Bolt, *Arch. Toxicol.* **2002**, *76*, 23–29.
- [39] K. D. R. Setchell, L. Zimmer-Nechemias, J. Cai, J. E. Heubi, *Am. J. Clin. Nutr.* **1998**, *68*, 1453S–1461S.
- [40] S. C. Nagel, F. S. vom Saal, K. A. Thayer, M. G. Dhar, M. Boechler, W. V. Welshons, *Environ. Health Perspect.* **1997**, *105*, 70–76.
- [41] F. S. vom Saal, P. S. Cooke, D. L. Buchanan, P. Palanza, K. A. Thayer, S. C. Nagel, S. Parmigiani, W. V. Welshons, *Toxicol. Ind. Health* **1998**, *14*, 239–260.
- [42] R. W. Tyl, C. B. Myers, M. C. Marr, B. F. Thomas, A. R. Keimowitz, D. R. Brine, M. M. Veselica, P. A. Fail, T. Y. Chang, J. C. Seely, R. L. Joiner, J. H. Butala, S. S. Dimond, S. Z. Cagen, R. N. Shiosuka, G. D. Stropp, J. M. Waechter, *Toxicol. Sci.* **2002**, *45*, 121–146.
- [43] S. F. Arnold, D. M. Klotz, B. M. Collins, P. M. Vonier, J. R. Guilette, J. A. McLachlan, *Science* **1996**, *272*, 1489–1492.
- [44] K. W. Gaido, D. P. McDonnell, K. S. Korach, S. H. Safe, *CIIT Activities* **1997**, *17*, 1–7.
- [45] J. A. McLachlan, *Science* **1997**, *277*, 462–463.
- [46] A. Cassidy, *Proc. Nutr. Soc.* **1996**, *55*, 399–417.
- [47] K. D. R. Setchell, L. Zimmer-Nechemias, J. Cai, J. E. Heubi, *Lancet* **1997**, *350*, 23–27.
- [48] A. Cassidy, S. Bingham, K. Setchell, *Br. J. Nutr.* **1995**, *74*, 587–601.
- [49] D. M. Tham, C. D. Gardner, W. L. Haskell, *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **1998**, *83*, 2232–2235.
- [50] C. Essex, *Br. Med. J.* **1996**, *313*, 507–508.
- [51] BUA Berichte 212 und 228: GDCh-Beratergremium für Altstoffe (BAU): Biologische Bedeutung synthetischer und natürlicher endokrin wirkender Stoffe – Auswirkungen auf die menschliche Gesundheit, Hirzel, Stuttgart, **1999** und **2001**.
- [52] IPCS (International Programme on Chemical Safety): *Global assessment of the state-of-the-science of endocrine disruptors* (Hrsg.: T. Damstra, S. Barlow, A. Bergman, R. Kavlock, G. Van Der Kraak), World Health Organization, **2002**.
- [53] CSTEE Opinion on BKH Consulting Engineers Report „Towards the establishment of a priority list of substances for further evaluation of their role in endocrine disruption“ Europäische Kommission, September **2000**, http://europa.eu.int/comm/health/ph_risk/committees/sct/docshtml/sct_out73_en.htm.
- [54] CSTEE Opinion on „Two study reports on endocrine disruptors by WRc-NSF and BKH Consulting Engineers“ (WRc-NSF Ref: UC 6052; BKH Ref: MO355037). Europäische Kommission, September **2003**, http://europa.eu.int/comm/health/ph_risk/committees/sct/documents/out208_en.pdf.
- [55] M. Schlumpf, B. Cotton, M. Conscience, V. Haller, B. Steinmann, W. Lichtensteiger, *Environ. Health Perspect.* **2001**, *109*, 239–244.