

Wie wirkt die Pille auf den Fisch?

Stoffe mit estrogener Wirkung – so genannte Umwelthormone – werden heute unter anderem für die Verweiblichung männlicher Fische verantwortlich gemacht. Im Rahmen des EU-Programms COMPREHEND hat die EAWAG die Wirkung von Wasser aus Kläranlagenabläufen auf männliche Regenbogenforellen untersucht und dabei erhöhte Vitellogeninkonzentrationen festgestellt. Dieser Vorläufer des Eidotterproteins kommt in grossen Mengen natürlicherweise nur in weiblichen Fischen vor. Gleichzeitig wurden Wasserproben aus den Kläranlagenabläufen analysiert. Mittels chemischer Ultraspurenanalytik konnten in einigen Proben erhöhte Hormonkonzentrationen und mit Hilfe eines Hefetestsystems estrogene Aktivitäten nachgewiesen werden.

Umweltchemikalien, die störend in das Hormonsystem von Mensch und Tier eingreifen, werden als Umwelthormone bezeichnet. Im Vordergrund stehen heute so genannte estrogene Stoffe, die ähnlich wie weibliche Geschlechtshormone wirken. Dazu gehören

- das natürliche Estrogen Estradiol und seine Transformationsprodukte Estron und Estriol,
- synthetische Estrogene wie z.B. der in der Antibabypille gebräuchliche Wirkstoff Ethinylestradiol sowie
- in grösseren Mengen hergestellte Chemikalien, die beispielsweise in industriellen Reinigungsmitteln (Alkylphenolpolyethoxylate und ihre Abbauprodukte, z.B. Nonylphenol) und Kunststoffen (Bisphenol A) zu finden sind.

Viele dieser hormonaktiven Substanzen sind auch in der aquatischen Umwelt nachweisbar. So gelangen zum Beispiel natürliche und synthetische Estrogene durch menschliche Ausscheidungen mit dem Abwasser in die Kläranlagen, wo sie zum Teil zurückgehalten aber auch in die Oberflächengewässer ausgeschwemmt werden.

Wirkung von Umwelthormonen

Bei Fischen wird nach Induktion durch körpereigenes Estradiol das Protein Vitellogenin in der Leber gebildet. Dieser Vorläufer der Eidotterproteine gelangt mit dem Blutstrom in die Oocyten des Ovars und wird in grossen Mengen natürlicherweise nur im Blut geschlechtsreifer weiblicher Fische

nachgewiesen. Deshalb waren erste Untersuchungen Mitte der 90er Jahre in Grossbritannien höchst alarmierend, die hohe Vitellogeninkonzentrationen auch in männlichen Fischen fanden. Die untersuchten Tiere hielten sich in Fließgewässerabschnitten unterhalb von Kläranlagenabläufen auf und man führte die Vitellogensynthese auf das mit estrogenen Stoffen belastete Wasser zurück. Darüber hinaus zeigte sich, dass männliche Fische in belasteten Gewässern Mischgonaden d.h. Hoden mit Eizellen aufweisen können, ein Phänomen, das als Verweiblichung oder Intersex bezeichnet wird und kürzlich auch an den Felchen im Thunersee beobachtet wurde.

Über die Wirkung von estrogenen Stoffen beim Menschen kann nur spekuliert werden. Es ist nicht gesichert, ob die postulierte Abnahme der Spermiedichte und -qualität und die Zunahme von Hodenkrebsfällen bei Männern auf die Belastung durch Umwelthormone zurückzuführen ist.

Über 500 potenziell hormonaktive Stoffe

Mit höchster Dringlichkeit wurden in den letzten Jahren auf internationaler Ebene Evaluationsprogramme gestartet, um aus den zur Zeit verwendeten circa 80 000 Chemikalien potenziell hormonaktive Stoffe herauszufinden. So legte die EU kürzlich eine Liste von 553 Chemikalien plus 9 natürlichen und synthetischen Steroidhormonen

vor, «die im Verdacht stehen, störend auf das Hormonsystem des Menschen und wild lebender Tiere einzuwirken» [1]. Parallel dazu wird in nationalen und internationalen Projekten, an denen auch die EAWAG beteiligt ist, das Vorkommen von Umwelthormonen in Oberflächengewässern und ihre Wirkung auf aquatische Organismen untersucht. Zu den nationalen Projekten gehören das im Sommer 2001 gestartete nationale Forschungsprogramm «NFP50 – Endokrine Stoffe» und das Netzwerk «Fischrückgang Schweiz», bei dem unter anderem untersucht wird, ob hormonaktive Substanzen für den beobachteten Fischrückgang in Schweizer Gewässern verantwortlich sind. Die in diesem Artikel beschriebenen Ergebnisse wurden im Rahmen des EU-Projekts COMPREHEND (COMmunity Programme of Research on Environmental Hormones and Endocrine Disrupters) erarbeitet, das Ende 2001 abgeschlossen wurde. Ziel von COMPREHEND war, industrielle und kommunale Kläranlagenabläufe in ganz Europa auf hormonaktive Stoffe zu untersuchen und neue Nachweisverfahren für Umwelthormone zu entwickeln.

Erhöhte Vitellogeningehalte auch in Schweizer Fischen

Zwei Wochen lang wurden männliche Regenbogenforellen im Ablauf der Kläranlage (ARA) Rontal im Kanton Luzern exponiert. Kontrollfische wurden für den gleichen Zeitraum im Fluss Ron oberhalb des Kläranlagenablaufes und im Labor gehalten. Die Fische wurden während dieser Zeit nicht gefüttert. Aus Abbildung 1 ist ersichtlich, dass alle Kontrollfische während des Experiments abnehmende Vitellogeningehalte aufwiesen. Dies ist wahrscheinlich darauf zurückzuführen, dass die Fische vor Beginn des Experimentes mit Fischfutter aufgezogen wurden, das möglicherweise hormonaktive Stoffe enthielt. Dagegen zeigten die Fische nach Exposition im Ablauf der ARA Rontal erhöhte Vitellogeninkonzentrationen, was ein Indiz für die Belastung des Wassers mit hormonaktiven Verbindungen ist.

Kombinierte chemische und biologische Analytik

Gleichzeitig wurden Wasserproben aus dem Ablauf der ARA Rontal entnommen und auf potenziell hormonaktive Stoffe untersucht. Die EAWAG kombiniert dabei zwei verschiedene Methoden. Mit Hilfe der chemischen Ultraspurenanalytik wurden die Konzentrationen bekannter Umwelthormone in der Wasserprobe bestimmt. Demgegenüber misst man mit biologischen Testsystemen die estrogenen Aktivitäten der

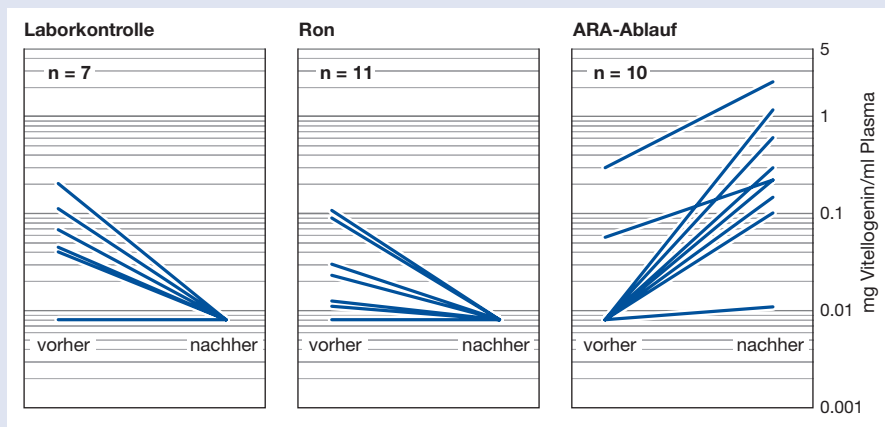


Abb. 1: Vitellogenin-Induktion in männlichen Regenbogenforellen (n = Anzahl männlicher Fische).

untersuchten Probe. Dazu wurde ein Hefetestsystem eingesetzt, das den menschlichen Estrogenrezeptor und ein Reporter-gen enthält. Sind in einer Wasserprobe Umwelthormone vorhanden, binden sie an den Rezeptor, aktivieren das Reporter-gen und können anschliessend durch eine biochemische Farbreaktion nachgewiesen werden. Die Stärke der Farbreaktion ist ein Mass für die Estrogenaktivität der Probe, die in Estradiol-Äquivalenten ausgedrückt wird. Jede Methode allein ist ungenügend, erst die Charakterisierung einer Wasserprobe sowohl auf ihren Gehalt an Umwelthormonen als auch auf ihre estrogene Aktivität ergibt ein Gesamtbild und hat eine Reihe von Vorteilen:

- hohe Sicherheit beim Ausschluss von falschen Negativresultaten,
- Erkennen von Proben, deren einzelne hormonaktive Komponenten unterhalb der minimalen Effektkonzentration liegen, die aber in der Kombination eine estrogene Wirkung haben [2],
- Möglichkeit der Identifizierung von unbekanntem Umwelthormonen in hormonaktiven Proben.

Erwartete und gemessene Konzentrationen im ARA-Ablauf

Wird von einer 1:1-Verteilung von Frau und Mann ausgegangen, wobei 60% der Frauen menstruieren und 0,8% schwanger sind, kann für den Durchschnittsmenschen (inkl. Männer) eine Ausscheidung von 3,1 µg Estradiol pro Tag berechnet werden [3]. Umgerechnet auf die Anzahl Einwohner im Einzugsgebiet der ARA Rontal und ausgehend von einer 50%igen Elimination der Steroidhormone in der Kläranlage, führt dies zu einer erwarteten Estradiol-Konzentration im Ablauf von 1,6 ng/l. Tatsächlich konnten mit der chemischen Ultraspurenanalytik im Mittel Konzentrationen von 2,0 ng Estradiol pro Liter im Kläranlagenablauf festgestellt wer-

den (Abb. 2A). Analog wurde für Ethinylestradiol eine Konzentration von 3 ng/l berechnet, die ebenfalls mit dem gemessenen Mittelwert von 1,5 ng/l übereinstimmt (Abb. 2A). Auffällig ist, dass in Probe B die Estradiol- und Estronkonzentrationen stark erhöht sind.

Erwartete und gemessene Hormonaktivität im ARA-Ablauf

Aus den chemisch bestimmten Konzentrationen kann mit Hilfe der relativen Hormonaktivitäten der einzelnen Umwelthormone die erwartete Estrogenaktivität für jede Wasserprobe (ausgedrückt als erwartete Estradiol-Äquivalente) berechnet werden (Abb. 2B). Estradiol und Ethinylestradiol gelten als Referenz mit einer Hormonaktivität von 1, die Abbauprodukte Estron und Estriol weisen noch Hormonaktivitäten von 0,474 und 0,003 auf. Dagegen sind die estrogenen Aktivitäten von Industriechemikalien in der Regel um Grössenordnungen kleiner. Da diese Verbindungen jedoch in wesentlich höheren Konzentrationen vorkommen können als natürliche und synthetische Estrogene, sind sie letztlich nicht vernachlässigbar. Beispielsweise weist Nonylphenol eine rund 40 000-mal geringere Hormonaktivität als Estradiol auf und liegt im Ablauf der ARA Rontal in einer 1000-mal höheren Konzentration von 1,6 µg/l vor, was einer estrogenen Aktivität von 0,04 ng/l entspricht.

Es zeigte sich, dass die tatsächlich mittels Hefetest gemessenen Estrogenaktivitäten generell mit den berechneten Werten übereinstimmen. Lediglich in Probe B ist die berechnete Estrogenaktivität geringer und

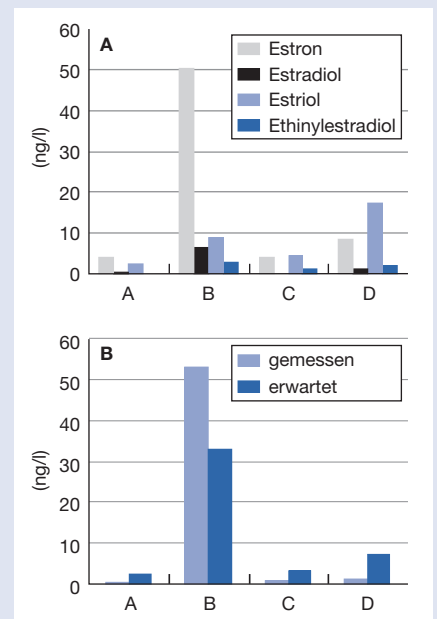


Abb. 2: Untersuchung von 4 Wasserproben aus dem Ablauf der Kläranlage Rontal.

- (A) Konzentrationen natürlicher und synthetischer Estrogene.
 (B) Erwartete und gemessene estrogene Aktivitäten ausgedrückt als Estradiol-Äquivalente.

kann nur 60% der gemessenen Aktivität erklären (Abb. 2B). Dies ist ein deutlicher Hinweis auf die Präsenz weiterer und eventuell unbekannter hormonaktiver Verbindungen, die mittels chemischer Analytik identifiziert werden müssen.

Weitere Forschung auf diesem Gebiet ist deshalb unabdingbar, um einen umfassenden Überblick über die Problematik zu erhalten. Darüber hinaus müssen zukünftig auch die Auswirkungen der Umwelthormone auf Populationen, aquatische Lebensgemeinschaften und Ökosysteme analysiert werden.



Marc J.-F. Suter, Chemiker und Leiter der Abteilung «Aquatische Umwelanalytik». Aktuelle Forschungsgebiete: Wirkungsorientierte chemische Analytik, Methodenentwicklung für die Spurenanalytik, biologische Wirkung von anthropogenen Verbindungen auf aquatische Organismen.

Koautoren:

H.-R. Aerni, B. Kobler, B. Rutishauser, F. Wettstein, R. Fischer, A. Hungerbühler, M.D. Marazuela, R. Schönenberger, R.I.L. Eggen, W. Giger und A. Peter

[1] KOM (2001) 262; zu finden unter: http://europa.eu.int/eurlax/de/com/cnc/2001/com2001_0262de01.pdf

[2] Silva E., Rajapakse N., Kortenkamp A. (2002): Something from «nothing» – eight weak estrogenic chemicals combined at concentrations below NOECs produce significant mixture effects. Environmental Science & Technology, in press. Web release date: March 14, 2002.

[3] Johnson A.C., Williams R.J., Ulahannan T. (1999): Comment on «Identification of estrogenic chemicals in STW effluent. 1. Chemical fractionation and in vitro biological screening» Environmental Science & Technology 33, 369–370.