

JOURNAL FÜR FERTILITÄT UND REPRODUKTION

KÖLLER S, KALTWASSER P, RÖPKE F, SELIGER E

*Untersuchungen zum Einfluß ökologisch relevanter Wirkstoffe auf
Primärzellkulturen des humanen Endometriums*

*Journal für Fertilität und Reproduktion 2004; 14 (1) (Ausgabe
für Österreich), 7-12*

*Journal für Fertilität und Reproduktion 2004; 14 (1) (Ausgabe
für Schweiz), 5-9*

Homepage:

www.kup.at/fertilitaet

**Online-Datenbank mit
Autoren- und Stichwortsuche**

ZEITSCHRIFT FÜR IN-VITRO-FERTILISIERUNG, ASSISTIERTE REPRODUKTION UND KONTRAZEPTION

**Erschaffen Sie sich Ihre
ertragreiche grüne Oase in
Ihrem Zuhause oder in Ihrer
Praxis**

Mehr als nur eine Dekoration:

- Sie wollen das Besondere?
- Sie möchten Ihre eigenen Salate,
Kräuter und auch Ihr Gemüse
ernten?
- Frisch, reif, ungespritzt und voller
Geschmack?
- Ohne Vorkenntnisse und ganz
ohne grünen Daumen?

Dann sind Sie hier richtig



Untersuchungen zum Einfluß ökologisch relevanter Wirkstoffe auf Primärzellkulturen des humanen Endometriums

S. Köller, E. Seliger, P. Kaltwaßer, F. Röpke

Der Einfluß von Umweltfaktoren auf die Fertilität wird weltweit diskutiert. Besonderes Interesse finden in diesem Zusammenhang Umweltchemikalien, die als endokrin wirksame Verbindungen (endocrine disruptors) agonistische oder antagonistische Wirkungen entfalten können. Im Endometrium, einem sensitiven Zielorgan hormoneller Regulation, werden diese Substanzen angereichert. Die Wirkung halogenierter Kohlenwasserstoffe wurde an Primärzellkulturen von Epithelzellen des humanen Endometriums untersucht. Das Untersuchungsmaterial wurde bei Operationen gewonnen und die Epithelzellen in mehreren Aufbereitungsschritten für die Kultur isoliert. Nach vier Tagen erfolgte die Exposition der Primärkulturen mit PCB 153, β -HCH und p,p' -DDE in unterschiedlichen Konzentrationen für 24, 48 und 72 Stunden. Der Einfluß der Testsubstanzen auf die Zellproliferation wurde mittels der Neutralrotmethode quantifiziert. Als Vergleichssystem dienten MCF-7-Zellen, die dem gleichen Kultur- und Expositionsregime unterworfen wurden. Die Exposition der Epithelzellen des humanen Endometriums führte bei allen eingesetzten polychlorierten Kohlenwasserstoffen zu einer Zellproliferation mit dem Maximum nach 72 Stunden. Bei den MCF-7-Zellen war der gleiche Effekt nachweisbar, das Maximum wurde aber früher erreicht. Unterschiede bestanden auch in der relativen Wirksamkeit. Während der Effekt bei den Primärzellen in der Reihenfolge PCB 153 > β -HCH > p,p' -DDE abnahm, war bei den MCF-7-Zellen die Wirkung von p,p' -DDE am stärksten und bei Anwesenheit von PCB 153 am geringsten. Die Untersuchungen zur Exposition von Zellkulturen mit polychlorierten Kohlenwasserstoffen zeigen, daß dadurch endokrin gesteuerte Prozesse beeinflußt werden. Die Primärkulturen der Epithelzellen und die MCF-7-Zellen reagieren mit einer Zunahme der biologischen Aktivität. Die gewählten Konzentrationen lagen im Bereich der gemessenen Werte für die Umweltbelastung des humanen Endometriums. Die Ergebnisse sind mit den klassischen Vorstellungen zur rezeptorvermittelten Regulation der Endometriumtransformation durch Östrogene derzeit nicht in Einklang zu bringen.

The influence of environmental pollutants on human health and fertility is discussed worldwide. Some of these chemicals have hormone like activities. These endocrine disruptors were also found in the human endometrium. We have used primary cell culture of epithelial cells of human endometrium to investigate the influence of PCB 153, beta-HCH and p,p' -DDE on vitality and cell proliferation. Isolated cells were cultured four days. Then PCB, HCH and DDE were added in five different steps of concentrations. The influence of the test substances after 24, 48 and 72 hours of exposition was quantified by means of the neutral red assay for cell vitality. As a comparison system MCF-7 cells were subjected to the same culture regime. Endometrial epithelium cells cultured in presence of polychlorinated hydrocarbons showed increased proliferation rates with a maximum after 72 hours of incubation. The proliferation of MCF-7 cells was also stimulated by these chemicals. But here the time to reach a maximum differed (24 h for beta-HCH, 48 h for PCB 153 and 72 h for DDE). PCB 153 was the most potent agent for primary cultured cells, following beta-HCH and p,p' -DDE. Other profiles were seen after exposition of the MCF-7 cell line. Here the relative effectiveness decreased in the order DDE > beta-HCH > PCB 153. The concentrations of environmental chemicals, used in this study, were similar to the levels of these compounds in human endometrial tissues we had measured in a former study. There is no correlation between effectiveness and the binding activity at steroid hormone receptors. A non-receptor mediated mechanism should be discussed. *J Fertil Reprod* 2004; 14 (1): 7-12.

Weltweit sind zunehmend Störungen der sexuellen Entwicklung und der Fortpflanzungsfähigkeit bei Säugern, Fischen, Reptilien und Vögeln zu beobachten. Auf Grund toxikologischer Erkenntnisse werden Umweltschadstoffe als mögliche Ursachen diskutiert [1, 2].

Dazu gehören verschiedenste Substanzen anthropogener Herkunft, die als endokrin wirksame Verbindungen (endocrine disruptors) wie körpereigene Hormone (agonistisch) wirken, oder deren Wirkung abschwächen (antagonisieren) können [3]. So interferiert eine große Zahl strukturell unterschiedlicher Kohlenwasserstoffe mit dem Östrogenregelkreis auf Grund der Tatsache, daß sie eine sterische Konformation besitzen, die dem Steran-Ringsystem der Östrogene ähnelt. Die Stoffgruppe dieser als Xenööstrogene bezeichneten Chemikalien umfaßt unter anderem klassische Pestizide (z. B. Dichlordiphenyltrichlorethan [DDT], Hexachlorcyclohexan [HCH], Aldrin, Dieldrin), Industriechemikalien (z. B. Alkylphenol, Bisphenol A, Phthalate) und persistierende organische Chemikalien (z. B. polychlorierte Biphenyle [PCB], Dioxine). Neben diesen synthetischen

Verbindungen gibt es aber auch zahlreiche Naturstoffe aus Pflanzen (z. B. Genistein, Coumestrol) und Pilzen (z. B. Zearalenon), denen eine hormonartige Wirkung nachgesagt wird [4].

Bereits in den sechziger Jahren wurde über die Anreicherung chlorierter Kohlenwasserstoffe in der Umwelt berichtet [5]. Die starke Lipophilie und biologische Stabilität ist ursächlich für die Persistenz dieser Stoffe [6]. Obwohl ihre Produktion und Anwendung in den industrialisierten Ländern Europas und Nordamerikas in den siebziger und achtziger Jahren eingestellt wurde [7], zählen sie noch heute zu den globalen Umweltkontaminanten. Tiere und der menschliche Organismus werden vorrangig über die Nahrungskette mit diesen Substanzen konfrontiert. Es kommt zu einer Akkumulation in verschiedenen Geweben und Körperflüssigkeiten, so auch in den Reproduktionsorganen.

Eine Reihe von Beobachtungen und tierexperimentellen Untersuchungen haben gezeigt, daß diese Chemikalien die Fertilität und Reproduktion erheblich beeinträchtigen können [4]. Die Erkenntnisse beim Menschen sind spärlich und resultieren aus wenigen epidemiologischen Erhebungen.

Im Rahmen eines BMBF-Projektes unserer Klinik wurden die Konzentrationen der endokrin wirksamen Verbindungen PCB 138, PCB 153, PCB 180, beta-HCH und p,p' -Bis-(Chlorphenyl)-2,2,-Dichlorethylen (p,p' -DDE) in humanen uterinen Geweben und im Serum von Frauen bestimmt. Dabei ließ sich die Anreicherung von allen genannten Chemikalien im menschlichen Körper nachweisen, wobei im Endometrium teilweise höhere Konzentrationen als im

Aus der Klinik und Poliklinik für Geburtshilfe und Reproduktionsmedizin der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg (Direktor: Prof. Dr. med. habil. Friedrich Röpke)

Korrespondenzadresse: Dr. rer. nat. Ewald Seliger, Klinik und Poliklinik für Geburtshilfe und Reproduktionsmedizin der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, D-06097 Halle, Postfach 302, E-mail: ewald.seliger@medizin.uni-halle.de

Die Arbeiten wurden von der Deutschen Forschungsgemeinschaft im Rahmen des Graduiertenkollegs GRK 416/1 „Adaptive physiologisch-biochemische Reaktionen auf ökologisch relevante Wirkstoffe“ gefördert.

Serum auftraten. Die vorherrschende Substanz war p,p'-DDE mit einem Anteil von ca. 70% an der Gesamtbelastung. PCB 153 lag von den untersuchten Kongeneren der polychlorierten Biphenyle in den höchsten Konzentrationen vor [8]. In Anbetracht dieser Untersuchungen stellte sich die Frage nach der Wirkung, insbesondere dem östrogenen Potential der im Endometrium nachgewiesenen halogenierten Kohlenwasserstoffe PCB 153, beta-HCH und p,p'-DDE und nach dem Einfluß dieser Schadstoffe auf die Funktion der Gebärmutter Schleimhaut.

Als geeignetes Modellsystem wurden Primärzellkulturen der Epithelzellen des humanen Endometrium angesehen, die mit den genannten Chemikalien exponiert werden konnten. Die Ergebnisse wurden mit den Resultaten der Exposition von MCF-7-Zellen, einer Östrogenrezeptorpositiven Mammakarzinomzelllinie, verglichen.

Methoden/Materialien

Das Endometrium wurde bei Hysterektomien oder durch Endometriumbiopsien unter sterilen Bedingungen gewonnen. Die Präparation der Epithelzellen erfolgte in mehreren Dissoziations- und Filtrationsschritten. Die solchermaßen aufbereiteten Epithelzellen wurden in Mikrotiterplatten (96 Vertiefungen) ausgesät und über die ersten 4 Tage in serumhaltigem Medium (Ham's F-12/Dulbecco's Medium 1:1 mit 10% fetalem Kälberserum [FKS], 1% L-Glutamin, 1% Penicillin/Streptomycin und 1% Amphotericin B) kultiviert. Am vierten Kulturtag wurde auf serumfreies Medium (Ham's F-12/Dulbecco's Medium 1:1 mit 10% ITS [Insulin-Transferrin-Sodium Selenite Media Supplement], 1% L-Glutamin, 1% Penicillin/Streptomycin und 1% Amphotericin B) übergegangen.

Jetzt erfolgte die Exposition mit den zu testenden Substanzen. Jedes Agens wurde in fünf verschiedenen Konzentrationen in einer um den Faktor 10 aufsteigenden Reihe eingesetzt. Die Endkonzentrationen im Medium lagen für die verwendeten Verbindungen zwischen folgenden Grenzwerten:

PCB 153: 1×10^{-10} – 1×10^{-6} M
 beta-HCH: 2×10^{-10} – 2×10^{-6} M
 p,p'-DDE: 1×10^{-9} – 1×10^{-5} M

Dabei entsprach die jeweils zweitniedrigste Testkonzentration etwa der von uns im humanen Endometrium nachgewiesenen durchschnittlichen Substanzkonzentration [8]. Als Kontrolle diente serumfreies Medium mit 0,2% Lösungsmittelanteil ohne Testsubstanz. Für PCB 153 wurde DMSO, für beta-HCH und p,p'-DDE Ethanol als Lösungsmittel verwendet. Alle Testansätze wurden als Fünffachbestimmungen durchgeführt, die Expositionsdauer betrug jeweils 24, 48 und 72 Stunden.

Die Kultivierung der MCF-7-Zellen erfolgte in RPMI-Medium (mit 10% FKS, 1% L-Glutamin, 1% Penicillin/Streptomycin und 1% Amphotericin B). Nach 40 Stunden wurden die Zellen in gleicher Weise wie die Primärzellen mit den Schadstoffen exponiert.

Zum Nachweis des Einflusses der eingesetzten Substanzen auf die Proliferation der Zellkulturen diente der Neutralrottest [9]. Diese Methode beruht darauf, daß nur lebende Zellen den Vitalfarbstoff Neutralrot aufnehmen, während tote Zellen nicht gefärbt werden. Nach dreistündiger Inkubation mit dem Farbstoff wurde der extrazelluläre Anteil aus der Kultur entfernt, die Zellwände lysiert und das aufgenommene Neutralrot mit einem Ethanol-Eisessig-

Gemisch extrahiert. Die quantitative Bestimmung des Farbstoffs erfolgte photometrisch bei einer Meßwellenlänge von 570 nm. Die ermittelten Extinktionswerte wurden rechnerisch auf den Extinktionswert der Kontrolle (= 100%) bezogen und im Sinne einer Proliferationsveränderung gegenüber der nicht exponierten Kultur gewertet.

Die statistische Auswertung erfolgte basierend auf dem F-Test. Dabei wurden Zellart, Konzentration und Zeitdauer als Gruppen miteinander verglichen. Zur Anwendung kamen weiterhin der Brown-Forsythe-Test (Vergleich der Varianzen), der ANOVA-Test (bei gleichen Varianzen), der Welch-ANOVA-Test (bei nicht gleichen Varianzen), der Shapiro-Wilk-Test (Test auf Normalverteilung), der Tukey-Kramers-HSD-Test und Fisher-LSD-Test (Multipler Mittelwertvergleich). Es wurde die statistische Software „JMP Version 3.2.5“ verwendet.

Ergebnisse

Die Exposition der Epithelzellen mit PCB 153, beta-HCH und p,p'-DDE führte bei allen genannten Substanzen zu einer Zellproliferation. Dabei konnten die höchsten Zuwachsraten nach 72stündiger Exposition beobachtet werden. Im einzelnen verhielten sich die exponierten Kulturen wie folgt:

Die Exposition der Primärkultur mit PCB 153 (Abb. 1) zeigte deutlich eine Abhängigkeit der Proliferationsrate von der Inkubationszeit. Nach 24stündiger Anwesenheit der Substanz schwankte die Extinktion des Farbstoffes bei allen eingesetzten Testkonzentrationen nur um den Kontrollwert. Nach 48 Stunden wurde ein Anstieg erkennbar. Nach 72 Stunden war eine weitere Zunahme bei allen Konzentrationen außer in der Kultur unter 10^{-6} M PCB 153 festzustellen. Bei der höchsten Expositions dosis war zu diesem Zeitpunkt bereits ein Rückgang der Proliferationsrate zu erkennen.

Nach Zugabe von beta-HCH zum Kulturmedium und anschließender Inkubation zeigte sich im unteren Konzentrationsbereich (2×10^{-10} M bis 2×10^{-8} M) ein der PCB-Exposition ähnliches Bild (Abb. 2). Bei einer proportional zur Expositionsdauer steigenden Proliferationsrate war nach 72 Stunden die größte Zellzahl festzustellen. Bei höheren Konzentrationen (2×10^{-7} M, 2×10^{-6} M) wurden die Proliferationsmaxima bereits nach 24 Stunden beobachtet, danach war die Proliferationsrate wieder rückläufig.

Insgesamt den geringsten Einfluß auf das Wachstum der Epithelzellen rief die Zugabe von p,p'-DDE hervor (Abb.

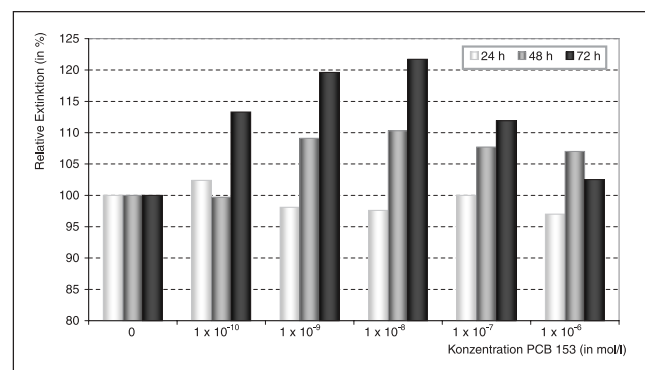


Abbildung 1: Exposition der Primärzellen mit PCB 153.

3). Die höchste Proliferationssteigerungsrate (12,9 %) wurde nach 72stündiger Inkubation mit 1×10^{-9} M p,p'-DDE erzielt. Bei insgesamt geringeren Unterschieden war tendenziell im Vergleich mit den anderen Testsubstanzen ein ähnliches Bild zu beobachten.

Die Exposition der MCF-7-Zellen führte ebenfalls zu einer verstärkten Zellproliferation. Diese war bei allen Testsubstanzen im Verhältnis zur Kontrolle stärker ausgeprägt als bei der Primärkultur. Die größten Zuwachsraten wurden bei Anwesenheit von PCB 153 im Gegensatz zu den Epithelzellen bereits nach 48 Stunden Inkubation erreicht (Abb. 4).

Nach Exposition der MCF-7-Zellen mit beta-HCH (Abb. 5) zeigten sich die höchsten Extinktionswerte schon nach 24 Stunden und blieben im weiteren Beobachtungszeitraum im Konzentrationsbereich von 2×10^{-10} M bis etwa 2×10^{-7} M weitgehend stabil. Die Proliferationssteigerung lag bei maximal 19,9 % (2×10^{-8} M, 24 h).

Die MCF-7-Zellen reagierten auf die Anwesenheit von p,p'-DDE im gesamten untersuchten Konzentrationsbereich mit einer sehr starken Proliferationszunahme. Diese war wesentlich größer als bei der Primärkultur. Die relative Extinktion lag hier bereits nach 24 Stunden zwischen 128,1 % (1×10^{-9} p,p'-DDE) und 138,6 % (1×10^{-6} p,p'-DDE) gegenüber den Kontrollwerten. Nach 48 Stunden waren stagnierende bzw. im Vergleich zur Auswertung nach 24 Stunden leicht rückläufige Extinktionen festzustellen. 72 Stunden Zellkultur in Anwesenheit von p,p'-DDE führten dann zu den höchsten Zellzuwachsrate der gesamten Untersuchung mit einer 47,8%-igen Zunahme bei Anwesenheit von 1×10^{-6} p,p'-DDE im Medium als Maximalwert.

Diskussion

Unsere Untersuchungen zeigen, daß Primärkulturen von Epithelzellen des humanen Endometriums auf die Anwesenheit von PCB 153, beta-HCH oder p,p'-DDE im Kulturmedium mit einer gesteigerten Zellproliferation reagieren. Die maximalen Proliferationsraten wurden erreicht, wenn die genannten chlorierten Kohlenwasserstoffe im Konzentrationsbereich zwischen 10^{-9} M und 10^{-8} M im Kulturmedium vorlagen. Diese sind mit den von Kuntzsch et al. ermittelten Belastungswerten im Endometrium identisch, da die durchschnittlichen Gewebekonzentrationen etwa 3×10^{-9} M PCB 153, 3×10^{-9} M beta-HCH und 3×10^{-8} M p,p'-DDE bezogen auf das Feuchtgewicht betragen.

Auffällig ist, daß die beobachtete Proliferationssteigerung sowohl bei den Epithelzellen als auch bei den MCF-7-Zellen bei den höchsten eingesetzten Substanzkonzentrationen wieder abnahm. Zu ähnlichen Resultaten kommen Tiemann et al. bei ihren Untersuchungen am Tiermodell. Die Autoren konnten die Steigerung der DNA-Synthese nach Einwirkung von DDT, Methoxychlor (MXC) und γ -HCH auf Epithel- und Stromazellen der Gebärmutter-schleimhaut weiblicher Färsen nachweisen [6]. Auch hier traten die Effekte eher im unteren Konzentrationsbereich auf. Die Vermutung der Autoren geht dahin, daß der Verlust der Zellvitalität beim Einsatz hoher Konzentrationen chlorierter Kohlenwasserstoffe auf die Bindung der Pestizide an einem hydrophoben Areal der „gap junction“-Proteine zurückzuführen ist.

Klaunig et al. [10] untersuchten in diesem Zusammenhang die Wirkung von Phenobarbital, DDT und Lindan auf die „gap junction“ von Maus-Hepatozyten und fanden heraus, daß alle drei Substanzen die interzellulären Verbindungen in der Hepatozytenkultur dosis- und zeitabhängig inhibieren. Eine Unterbrechung dieser interzellulären

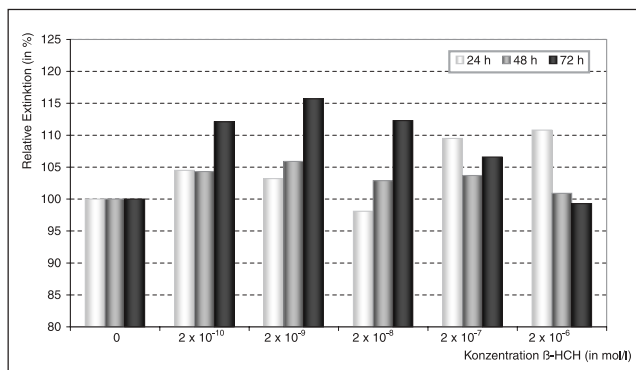


Abbildung 2: Exposition der Primärzellen mit beta-HCH

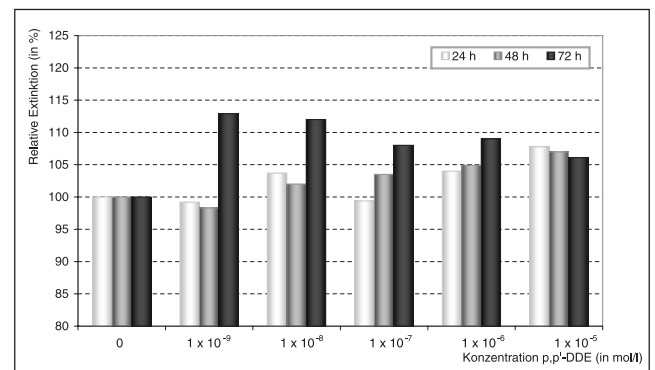


Abbildung 3: Exposition der Primärzellen mit p,p'-DDE

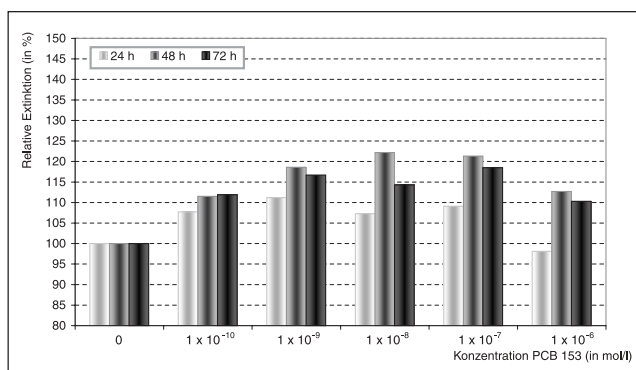


Abbildung 4: Exposition der MCF-7-Zellen mit PCB 153

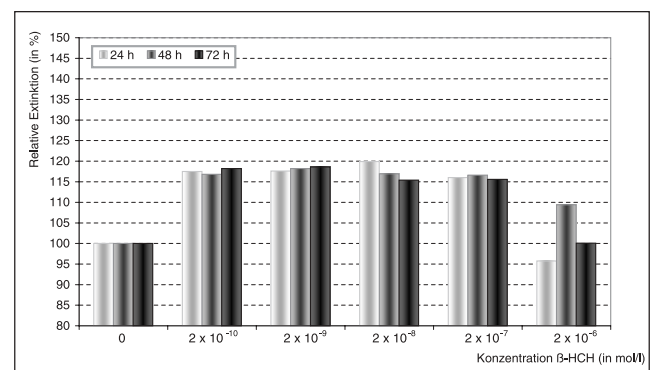


Abbildung 5: Exposition der MCF-7-Zellen mit beta-HCH

Verbindungen führte zu einer subletalen Reaktion. Loeber et al. stellten bei Ratten in vivo eine Endometriumhyperplasie nach Gabe von beta-HCH fest [11], konnten aber keinen Proliferationsrückgang bei höheren Konzentrationen beobachten.

Im Vergleich mit der Literatur erscheinen die in dieser Arbeit eingesetzten Maximalkonzentrationen als noch zu gering, um bereits toxische Effekte wie die oben beschriebenen hervorzurufen. Die Befunde lassen die Interpretation zu, daß es sich bei dem Rückgang der Proliferationsrate um einen sogenannten „hormetischen Effekt“ handelt. Das von Calabrese und Baldwin [12] entwickelte Konzept der „Hormesis“ besagt, daß die meisten Dosis-Wirkungs-Beziehungen eher einem U-förmigen (oder umgekehrt U-förmigen) Verlauf gehorchen. Auch nach Krimsky [13] kann man bei der Exposition mit endokrin wirksamen Substanzen nicht von der toxikologisch gängigen Ansicht „je höher die Dosis, desto größer der Effekt“ ausgehen. Es werden vielmehr Niedrig-Dosis-Effekte beobachtet, die bei Erhöhung der Schadstoffkonzentration nicht mehr auftreten. Während beide Zellarten einheitlich auf hohe Konzentrationen aller eingesetzten chlorierten Kohlenwasserstoffe mit einem reduzierten Wachstum reagierten, stellte sich im niedrigeren, expositionsrelevanten Konzentrationsbereich ein äußerst unterschiedliches Bild dar.

Bei den Primärkulturen bewirkte erst die Inkubation über 72 Stunden bei allen drei Verbindungen eine maximale Proliferation. Dagegen wurden maximale Proliferationsraten bei MCF-7-Zellen in Gegenwart von PCB 153 schon nach 48 Stunden und beim Zusatz von beta-HCH zum Kulturmedium bereits nach 24 Stunden erreicht. Lediglich p,p'-DDE zeigte erst nach 72 Stunden ein Proliferationsmaximum für diese Zellart. Die Erklärung der für maximale Proliferationsraten benötigten längeren Kulturzeiten bei den Primärzellen gegenüber den MCF-7-Zellen ist in der Tatsache zu sehen, daß die Proliferationszeit bei einer Tumorzelllinie generell kürzer als bei der Primärkultur ist. Die höchste Wachstumsrate wurde in der Primärkultur unter PCB 153 erreicht; bei der Krebszelllinie MCF-7 hatte die Anwesenheit von p,p'-DDE im Kulturmedium den stärksten stimulierenden Effekt.

Die Wirkung der chlorierten Kohlenwasserstoffe als endokrine Modulatoren wird vielfach mit deren Beeinflussung von rezeptorvermittelten Regulationsmechanismen begründet. Als typischer Östrogenrezeptor-vermittelter Effekt wird die Proliferationssteigerung angesehen, so daß bei der Betrachtung der eingesetzten Chemikalien von einer agonistischen Wirkung ausgegangen werden kann. Daß es überhaupt möglich ist, die Proliferationsrate primär kultivierter Zellen ohne jeglichen Serumzusatz zu erhöhen, spricht für diesen Wirkmechanismus. Fleming et al. [14]

stellten fest, daß die Östrogenrezeptor-Menge in primär kultivierten Epithelzellen des humanen Endometriums extremen Schwankungsbreiten unterliegt. 24 Stunden nach Aussaat der Zellen ließen sich die Östrogenrezeptoren, die bei der Aussaat noch nachzuweisen waren, nicht mehr darstellen. Erst ab dem vierten Kulturtag kam es wieder zum Ansteigen der Rezeptormenge mit einem Maximum am fünften und sechsten Tag. Die Rezeptormenge war dann sogar größer als zum Zeitpunkt der Aussaat. Ab dem achten Kulturtag sank die Zahl der Rezeptoren wieder. Legt man diese von Fleming et al. nachgewiesene Reaktivierung (oder Induktion) der Rezeptoren und die Wahl des Expositionszeitpunktes (4. Tag in Kultur) zugrunde, kann davon ausgegangen werden, daß die kultivierten Epithelzellen Östrogenrezeptoren besitzen. Entsprechend erscheint eine agonistische Wirkung der Testchemikalien möglich.

Andere veröffentlichte Ergebnisse stellen jedoch die Wirkung über den direkten Östrogenrezeptoragonismus in Frage. Vielmehr werden die Mechanismen von verschiedenen Autoren kontrovers diskutiert. Steinmetz et al. [15] konnten zwar eine Zellproliferation durch beta-HCH und die Substanz o,p'-DDT in Östrogenrezeptor positiven Zelllinien MCF-7 und T47D feststellen, bezweifeln aber, daß diese Reaktion über den klassischen Weg der direkten Interaktion mit dem Östrogenrezeptor vermittelt wird. Gleichzeitig durchgeführte Rezeptorbindungsstudien ergaben, daß beta-HCH nicht am Östrogenrezeptor bindet. Zu analogen Ergebnissen kamen Coosen et al. [16] sowie Uphouse et al. [17] bezüglich der Wirkung von γ -HCH.

Auch die Aussagen über den Effekt von p,p'-DDE sind widersprüchlich. Zum einen werden ihm antiöstrogene Eigenschaften zugeschrieben [4, 18, 19]. Zum anderen spricht der Nachweis einer Bindung am Östrogenrezeptor mit nachfolgender Progesteronrezeptorexpression und Östrogenrezeptor-Downregulation für agonistische Eigenschaften [20]. In den eigenen Untersuchungen zur Steroidrezeptorbindung polychlorierter Kohlenwasserstoffe konnte für PCB 153, beta-HCH und p,p'-DDE keine direkte Bindung am uterinen Östrogenrezeptor nachgewiesen werden. Wohl aber resultierte aus deren Anwesenheit im Inkubationsansatz eine signifikante Reduzierung der Bindungskapazität für Östradiol [8]. Diese Hemmung war beim Einsatz von PCB 153 im Nanomolbereich am stärksten.

In jüngster Zeit gibt es zunehmend Untersuchungen, wie die von Hall et al. [21], die neben der klassischen Vorstellung der Östrogenrezeptor-vermittelten Wirkungskaskade alternative Mechanismen (Interaktion von Östrogenrezeptor und Wachstumshormonrezeptoren, nichtgenomische Effekte) vorschlagen.

Die Ergebnisse unserer Untersuchungen zeigen, daß chlorierte Kohlenwasserstoffe in der Lage sind, endokriner Steuerung unterliegende Prozesse im Sinne einer Zunahme der biologischen Aktivität zu beeinflussen. Ein Zusammenhang zwischen dem Bindungsverhalten am Östrogenrezeptor und der beobachteten Induktion einer Zellproliferation in Anwesenheit der hier untersuchten Verbindungen ließ sich nicht nachweisen. In der gegenwärtigen Weiterführung der Arbeiten ist deshalb die unterschiedliche Ausstattung von MCF-7-Zellen und Epithelzellen des humanen Endometriums mit den Östrogenrezeptoren vom Typ Alpha und Beta sowie deren unterschiedliches Bindungsverhalten ein zentraler Untersuchungsgegenstand. Des weiteren sollen auch die angesprochenen alternativen Östrogen-Wirkmechanismen stärker berücksichtigt werden. Die Zielsetzung unserer Untersuchungen am Zellkultursystem bleibt die Frage nach der Auswirkung verschiedener

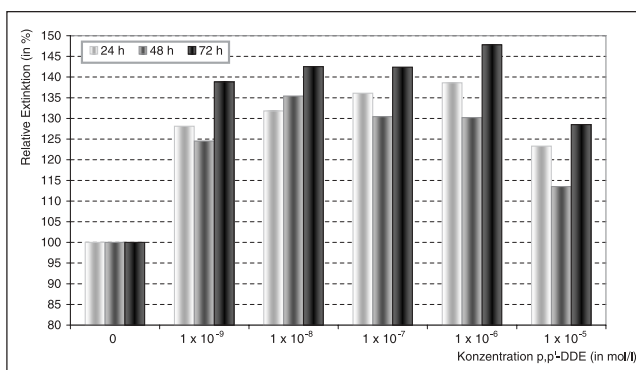


Abbildung 6: Exposition der MCF-7-Zellen mit p,p'-DDE

ökologisch relevanter Chemikalien auf die Nidationsbedingungen von frühen Embryonen im Zusammenhang mit den beobachteten fertilitätseinschränkenden Wirkungen dieser Substanzen.

Literatur:

1. Seidel HJ. Praxis der Umweltmedizin. Thieme-Verlag, Stuttgart, New York, 1998.
2. Seiler P, Fischer B, Lindenau A, Beier HM. Effects of persistent chlorinated hydrocarbons on fertility and embryonic development in the rabbit. Hum Reprod 1994; 9: 1920–6.
3. Degen GH, Foth H, Kahl R, Kappus H, Neumann HG, Oesch F, Schulte-Hermann R. Hormonell aktive Substanzen in der Umwelt: Xenooestrogene – Stellungnahme der Beratungskommission der Sektion Toxikologie der DGPT. DGPT-Forum 1999; 24: 30–6.
4. Schäfer W R, Zarahndnik HP, Frijus-Plessen N, Schneider K. Umweltchemikalien mit endokriner Wirkung: Auswahl von expositionsrelevanten Xenooestrogenen. Umweltwissenschaften und Schadstoff-Forschung Forschungsbericht 1995.
5. Lindenau A, Fischer B, Seiler P, Beier HM. Effects of persistent chlorinated hydrocarbons on reproductive tissues in female rabbits. Hum Reprod 1994; 9: 772–80.
6. Tiemann U, Schneider F, Tuchscherer A. Effects of organochlorine pesticides on DNA synthesis of cultured oviductal and uterine cells and on estrogen receptor of uterine tissue from heifers. Arch Toxicol 1996; 70: 490–6.
7. Lindenau A. Umweltpersistente Chlorkohlenwasserstoffe und Fertilität: Rückstandsanalytische und endokrinologische Untersuchungen an weiblichen Kaninchen. Universität Bonn, Dissertation, 1992.
8. Kuntzsch A. Untersuchungen zum Einfluß von endokrin wirksamen Verbindungen aus der Umwelt auf die Fertilität der Frau. Universität Halle, Dissertation, 2000.
9. Lindl T, Bauer J. Zell- und Gewebekultur: Einführung in die Grundlagen sowie ausgewählte Methoden und Anwendungen. 3. Aufl. Gustav Fischer, Stuttgart-Jena-New York, 1994.
10. Klaunig JE, Ruch RJ, Weghorst ChM. Comparative effects of phenobarbital, DDT, and lindane on mouse hepatocyte gap junctional intercellular communication. Toxicol Appl Pharmacol 1990; 102: 553–63.
11. Loeber JG, Velsen van FL. Uterotropic effect of β -HCH, a food chain contaminant. Food Addit Contam 1984; 1: 63–6.
12. Calabrese EJ, Baldwin LA. Hormesis: U-shaped dose responses and their centrality in toxicology. Trends Pharmacol Sci 2001; 22: 285–91.
13. Krinsky S. Hormonal chaos: The scientific and social origins of the environmental endocrine hypothesis. 1. Auflage. Johns Hopkins University Press, Baltimore, MD, 2000.
14. Fleming H, Namit C, Gurpide E. Estrogen receptors in epithelial and stromal cells of human endometrium in culture. J Steroid Biochem 1980; 12: 169–74.
15. Steinmetz R, Young PCM, Caparell-Grant A, Gize EA, Madhukar BV, Ben-Jonathan N, Bigsby RM. Novel estrogenic action of the pesticide residue β -hexachlorocyclohexane in human breast cancer cells. Cancer Res 1996; 56: 5403–9.
16. Coosen R, Velsen van FL. Effects of β -isomer of hexachlorocyclohexane on estrogen-sensitive human mammary tumor cells. Toxicol Appl Pharmacol 1989; 101: 310–8.
17. Uphouse L, Williams J. Diestrus treatment with lindane disrupts the female rat reproductive-cycle. Toxicol Lett 1989; 48: 21–8.
18. Danzo BJ. Environmental xenobiotics may disrupt normal endocrine function by interfering with the binding of physiological ligands to steroid receptors and binding proteins. Environ Health Perspect 1997; 105: 294–301.
19. Rivas A, Olea N, Olea-Serrano F. Human exposure to endocrine-disrupting chemicals: assessing the total estrogenic xenobiotic burden. Trends Analyt Chem 1997; 16: 10.
20. Chen CW, Hurd C, Vorobeikine DP, Arnold SF, Notides AC. Transcriptional activation of the human estrogen receptor by DDT isomers and metabolites in yeast and MCF-7 cells. Biochem Pharmacol 1997; 53: 1161–72.
21. Hall JM, Couse JF, Korach KS. The multifaceted mechanisms of estradiol and estrogen receptor signalling. J Biol Chem 2001; 276: 36869–72.



Dr. med. Solveig Köller

Geboren 1970 in Merseburg (D). Von 1989 bis 1996 Studium der Humanmedizin an der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg in Halle/Saale. Von 1997 bis 1998 Ärztin im Praktikum in der Klinik für Geburtshilfe und Reproduktionsmedizin an der Martin-Luther-Universität. Von 1998 bis 2000 Promotion im Rahmen des DFG-Graduiertenkollegs „Adaptive physiologisch-biochemische Reaktionen auf ökologisch relevante Wirkstoffe“ mit dem Thema: „Untersuchungen zum Einfluß endokrin wirksamer Umweltchemikalien auf die Primärzellkultur der Epithelzellen des humanen Endometrium“. Seit 2000 Assistenzärztin in der Klinik für Geburtshilfe und Reproduktionsmedizin der Martin-Luther-Universität.

Mitteilungen aus der Redaktion

Besuchen Sie unsere zeitschriftenübergreifende Datenbank

[Bilddatenbank](#)

[Artikeldatenbank](#)

[Fallberichte](#)

e-Journal-Abo

Beziehen Sie die elektronischen Ausgaben dieser Zeitschrift hier.

Die Lieferung umfasst 4–5 Ausgaben pro Jahr zzgl. allfälliger Sonderhefte.

Unsere e-Journale stehen als PDF-Datei zur Verfügung und sind auf den meisten der marktüblichen e-Book-Readern, Tablets sowie auf iPad funktionsfähig.

[Bestellung e-Journal-Abo](#)

Haftungsausschluss

Die in unseren Webseiten publizierten Informationen richten sich **ausschließlich an geprüfte und autorisierte medizinische Berufsgruppen** und entbinden nicht von der ärztlichen Sorgfaltspflicht sowie von einer ausführlichen Patientenaufklärung über therapeutische Optionen und deren Wirkungen bzw. Nebenwirkungen. Die entsprechenden Angaben werden von den Autoren mit der größten Sorgfalt recherchiert und zusammengestellt. Die angegebenen Dosierungen sind im Einzelfall anhand der Fachinformationen zu überprüfen. Weder die Autoren, noch die tragenden Gesellschaften noch der Verlag übernehmen irgendwelche Haftungsansprüche.

Bitte beachten Sie auch diese Seiten:

[Impressum](#)

[Disclaimers & Copyright](#)

[Datenschutzerklärung](#)