

Vorkommen und Wirkung zinnorganischer Verbindungen in Rhein und Main

Bericht über eine gemeinsame Untersuchung der Abteilungen für Umweltanalytik und Gewässerschutz

B. ALLNER¹⁾, S. DEHE²⁾, N. NIKUTOWSKI¹⁾, A. SCHAAT¹⁾, P. SEEL¹⁾, M. TILLMANN³⁾, P. STAHLSCHMIDT-ALLNER¹⁾

Schon Ende der 80er Jahre konnte gezeigt werden, dass zinnorganische Verbindungen, insbesondere das Tributylzinn (TBT) hauptsächlich aus Anstrichen von Schiffsrümpfen in die marine Umwelt gelangen. Bei getrenntgeschlechtlichen Meeresschnecken löst TBT eine Vermännlichung weiblicher Tiere aus. Dieses Phänomen wird als Imposex bezeichnet. Entlang großer Schifffahrtsrouten hat eine Kontamination der Meeresböden mit TBT das Verschwinden ganzer Populationen sensibler Schneckenspezies verursacht (Oehlmann et al. 1991; Bettin et al. 1996). Als molekularer Mechanismus der vermännlichenden TBT Wirkung wurde angenommen, dass ein wichtiger Schritt der Bildung weiblicher Sexualhormone unterbrochen wird. Das Hormon Östradiol wird aus androgenwirksamen Vorstufen wie dem Testosteron oder Androstendion gebildet. Eine Hemmung der Östradiolbiosynthese z.B. durch TBT könnte zu einer Anreicherung männlicher Hormone im Organismus führen. Eine Überprüfung dieser Hypothese war zunächst nicht möglich, da die endokrinen Kontrollmechanismen der Fortpflanzung bei Schnecken bislang nicht verstanden und die Orte der Hormonsynthese unbekannt sind. Weiterhin wurde die Analyse der Wirkmechanismen dadurch erschwert, dass die absoluten Hormonmengen in den sehr kleinen Schnecken so niedrig sind, dass sie mit konventioneller chemischer bzw. biochemischer Analytik nicht erfasst werden können.

Bisher wurde das TBT induzierte Imposexphänomen als eine Schädigung interpretiert, die auf wirbellose Organismen beschränkt ist. Für den komplexen hormonellen Regelkreis der Fortpflanzung der Wirbeltiere kann man jedoch voraussagen, dass eine Hemmung der Östradiolbiosynthese schwerwiegende Störungen im männlichen Geschlecht hervorrufen würde. Bei Säugern sekretiert der Hoden (Testis) des männlichen Fötus Testosteron, das über die Blutbahn zum Gehirn gelangt. In einem eng begrenzten Zeitraum um die Geburt wird dieses testikuläre Testosteron im Gehirn zu Östradiol umgewandelt. Nur das im Zentralnervensystem gebildete Östradiol löst die männliche Prägung des Gehirns aus. In der Zerebrospinalflüssigkeit, die das Gehirn umgibt, sind besondere östradiolbindende Proteine (α Fötoproteine) enthalten, die verhindern, dass mütterliches Östradiol in das Gehirn des Fötus gelangt (Abb. 1). Auf diese Weise ist sichergestellt, dass die männliche Prägung des Säugergehirns einzig von Testosteron aus dem Hoden des männlichen Fötus ausgelöst werden kann (Stahlschmidt-Allner et al. 1997). Eine Hemmung der Östradiolbiosynthese im Gehirn während der späten Larval- bzw. Fötalentwicklung der Wirbeltiere hätte also paradoxerweise tiefgreifende Folgen für die Realisation des männlichen Geschlechts. Derartige Schadbilder werden in klassischen toxikologischen Testverfahren nicht erfasst.

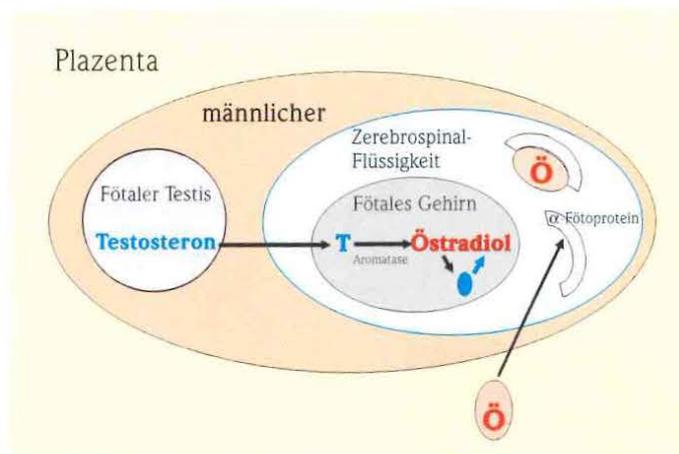


Abb. 1. Schematische Darstellung der männlichen Prägung des Gehirns in der perinatalen Phase; Ö: Östradiol, T: Testosteron (Erklärung im Text).

¹⁾ HLUG Wiesbaden; ²⁾ Universität Mainz; ³⁾ Internationales Hochschulinstitut Zittau

Eine weitere tiefgreifende Funktion hat die Umwandlung von Testosteron in Östradiol im erwachsenen Wirbeltierorganismus bei der Kontrolle der Hodenfunktionen. Vereinfacht dargestellt, wird im Wirbeltierorganismus „überschüssiges“ Testosteron zu Östradiol umgewandelt, das dann im Hirn die Androgen-Überproduktion anzeigt. In der Folge gehen vom Gehirn hormonelle Stimuli aus, die eine verminderte Testosteronproduktion bewirken. Wird dieser Prozess der „negativen Rückkopplung“ gestört, kommt es zu überschießender Androgenproduktion und zu unkontrolliertem Hodenwachstum. Abgesehen von diesen paradoxen Wirkungen, darf nicht außer acht gelassen werden, dass Östradiol schon in analytisch kaum nachweisbaren Konzentrationen unter einem ng/L wirksam wird. Somit ist davon auszugehen, dass Substanzen, die auf die Bildung und den Stoffwechsel dieses Hormons Einfluß nehmen, in hohem Maße schädlich sind. Da eine Reihe zinnorganischer Verbindungen in umweltoffenem Gebrauch ähnliche Charakteristika aufweisen wie das TBT, ergibt sich die Notwendigkeit Wirkungen und Vorkommen dieser Substanzklasse sehr eingehend zu untersuchen.

Gemeinsam mit dem Senckenberginstitut hat das HLUG ein Biomonitoring der Fischfauna des hessischen Oberrheines durchgeführt. Die Ergebnisse dieser Studie begründeten den Verdacht, dass an einigen Standorten bei männlichen Flussbarschen ein Schadbild (Supermännchen) vorliegt, das von einer Hemmung der Östradiolbiosynthese hervorgerufen werden kann. Es handelt sich um eine Störung der Geschlechtsentwicklung, die vom Gehirn ausgeht und bewirkt, dass männliche Tiere vorzeitig geschlechtsreif werden. Gleichzeitig weist das Hodengewebe krankhafte Veränderungen auf. Die nachfol-

gende Untersuchung der Flusssedimente zeigte, dass dort, wo vermehrt frühreife „Supermännchen“ auftraten, eine hohe Belastung mit TBT vorliegt (ALLNER, 1999).

Mittlerweile liegen Informationen vor, nach denen auch der Mensch auf vielfältige Weise gegenüber zinnorganischen Verbindungen exponiert ist. Aufsehen erregende Nachweise von Zinnorganen in Textilien waren Anlass für weitergehende Untersuchungen z.B. von Speisefischen, die gleichfalls mit zinnorganischen Komponenten belastet zu sein scheinen. Da aufgrund der oben erwähnten Daten des HLUG Untersuchungsprogrammes eine Wirkung von TBT auf den Hormonhaushalt von Fischen und damit von Wirbeltieren wahrscheinlich ist, wurde über diese Ergebnisse in der Presse ausführlich berichtet.

Zwischenzeitlich hat das HLUG weitere orientierende Messung zur Belastung hessischer Oberflächengewässer durchgeführt (SEEL et al, 1999). In Zusammenarbeit mit der Universität Mainz wurde eine radiochemische Methode entwickelt, die es erlaubt die Synthese geringer Mengen Östradiol zu messen. Das Verfahren basiert auf dem Nachweis der spezifischen Oxidation des Ring A des Steroidgrundgerüsts im Zuge der Östradiolbildung durch das Enzym Aromatase (Abb. 2). Diese Methode ermöglicht es, die Hypothesen zum Mechanismus der Schädwirkung von Zinnorganen zu überprüfen und ist gleichzeitig Voraussetzung dafür Wirkschwelen abzuschätzen. Mittlerweile konnten wir zeigen, dass TBT tatsächlich die Östradiolbiosynthese in Fischen hemmt. Bei in vitro Versuchen mit Gonadengewebe des Flussbarsches war bereits in Gegenwart von 1,4 µg TBT/L eine 50%ige Hemmwirkung zu verzeichnen.

Tests, die in Zusammenarbeit mit dem Internationa-

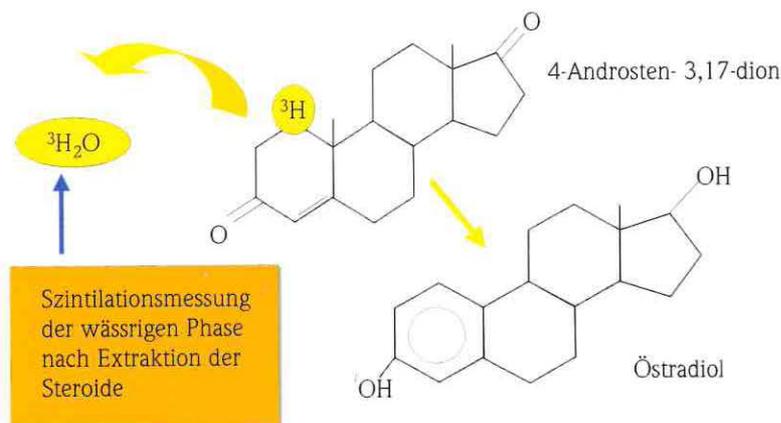


Abb. 2. Messprinzip des Aromatase Assays: Bei der Konversion von Tritium markiertem Androstendion zu Östradiol durch die Aromatase entsteht tritiiertes Wasser. Nach Extraktion der Steroide kann die Tritiumaktivität der wässrigen Phase als Maß für die Aktivität der Aromatase und damit der Östradiolsynthese bestimmt werden.

len Hochschulinstitut Zittau durchgeführt wurden, bestätigen die Hypothese, dass TBT auch in Schnecken über eine Hemmung der Östradiolbiosynthese wirksam wird. Die gonadale Aromataseaktivität von Schnecken war nach Exposition gegenüber TBT deutlich erniedrigt. Zudem ergaben unsere Untersuchungen den überraschenden Befund, dass auch diese wirbellosen Organismen im Zentralnervensystem Östradiol bilden.

In der Umwelt sind neben Tributylzinn weitere zinnorganische Verbindungen, wie z.B. Dibutylzinn und Triphenylzinn nachzuweisen. Die Etablierung des

Aromataseassays war Voraussetzung, um in zukünftigen Untersuchungen zu ermitteln, ob weitere zinnorganische Komponenten über die Hemmung der Östradiolbiosynthese wirksam werden. Insbesondere die Bestimmung von Wirkschwellen ist für die Bewertung von Zinnorganylkonzentrationen in der Umwelt und in Nahrungsmitteln von Belang.

Messungen der Belastung von Rheinfischen mit Zinnorganylen zeigten, dass die TBT-Gehalte im Körper der Flussbarsche an vielen Standorten die Werte erreichen, bei denen eindeutig mit einer Hemmung der Östradiolbiosynthese zu rechnen ist (Abb. 3).

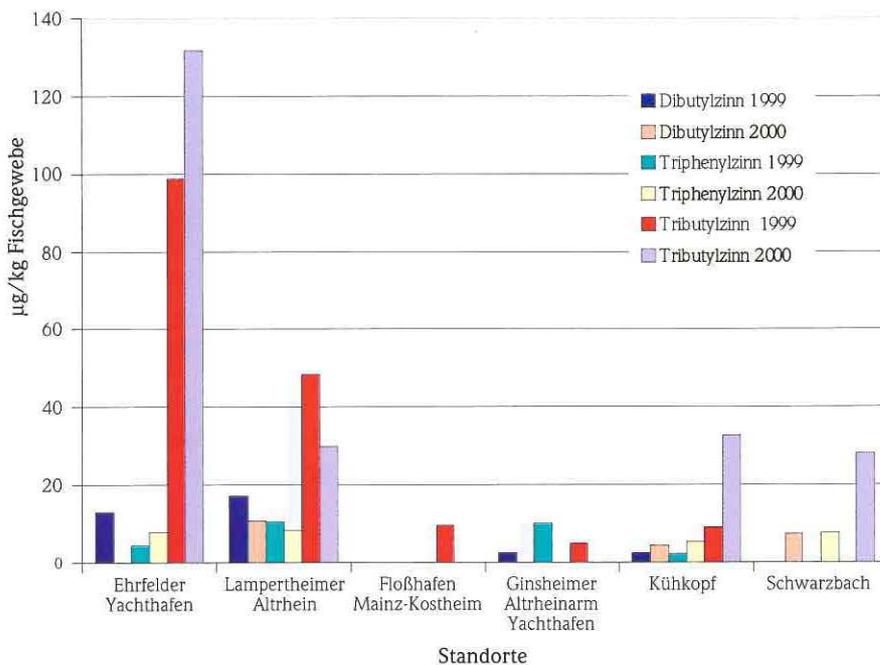


Abb. 3a. Organozinngehalt 1999/2000 in Flussbarschen (Gesamtfisch) ausgewählter Standorte.

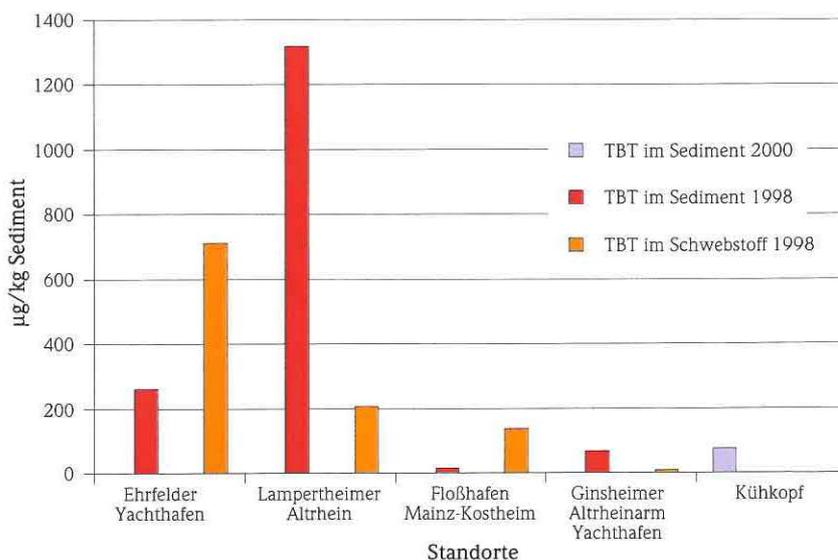


Abb. 3b. TBT-Belastung von Schwebstoff und Sediment ausgewählter Standorte.

Im Hinblick auf die Belange des Gewässerschutzes besteht die Notwendigkeit zu prüfen, in welchem Maße wirbellose Organismen der Flusssedimente gegenüber Hemmstoffen der Östradiolbiosynthese ausgesetzt sind. Je nach dem in welchem Umfang sich limnische Formen als sensitiv gegenüber Zinnorganen erweisen, ist nicht auszuschließen, dass Stoffkreisläufe beeinträchtigt werden. Beispielsweise sind Wirbellose maßgeblich an der Mineralisierung pflanzlicher Materialien beteiligt. Da bislang keine limnischen Testsysteme zur Bestimmung des endokrinoxischen Potentials von Sedimenten zur Verfügung stehen, wurden in Zusammenarbeit mit dem IHI Zittau marine Schnecken (*Hinia reticulata*) gegenüber Flußsedimenten exponiert. Die vermännlichende Wirkung der Sedimente wurde anhand des Vas deferens Sequenz-Index (VDS-Index) bestimmt. Dieser Index ist ein relatives Maß für die Umwandlung primär weiblicher Merkmale zu männlichen Geschlechtsorganen, z.B. die Entwicklung eines Penis und oder eines Samenleiters (Im-

posex). Es zeigte sich, dass einige Sedimente hessischer Oberflächengewässer eine sehr starke endokrinoxische Wirkung auf die Schnecken ausüben (Abb.4). Derzeit ist noch zu wenig über Biosynthese und Funktion von Östradiol bei limnischen Sedimentorganismen bekannt, als dass eine abschließende Bewertung dieser Daten möglich ist. Dennoch sind diese biologischen Tests ein eindrucksvoller Beweis dafür, dass Schadstoffe der Flusssedimente biologisch verfügbar sind. Die Ergebnisse zeigen, dass toxische Substanzen von Sedimentorganismen aufgenommen werden und somit wieder in die Nahrungskette gelangen.

Aus technischen Gründen konnte in diesem ersten Untersuchungsprogramm nur an wenigen Standorten zugleich eine Untersuchung der Flussfischfauna und der Sedimenttoxizität durchgeführt werden. Der Vergleich von Störungen der Geschlechtsentwicklung bei Schnecken und männlichen Flussbarschen zeigte, dass an einigen Standorten eine sehr ausgeprägte Wirkung auf die Fische vorliegt, wäh-

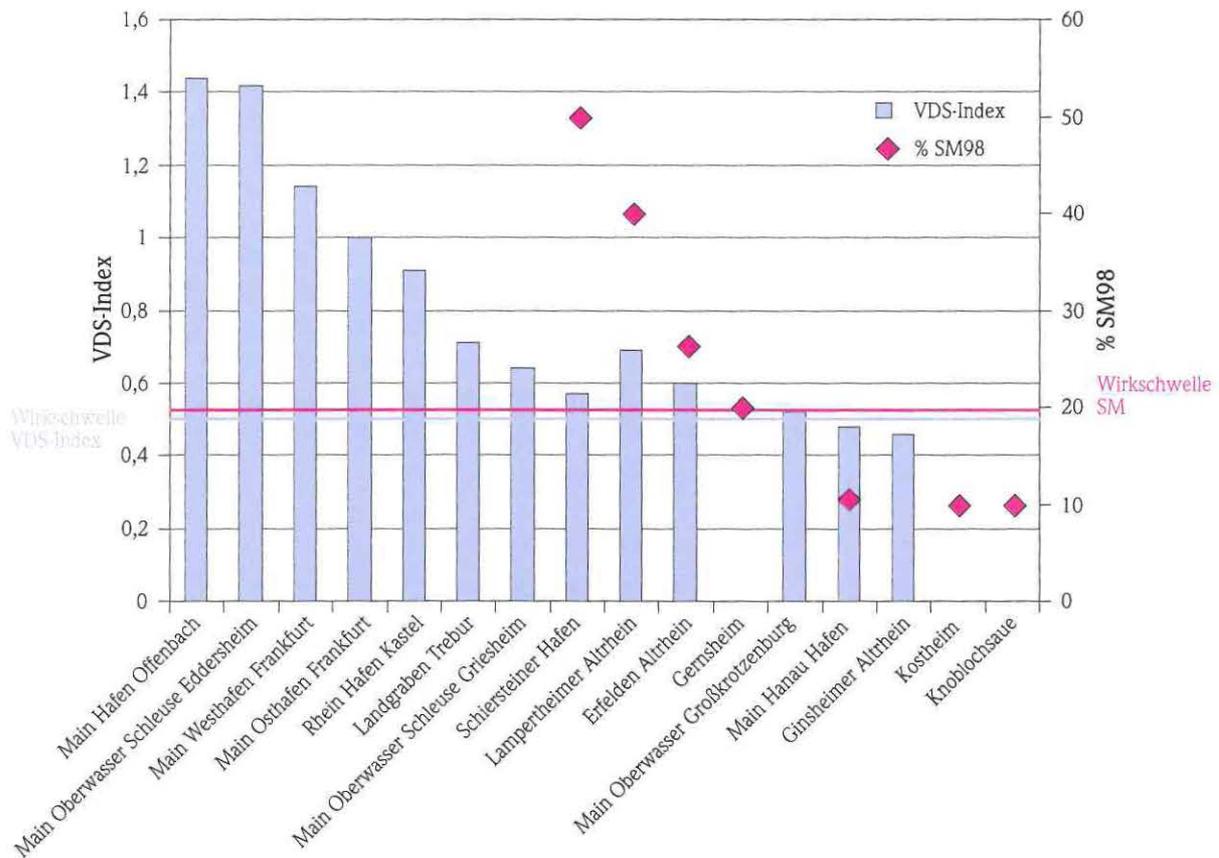


Abb. 4. Vergleich der Wirkung von Flusssedimenten ausgewählter Standorte auf die Geschlechtsdifferenzierung von Schnecken (*Hinia reticulata*) mit der Häufigkeit von frühreifen Flussbarschmännchen (Supermännchen). % SM = Anteil Supermännchen an gefangenen männlichen Flussbarschen (*Perca fluviatilis*).

rend bei Schnecken lediglich grenzwertige Veränderungen auftreten (Abb. 4). Die Unterschiede im Ausmaß der Schädigung sind möglicherweise auf die Untersuchungstechnik zurückzuführen. Die Schnecken wurden lediglich über einen Zeitraum von 4 Wochen im Laborversuch gegenüber den jeweiligen Flußsedimenten exponiert, während die

Flußbarsche vermutlich die untersuchten Flußbereiche über deutlich längere Zeiträume besiedelten. Andererseits könnten diese Befunde auch auf eine deutlich höhere Sensitivität von Fischen gegenüber hormonaktiven Schadstoffen dieser Standorte hinweisen.

Literatur

- ALLNER, B. (1999): Flussbarsch „Supermännchen“ im Rhein – natürlich oder anthropogen? In: Schriftenreihe des Hessischen Landesamtes für Umwelt, Umweltplanung, Arbeits- und Umweltschutz, Heft 258, pp 30–34
- ALLNER, B., THEIMER S., SCHAAT, A. & STAHLSCHEIDT-ALLNER, P. (2000): Entwicklung eines Fischtests zur Erfassung von Stoffen mit endokrinen Wirkungen in Oberflächengewässern, Teil 3: Der neue Fischttest in der Gewässerüberwachung durch eine Landesbehörde. – Abschlussbericht, BMBF Förderkennzeichen 02-WU9665/6
- BETTIN C., OEHLMANN J. & STROBEN E. (1996): TBT-induced imposex in marine neogastropods is mediated by an increasing androgen level. – Helgoländer Meeresuntersuchungen, 50: 299–317
- OEHLMANN J., STROBEN E. & FIORINI P. (1991): The morphological expression of imposex in *Nucella lapillus*. – J. moll. Stud. 57: 375–390
- SEEL P, FOOKEN C. & GIHR R. (1999): Orientierende Messungen gefährlicher Stoffe 1991–1998. – Hessische Landesanstalt für Umwelt 1999
- STAHLSCHEIDT-ALLNER, P., ALLNER, B., RÖMBKE, J. & KNACKER, T. (1997) Endocrine disruptors in the aquatic environment. ESPR Environ. – Sci. & Pollut. Res. 4: 155–162.