



Rapport

Enkele XENO-OESTROGENEN waaronder Bisphenol A

De Waegeneer E, Van Larebeke N

december 2010

1. Inleiding

Gedurende de voorbije jaren zijn endocriene verstoorders steeds meer een onderwerp van studie en discussie geworden. De impact ervan op de volksgezondheid en de ecologische effecten van deze stoffen zijn terecht belangrijke aandachtspunten. Dit rapport focust specifiek op een aantal zogenaamde 'xeno-oestrogenen', een klasse van endocriene verstoorders met oestrogene activiteit, en hun biologische effecten bij mensen. Bijkomende informatie is te vinden in het rapport "**Hormoonverstoring bij lage omgevingsdosissen en gezondheidsrisico's.**" dat eveneens op de website van het Steunpunt Milieu en Gezondheid gepubliceerd zal worden.

2. Xeno-oestrogenen

Chemische stoffen kunnen endocrien verstorend werken doorheen verschillende mechanismen waaronder het stimuleren of inhiberen van de productie van natuurlijke hormonen en het versnellen of vertragen van de inactivatie van deze hormonen (Sharpe & Irvine, 2004). Gehydroxyleerde metabolieten van PCBs inhiberen het enzyme estrogen sulfotransferase, waardoor de inactivatie en de excretie van oestrogenen vertraagd wordt (Kester et al., 2002). Zo bijvoorbeeld stimuleert het pesticide atrazine de aromatase, het enzyme dat testosteron omzet in oestradiol (Holloway et al., 2008). Een belangrijke klasse van hormonaal actieve agentia die in het milieu voorkomen zijn de receptor-bindende stoffen die oestrogene of androgene agonisten of antagonist nabootsen. Inderdaad, heel wat stoffen hebben dergelijke eigenschappen en verstoren de regulatie door natuurlijke hormonen van de ontwikkeling en het voortplantingsproces van mens en dier. Onder meer door bij zeer vroegtijdige blootstelling (in utero) een abnormaal hormonaal signaal te geven (Sharpe & Skakkebaek, 1993).

Tal van stoffen bezitten oestrogene eigenschappen, met name een aantal constituenten van planten (phyto-oestrogenen), bepaalde myco-oestrogenen en hun metabolieten, alsook bepaalde industriële chemicaliën. (Degen, 2000). Xeno-oestrogenen zijn aanwezig in plastics, detergents, partikels van dieseluitstoot, pesticiden en planten. Voorbeelden zijn onder andere DDT, PCB's, estradiol en DES, naast zeer vele anderen. (Guo, 2008). De belangrijkste bron aan xeno-oestrogenen voor de mens wordt gevormd door voedsel (Degen, 2000).

De xeno-oestrogene activiteit die door deze exogene stoffen wordt gerealiseerd, is gebaseerd op de eigenschap van deze componenten om te binden op de oestrogeen receptoren, waarvan er 2 subtypes zijn (alpha en bèta) of om de functie van deze receptoren te moduleren (Kuiper, 1998). Vervolgens dienen ze als transcriptiefactoren die het DNA binden via de oestrogeen respons elementen.

Hoewel beide subtypes van de oestrogene receptoren beschreven zijn als nucleaire receptoren, komen ze ook voor in andere organellen, zoals het plasmamembraan, het endoplasmatisch reticulum en het cytosol, waar binding van de (xeno-) oestrogenen mogelijk is. (Roper, 2006)

Deze stoffen verschillen onderling sterk wat hun oestrogene potentie betreft. Volgens de resultaten van in vitro assays blijken vele industriële xeno-oestrogenen duidelijk minder potent dan oestradiol, zo'n 10^{-4} tot 10^{-6} maal minder sterk. Maar deze tests alleen volstaan niet om de relatieve xeno-oestrogene activiteit te bepalen. Celculturen ontbreken vaak de geschikte enzymen om pro-oestrogenen om te zetten in oestrogenen en bovendien geven ze belangrijke verschillen in de farmacokinetiek niet weer. (Kavlock, 1996)

Studies in dieren zijn helaas onontbeerlijk om de oestrogene activiteit van stoffen te bepalen.

3. Gezondheidseffecten van xeno-oestrogenen.

De biologische relevantie van de gekende, en meestal lage, concentraties aan xeno-oestrogenen in het milieu en in voedsel is een controversieel onderwerp. Dit heeft ondermeer te maken met het feit dat de risicoinschatting van de interacties tussen de exogene en endogene hormonaal actieve stoffen zeer moeilijk is. (Degen, 2000) Een toxicologische risicoinschatting voor xeno-oestrogenen is zeer complex, aangezien naast factoren zoals kinetiek en blootstelling, bijkomende aspecten in rekening moeten gebracht worden. Deze aspecten omvatten ondermeer de complexe regulatie van het endocrien systeem, variatie in endogene concentraties geslachtshormonen en blootstelling aan natuurlijk voorkomende componenten met hormonale activiteit. (Degen, 2000)

Hieronder volgt een overzicht van de belangrijkste gekende of vermoedde xeno-oestrogenen en hun gezondheidseffecten.

3.a orale contraceptiva

In de beginperiode van de productie van orale contraceptiva werd er vastgesteld dat sommige mannelijke arbeiders gynaecomastie ontwikkelden en dat er bij vrouwelijke arbeidsters sprake was van een onregelmatige menstruatie. Deze nadelige gezondheidseffecten zijn niet onverwacht in het licht van de potentie van contraceptieve stoffen en het gemak waarmee ze doorheen de huid penetreren. De contraceptieve oestrogene componenten ethynylestradiol en mestranol worden snel gemetaboliseerd en uitgescheiden en de symptomen bij de blootgestelde arbeiders waren reversibel na beëindiging van de blootstelling. (Degen, 2000)

3.b. DDT en andere pesticiden

DDT is een mengsel van 20% o,p'-DDT, een xeno-oestrogeen, en 80% p,p'-DDT, dat wordt omgezet tot het anti-androgene metaboliet p,p'-DDE. Dit persistente pesticide levert een historisch voorbeeld van de gezondheidseffecten van xeno-oestrogenen. In arbeiders met een hoge blootstelling aan DDT, werd immers oligospermie vastgesteld. (Degen, 2000) Blootstelling aan DDT bleek geassocieerd aan een 5 maal hoger risico op borstkanker bij vrouwen geboren na 1931, die DDT blootstelling ondergingen op jonge leeftijd (Cohn et al., 2007). Er worden vandaag nog steeds sporen van DDT en zijn metabolieten aangetroffen in veel soorten voedsel. (Degen, 2000), ook in Vlaanderen (Schepens et al. 2001)

Blootstelling aan een ander pesticide, kepone, kan op zijn beurt resulteren in ernstige neurologische symptomen en onvruchtbaarheid als gevolg van de xeno-oestrogene activiteit van dit ingrediënt. Dit effect is wellicht te wijten aan de feedback inhibitie van de gonadotropine secretie. (Degen, 2000)

Volgens een studie van Hoyer et al. (1998) is de kans op de ontwikkeling van borstkanker tweemaal zo groot in vrouwen die de hoogste concentraties van het xeno-oestrogeen dieldrin in hun bloed hebben, ten opzichte van de vrouwen met de laagste concentraties. De significante dosis-effectrelatie was zeer opmerkelijk bij dit onderzoek.

3.c. Di-ethylstilbestrol (DES)

Het gebruik van DES en de neveneffecten ervan zijn goed beschreven in de literatuur. Het vroegere klinisch gebruik van deze stof toont aan dat xeno-oestrogene blootstelling tijdens de ontwikkeling kan resulteren in onomkeerbare schade. DES veroorzaakt een zeldzame tumor bij jonge vrouwen die tijdens hun prenatale ontwikkeling werden blootgesteld aan deze component. Daarnaast werden er ook veelvuldig niet-maligne genitale abnormaliteiten vastgesteld bij deze zogenaamde 'DES-dochters'. In de 'DES-zonen' was er sprake van urogenitale afwijkingen en verlaagde spermakwaliteit (Sharpe & Skakkebaek, 1993)

De ervaring met het gebruik van DES toont vooral aan dat de 'xeno-oestrogene hypothese' biologisch plausibel is. (Degen, 2000) Momenteel is het de vraag hoe we de bevindingen met DES, dat in relatief hoge dosissen werd toegediend, kunnen extrapoleren naar lage dosissen en naar xeno-oestrogene componenten met een zwakkere hormonale activiteit.

3.d. 4,4'-diaminostilbeen-2,2'-dizwavelzuur (DAS)

4,4'-diaminostilbeen-2,2'-dizwavelzuur (DAS) is een belangrijk intermediair in de ontwikkeling van fluorescerende witmakende agentia. In de jaren '80 werd dit geproduceerd in open systemen. Evaluatie van de arbeiders in de betrokken industrie toonde een verlaging aan van de concentratie testosteron in het bloed van zowel arbeiders die nog in actieve dienst waren als arbeiders die voorheen blootgesteld werden (Landrigan et al., 1983; Grajewski et al., 1996. Zowel arbeiders met blootstelling op het moment van het onderzoek als arbeiders die voorheen waren blootgesteld bleken meer frequent te kampen te hebben met verminderde libido en verminderde seksuele functie (Whelan et al., 1996).

Er werden uterotrofische effecten vastgesteld bij vrouwelijke ratten en diverse onderzoeken bevestigden de anti-androgene activiteit bij mensen. Deze effecten zijn consistent met de gekende effecten van DES, waarmee DAS een structurele verwantschap vertoont. (Degen, 2000)

3.e. Bisphenol-A (BPA)

Van alle geregistreerde xenobiotica heeft bisphenol-A de grootste interesse opgeëist en het meeste discussie gegenereerd. BPA is een belangrijk ruw materiaal voor de productie van polycarbonaat plastics en epoxyharsen. BPA wordt in zeer grote volumes verwerkt en gebruikt. Blootstelling bij mensen gebeurt via hydrolyse, waardoor lage concentrates BPA in voedsel en drank terecht komen.

Momenteel is er zeer veel debat over de potentiële effecten van lage dosissen BPA op de reproductieve gezondheid en de ontwikkeling bij mensen. Bepaalde studies onderbouwen de hypothese dat er evidentie is voor lage dosiseffecten.

De meeste studies naar de effecten van BPA zijn uitgevoerd op muizen en ratten. Crain (2007) vult deze gegevens aan met onderzoek naar de impact bij vissen, reptielen en vogels. BPA is voor veel gewervelden een duidelijke endocriene verstoorder en teratogeen. De meeste teratogene effecten treden op bij dosissen die niet realistisch voorkomen in het milieu. De endocrien verstorende effecten daarentegen, zoals verstoring van de geslachtelijke ontwikkeling, gebeuren bij relevant voorkomende concentraties.

BPA is een stof die definitief orgaanstructuren kan wijzigen (bv. gonaden) en ook veranderingen kan teweeg brengen in normaal georganiseerde endocriene systemen. (Crain, 2007) Voor het leven in het water bestaat er echter geen veilige grens wat de schadelijke concentratie betreft.

Ohshima et al. (2007) tonen aan dat blootstelling aan BPA tijdens de ontwikkeling de ontwikkeling van orale tolerantie voor voedselallergenen in muizen kan verstoren.

Nakagawa (2001), Melnick (2002), Vom Saal (2005, 2006) en Welshons (2006) ondersteunen de hypothese dat BPA ook bij lage dosissen als endocriene verstoorder optreedt en bijgevolg een impact heeft op de reproductieve gezondheid en de ontwikkeling bij mensen. Ze stellen allen dat in vivo effecten in proefdieren veroorzaakt worden door de lage dosissen waaraan ook mensen worden blootgesteld en dat er dus zeer veel reden tot bezorgdheid is. De geziene effecten omvatten ondermeer antithyroid hormonale werking, obesitas, endometriële hyperplasie en herhaalde miskramen. Vom Saal (2006) stelt ook vast dat de synthese van testosteren geblokkeerd kan worden door BPA en dat BPA proliferatie van humane prostaatcellen kan veroorzaken.

Sommige onderzoeken concluderen dat er geen of weinig significante effecten zijn vastgesteld. (Goodman, 2009) Er is echter voldoende alarmerende literatuur die duidelijk maakt dat BPA wel degelijke optreedt als endogene verstoorder in mensen en dat er dringen nood is aan een aangepaste regelgeving. De onderzoekers tonen dat de verdere bestudering van de lage dosis-effecten van BPA en de gepaste beleidsmaatregelen, gebaseerd op de huidige bevindingen, van het hoogste belang is voor de volksgezondheid.

De effecten van BPA als endocriene verstoorder worden toegewezen aan 2 mechanismen: de werking als oestrogene agonist enerzijds en de promotie van het effect van endogeen estradiol anderzijds. BPA bindt aan de oestrogeen receptor van vertebraten met een grotere affiniteit dan het endogeen estradiol. Daarnaast zijn er 3 indirecte mechanismen die de oestrogene activiteit verhogen: het hoog houden van de steady state concentratie aan de oestrogeen receptoren, het verdringen van endogeen estradiol van het circulerend bindend eiwit en de inhibitie van de excretie van endogeen estradiol.

In verschillende hoog-ontwikkelde landen werd reeds regelgeving ingevoerd om de blootstelling, vooral dan deze van kinderen, aan BPA in te perken.

3.f. Phyto-oestrogenen

Zeel veel phyto-oestrogenen vertonen oestrogene activiteit in vitro en in vivo. De phyto-oestrogenen die van belang zijn voor de mens, zijn de isoflavonen en de lignans, die respectievelijk vooral in sojabonen en lijnzaad worden teruggevonden. De blootstelling en de bloedconcentraties van phyto-oestrogenen zijn sterk afhankelijk van het dieet.

Hoewel deze componenten doorgaans als 'zwakke' xeno-oestrogenen geclassificeerd worden, kunnen ze het endocrien systeem beïnvloeden wanneer ze in grote hoeveelheden geconsumeerd worden. Zo werd er bij premenopausale vrouwen met een dagelijkse consumptie van 60g soja-eiwitten, gedurende 1 maand, vastgesteld dat er een significante afname was van de follikelstimulerende en luteïniserende hormoonconcentraties, en een toegenomen lengte van de menstruele cyclus. (Degen, 2000)

Onderzoek van Cederroth CR et al. (2009) toont aan dat er indicaties zijn dat phyto-oestrogenen, alleen en in combinatie met andere endocriene verstoorders, kunnen leiden tot een aantasting van de voortplantingsfuncties bij mannen. De studie stelt de volgende effecten vast: de verandering van reproductieve hormonen, spermatogenese, spermakwantiteit en vruchtbaarheid. Deze neveneffecten vragen dringend om verder onderzoek. Ondertussen raadt de onderzoeker aan om perinatale blootstelling aan phyto-oestrogenen, bijvoorbeeld via voeding op basis van soja, te vermijden.

Kuiper (1998) bleek correct te zijn bij het besluiten dat phyto-oestrogenen een significante oestrogene potentie hebben, meer bepaald voor de oestrogene receptor beta, en dat ze heel wat biologische responsen kunnen triggeren die door de endogene oestrogenen bewerkstelligd worden.

3.g. Andere hormoonverstorende agentia.

Er zijn nog vele andere hormoonverstorende agentia waar hier niet in detail wordt op ingegaan. Het betreft onder meer PCBs, hexachlorobenzeen, dioxines, ftalaten, parabenen, sommige pesticiden sommige cosmetica en zelfs zware metalen. Inderdaad, ook zware metalen zoals cadmium en lood bleken sommige xeno-oestrogene eigenschappen te hebben (Yu et al., 2010; Siewit et al, 2010; Martin et al., 2003; Selevan et al., 2003).. Voor meer informatie wordt verwezen naar het rapport "**Hormoonverstoring bij lage omgevingsdosissen en gezondheidsrisico's.**" dat eveneens op de web-site van het Steunpunt Milieu en Gezondheid gepubliceerd zal worden.

4. Besluit

Uit de bovenstaande studies komt sterk naar voren dat er nog veel onduidelijkheden zijn over de mogelijke xeno-oestrogene activiteiten van verscheidene stoffen. Aangezien sommige onderzoeksresultaten verontrustend zijn, zijn degelijke toxicologische risicoschattingen prioritair. Meer bepaald bisphenol A en bepaalde phyto-oestrogenen die een grote consumptie kennen, vragen om verdere studie.

Wat duidelijk blijkt is dat xeno-oestrogenen een verregaande impact kunnen hebben op de volksgezondheid, zeker op vlak van reproductieve gezondheid en tijdens de ontwikkeling. Onderzoek toont aan dat ook lage dosissen dergelijke drastische effecten kunnen bewerkstelligen. Verdere mechanistische opheldering zal bijdragen tot een beter begrip van deze vaststellingen.

5. Bibliografie

Cederroth CR, Auger J, Zimmermann C, Eustache F, Nef S: Soy, phyto-oestrogens and male reproductive function: a review. Int J Andrology 2009; Epub ahead of print, via PubMed.

Cohn BA, Wolff MS, Cirillo PM, Sholtz RI. DDT and breast cancer in young women: new data on the significance of age at exposure. Environ Health Perspect 2007 Oct;115(10):1406-14.

Crain DA, Eriksen M, Iguchi T, Jobling S, Laufer H, Leblanc GA, Guillette JT LJ: An ecological assessment of bisphenol-A: Evidence from comparative biology. *Reproductive toxicology* 2007; 24: 225-239.

Degen GH, Bolt HM. Endocrine disruptors: update on xenoestrogens. *Int Arch Occup Environ Health* 2000 Sep;73(7):433-41.

Goodman JE, Witorsch RJ, McConnell EE, Sipes IG, Slayton TM, Yu CJ, Franz AM, Rhomberg LR: Weight-of-evidence evaluation of reproductive and developmental effects of low doses of bisphenol A. *Crit Review Toxicology* 2009; 39(1): 1-75.

Grajewski B, Whelan EA, Schnorr TM, Mouradian R, Alderfer R, Wild DK. Evaluation of reproductive function among men occupationally exposed to a stilbene derivative: I. Hormonal and physical status. *Am J Ind Med* 1996 Jan;29(1):49-57.

Guo TL: Xenoestrogen regulation of food allergy. *Journal of immunotoxicology* 2008; 5: 259-270.

Holloway AC, Anger DA, Crankshaw DJ, Wu M, Foster WG. Atrazine-induced changes in aromatase activity in estrogen sensitive target tissues. *J Appl Toxicol* 2008 Apr;28(3):260-70.

Hoyer AP, Grandjean P, Jorgensen T, Brock JW, Hartvig HB: Organochlorine exposure and risk of breast cancer. *Lancet* 1998; 352: 1816-1820.

Kavlock RJ, Daston GP DeRosa C, Fenner-Crisp P, Gray Le, Kaattari S, Lucier G, Luster M, Mac MJ, Maczka C, Miller R, Moore J, Rolland R, Scott G, Sheehan DM, Sinks T, Tilson HA: Research needs for the risk assessment of health and environmental effects of endocrine disruptors: a report of the US EPA-sponsored workshop. *Environmental Health Perspectives* 1996; 104(4): 715-740.

Kester MH, Bulduk S, Tibboel D, Meinl W, Glatt H, Falany CN, et al. Potent inhibition of estrogen sulfotransferase by hydroxylated PCB metabolites: a novel pathway explaining the estrogenic activity of PCBs. *Endocrinology* 2000 May;141(5):1897-900.

Kuiper GG, Lemmen JG, Carlsson B, Corton JC, Safe SH, van der Saag PT, van der Burg B, Gustafsson JA: Interaction of estrogenic chemicals and phytoestrogens with estrogen receptor beta. *Endocrinology* 1998; 139 (10): 4252-4263.

Landrigan PJ, Melius JM, Rosenberg MJ, Coye MJ, Binkin NJ. Reproductive hazards in the workplace. Development of epidemiologic research. *Scand J Work Environ Health* 1983 Apr;9(2 Spec No):83-8.

Martin MB, Reiter R, Pham T, Avellanet YR, Camara J, Lahm M, et al. Estrogen-like activity of metals in MCF-7 breast cancer cells. *Endocrinology* 2003, 144(6):2425-2436.

- Melnick R, Lucier G, Wolfe M, Hall R, Stancel G, Prins G, Gallo M, Reuhl K, Ho SM, Brown T, Moore T, Leakey J, Haseman J, Kohn M: Summary of the National Toxicology Program's report of the endocrine disruptors low-dose peer review. *Environ Health Perspect* 2002 Apr;110(4):427-31.
- Nakagawa Y, Suzuki T: Metabolism of bisphenol A in isolated rat hepatocytes and oestrogenic activity of a hydroxylated metabolite in MCF-7 human breast cancer cells. *Xenobiotica* 2001; 31 (3): 113-123.
- Oshima Y, Yamada A, Tokuriki S, Yasutomi M, Omata N, Mayumi M: Transmaternal exposure to Bisphenol A modulates the development of oral tolerance. *Pediatr Research* 2007; 62: 60-64.
- Ropero AB, Alonso-Magdalena P, Ripoll C, Fuentes E, Nadal A: Rapid endocrine disruption: environmental estrogen actions triggered outside the nucleus. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2006; 102 (1-5): 163-169.
- Schepens PJ, Covaci A, Jorens PG, Hens L, Scharpe S, Van LN. Surprising findings following a Belgian food contamination with polychlorobiphenyls and dioxins. *Environ Health Perspect* 2001 Feb;109(2):101-3.
- Selevan SG, Rice DC, Hogan KA, Euling SY, Pfahles-Hutchens A, Bethel J. Blood lead concentration and delayed puberty in girls 1. *N Engl J Med* 2003 Apr 17;348(16):1527-36.
- Sharpe RM, Irvine DS. How strong is the evidence of a link between environmental chemicals and adverse effects on human reproductive health? *BMJ* 2004 Feb 21;328(7437):447-51.
- Sharpe RM, Skakkebaek NE. Are oestrogens involved in falling sperm counts and disorders of the male reproductive tract? *Lancet* 1993 May 29;341(8857):1392-5.
- Siewit CL, Gengler B, Vegas E, Puckett R, Louie MC. Cadmium promotes breast cancer cell proliferation by potentiating the interaction between ERalpha and c-Jun. *Mol Endocrinol* 2010 May;24(5):981-92.
- Toxicology Program's Report of the Endocrine Disruptors Low-Dose Peer Review. *Environmental Health Perspectives* 2002; 110 (4): 427-431.
- Vom Saal FS, Hughes C: an extensive new literature concerning low-dose effects of bisphenol A shows the need for an new risk assessment. *Environmental Health Perspectives* 2005; 113 (8): 926-933.
- Vom Saal FS, Welshons WV. Large effects from small exposures. II. The importance of positive controls in low-dose research on Bisphenol A. *Environmental Research* 2006; 100: 50-76.
- Welshons WV, Nagel SC, vom Saal FS: Large effects from small exposures. II. Endocrine mechanisms mediating effects of bisphenol A at levels of human exposure. *Endocrinology* 2006; 147 (6): 56-69.

Whelan EA, Grajewski B, Wild DK, Schnorr TM, Alderfer R. Evaluation of reproductive function among men occupationally exposed to a stilbene derivative: II. Perceived libido and potency. *Am J Ind Med* 1996 Jan;29(1):59-65.

Yu X, Filardo EJ, Shaikh ZA. The membrane estrogen receptor GPR30 mediates cadmium-induced proliferation of breast cancer cells. *Toxicol Appl Pharmacol* 2010 Feb 11.

PT - JOURNAL ARTICLE

Dit rapport draagt de volledige goedkeuring van het Steunpunt Milieu en Gezondheid.