## Forschungsberichtsblatt

## Förderkennzeichen PAÖ Ö-98004

"Entwicklung und Validierung von in vitro Prüfsystemen zum Nachweis von endokrin wirksamen Fremdstoffen: Chemisch-analytische Überprüfung und biologischer Nachweis von potentiell endokrin wirksamen Stoffen in Kläranlagenausläufen bzw. Vorflutern."

Endokrin aktive Substanzen werden für viele Phänomene, z.B. den Rückgang von Fischpopulationen, verantwortlich gemacht. Meist jedoch ist ein kausaler Zusammenhang nur schwer herzustellen, da sich die Untersuchungen auf analytische Messungen oder aber nur wenige ausgewählte *in vitro* Tests beschränken. Dieses Projekt hatte deshalb zum Ziel, ein umfassendes Bild zur Belastungssituation für die Organismen zweier Flüsse durch die Verknüpfung von analytischen Messungen mit einer Batterie von verschiedenen *in vitro* Tests zu schaffen.

Ausgewählt wurden zwei Zuflüsse des Bodensees, die Seefelder Aach sowie die Schussen. Neben saisonalen Stichproben in beiden Flüssen wurde eine Wochenganglinie der Schussen erstellt. Hierbei ergab sich für die Seefelder Aach nur eine sehr geringe Belastung mit endokrin aktiven Stoffen. In der Schussen konnten einige Pharmaka sowie endokrin aktive Substanzen, allen voran Östrogene, in z.T. beträchtlicher Konzentration mittels GC-MS nachgewiesen werden. Dieser chemisch-analytische Nachweis war gut korrelierbar mit dem biologischen Nachweis, wie die *in vitro* Tests ergaben. Hier traten jedoch teilweise Probleme auf, die durch die komplexe Matrix der untersuchten Flusswasserextrakte hervorgerufen wurden. Zukünftig sollte also spezielles Augenmerk auf die Probenaufarbeitung gelegt werden. Einige vielversprechende Ansätze wurden in diesem Projekt bereits aufgezeigt.

Neben der Untersuchung der Flusswasserproben wurde in den *in vitro* Tests die Wirkung von Standardsubstanzen auf mehreren Ebenen, z.B. der Rezeptorbindungs-, Transkriptions- oder Translationsebene, untersucht. Hierbei zeigte sich folgende östrogene Potenz: 17b-Östradiol – 17a-Ethinylöstradiol > Östron > Östriol – Genistein > Bisphenol A > Nonylphenol > Diclofenac. Keine östrogene Potenz zeigten b-Sitosterol sowie die Pharmaka Clofibrat, Carbamazepin, Bezafibrat und Naproxen. Die *in vitro* Tests erwiesen sich damit also trotz der aufgezeigten Einschränkungen als tauglich, um sowohl die Wirkungsweise der Standardsubstanzen als auch die Östrogenität biologischer Proben messen zu können.

Dennoch aber sollten in Zukunft verstärkt auch *in vivo* Tests durchgeführt werden, um die Relevanz vieler Daten, die in *in vitro* Tests erzielt wurden, für das Freiland aufzuzeigen und dadurch ein 'risk assessment' möglich zu machen. Im konkreten Fall bedeutet dies, dass es zwar wünschenswert wäre, die Schussen aufgrund der chronischen Belastung mit Östrogenen weiterhin unter Beobachtung zu stellen, dass jedoch der Forschungsschwerpunkt auf Expositions- und Freilandversuche gesetzt werden müsste, um eine endgültige Bewertung aller eingesetzten Untersuchungsmethoden ermöglichen zu können.