Aus der Arbeitsgruppe Endokrinologie
(Prof. Dr. med. W. Wuttke)
der Medizinischen Fakultät der Universität Göttingen

Wirkungen endokriner Disruptoren auf Prostata und Samenblase der Sprague-Dawley-Ratte

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizinischen Fakultät der Georg-August-Universität zu Göttingen

vorgelegt von

Vitali Litvinov

aus Karaganda (Kasachstan)

Göttingen 2011

Dekan: Prof. Dr. med. C. Frömmel

1. Berichterstatter: Prof. Dr. med. W. Wuttke
2. Berichterstatter: Priv. Doz. Dr. rer. nat. P. Thelen
3. Berichterstatter/-in:

Tag der mündlichen Prüfung: 02.04.2012

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis **5**

1. Einleitung **6**
1.1 Allgemeines über endokrine Disruptoren 6
1.2 Allgemeines über Steroidhormonrezeptoren und Sexualsteroide 9
1.2.1 Östradiol und Östrogenrezeptoren 9
1.2.2 Testosteron und Androgenrezeptor 10
1.3 Die untersuchten Substanzen 11
1.3.1 Linuron (Lin) 11
1.3.2 Procymidon (Pro) 11
1.3.3 Benzophenon 2 (BP2) 12
1.3.4 4-Methylbenzylidencampher (4-MBC) 12
1.3.5 Octylmethoxycinnamat (OMC) 13
1.3.6 Genistein (Gen) 13
1.3.7 8-Prenylnaringenin (8-PN) 14
1.3.8 Resveratrol (Res) 15
1.4 Die untersuchten Organe 16
1.5 Die Rolle der Androgene und der Östrogene bei hyperplastischen und malignen Veränderungen der Prostata 16
1.6 Phytoöstrogene und Chemoprävention des Prostatakarzinoms 18
1.7 Ziele 21

2. Material und Methoden **22**
2.1 Tierversuche 22
2.1.1 In-vivo-Versuche 22
2.1.2 Orchidektomie 22
2.1.3 Identifikationssystem 23
2.1.4 Versuchsablauf 23
2.2 Histologische Aufarbeitung von Prostata und Samenblase 24
2.3 Auswertung der histologischen Präparate 26
2.4 Statistik 26

3. Ergebnisse **27**
3.1 Körpergewichte der Tiere am Ende der Untersuchung: 27
3.2. Prostata 27
3.2.1. Gewicht der Prostatae 28
3.2.1.1 Gewicht der Prostatae intakter sf- vs orx sf- Ratten 28
3.2.1.2 Gewichte der Prostatae orchidektomierter Ratten nach ED-Exposition 28
3.2.1.3 Gewicht der Prostatae intakter Ratten nach ED-Exposition 29

3.2.2 Epitheldicke der Prostatae 30
3.2.2.1 Epitheldicke der Prostatae intakter sf- vs orx sf-Ratten 30
3.2.2.2 Epitheldicke der Prostatae orchidektomierter Ratten nach ED-Exposition 33
3.2.2.3 Epitheldicke der Prostatae intakter Ratten nach ED-Exposition 37
3.3 Samenblase 40
3.3.1. Gewichte der Samenblasen 40
3.3.1.1 Gewichte der Samenblasen intakter sf- vs orx sf- Ratten 40
3.3.1.2 Gewichte der Samenblasen orchidektomierter Ratten nach ED-Exposition 41
3.3.1.3 Gewichte der Samenblasen intakter Ratten nach ED-Exposition 41
3.3.2 Epitheldicke der Samenblasen 42
3.3.2.1 Epitheldicke der Samenblasen intakter sf- vs orx sf-Ratten 42
3.3.2.2 Epitheldicke der Samenblasen orchidektomierter Ratten nach ED-Exposition 45
3.3.2.3 Epitheldicke der Samenblasen intakter Ratten nach ED-Exposition 47

4. Diskussion 50
4.1 Körpergewichte der Tiere am Ende der Untersuchung 50
4.2 Veränderungen der Organgewichte 50
4.2.1 Prostata 50
4.2.2 Samenblase 52
4.3 Veränderungen am Epithel 53
4.3.1 Prostata 53
4.3.2 Samenblase 57

5. Zusammenfassung 59

6. Literaturverzeichnis 62

Abkürzungsverzeichnis

AR	Androgenrezeptor(en)
BPH	benigne Prostatahyperplasie
cAMP	zyklisches Adenosinmonophosphat
COX-2	Cyclooxygenase-2
DDT	Dichlordiphenyltrichlorethan
DES	Diethylstilbestrol
E2	17β-Estradiol
ED	endokrine Disruptoren
ER	Östrogenrezeptor(en)
Gen	Genistein
GnRH	Gonadotropin Releasing Hormone
HDL	High-Density-Lipoprotein
HE	Hämatoxylin-Eosin
LDL	Low-Density-Lipoprotein
LH	luteinisierendes Hormon
Lin	Linuron
4-MBC	4-Methylbenzylidencampher
MCF-7	Michigan Cancer Foundation
OMC	Octylmethoxycinnamat
orx	Orchidektomie, orchidektomiert
PIN	prostatische intraepitheliale Neoplasie
8-PN	8-Prenylnaringenin
Pro	Procymidon
Res	Resveratrol
sf	sojafrei
SHBG	Sexualhormon bindendes Globulin
T	Testosteron
T3	Trijodthyronin
T4	Thyroxin
TSH	Thyreotropin stimulierendes Hormon

1. Einleitung

1.1 Allgemeines über endokrine Disruptoren

Als endokrine Disruptoren werden Substanzen bezeichnet, die mit dem endokrinen System des Menschen oder der Tiere interferieren können.

Das endokrine System spielt eine essentielle Rolle in der Regulation aller metabolischen, reproduktiven, nutritiven und Verhaltensprozesse des Menschen, so dass Eingriffe in dieses System zu Störungen mit schwerwiegenden Folgen für die Gesundheit des Organismus führen können (http://www.who.int 2002). Menschen und andere Lebewesen sind einer ganzen Reihe von endokrinen Disruptoren entweder durch direkte Exposition oder über die Nahrungskette ausgesetzt.

Dazu gehört eine Vielzahl von chemischen Klassen, einschließlich natürlicher und synthetischer Hormone, Inhaltsstoffe bestimmter Pflanzen, Pestizide (DDT, Endosulfan, Toxaphen, Nitrophen, Mancozeb), Stoffe, die in der Plastikindustrie Verwendung finden (Phthalate, Bisphenol A), Lichtschutzmittel, Kosmetika, einiger Schwermetalle wie z. B. Blei, Quecksilber oder Kadmium, sowie vieler gewöhnlicher Konsumprodukte (Alkylphenole). Diese potentiell hormonell aktiven Umweltchemikalien weisen eine enorme Strukturdiversität und unterschiedliche endokrine Potenz auf. Sie können in Blut oder Urin praktisch eines jeden Menschen oder Tieres nachgewiesen werden.

Es sind verschiedene Mechanismen bekannt, wie endokrine Disruptoren das endokrine System eines Lebewesens modulieren und potentiell schädliche Effekte auslösen können. Dabei kann es sich nicht nur um direkte rezeptorvermittelte hormonelle Wirkungen (agonistische oder antagonistische) durch Bindung an entsprechende Hormonrezeptoren handeln. Auch können endokrine Disruptoren durch Hemmung der Synthese von Hormonen oder deren Rezeptoren, Störung der Sekretion oder des Transports, Veränderungen im Hormonmetabolismus (Brevini et al. 2005), oder durch Hemmung von Enzymen, wie z. B. 5α-Reduktase (Evans et al. 1995) oder Aromatase (Adlercreutz et al. 1993) ihre Wirkung entfalten.

Das allgemein gültige Konzept der rezeptorvermittelten Antwort beschreibt die Bindung eines Hormons an einen Rezeptor an der Zelloberfläche, im Zytoplasma oder im Zellkern mit anschließender Kaskade komplexer Ereignisse, die letztlich zur Veränderung der für bestimmte Hormone charakteristischen Genexpression führen.

Innerhalb der endokrinen Disruptoren unterscheidet man zwischen Substanzen mit hauptsächlich antiandrogenen Wirkungen (dazu gehören vor allem Pestizide und Lichtschutzmittel) und solchen mit östrogenähnlichen Eigenschaften (hierzu zählen vor allem Phytoöstrogene und Plasticizer), so dass in erster Linie ihre Wirkungen in Geweben des weiblichen und männlichen Reproduktionstraktes auffallen. Da aber Sexualsteroidrezeptoren, an die die endokrinen Disruptoren binden, in nahezu allen Körperzellen vorkommen, sind auch Effekte in anderen Geweben des Organismus möglich. Daneben existieren auch weitere Verbindungen mit Wirkungen auf das Endokrinium, wie z. B. Dioxine oder Phthalate (Svechnikov et al. 2005).

Die Wirkungen der endokrinen Disruptoren können sehr vielfältig sein, jedoch sind deren Wirkungen am Urogenitaltrakt von besonderer Bedeutung. Dieses Organsystem ist in besonderem Maße auf physiologische hormonelle Regulation angewiesen und in seiner Entwicklung besonders sensibel gegenüber möglichen Störungen im Hormonhaushalt. Aufgrund ihrer Hormonabhängigkeit weisen Gewebe und Organe des Reproduktionstraktes auch über die Prä- und Perinatalperiode hinaus, bis ins hohe Erwachsenenalter hinein, eine erhöhte Vulnerabilität in Hinsicht auf Eingriffe in ihre hormonelle Regulation auf (Brevini et al. 2005).
Der Einsatz der Pestizide in der Landwirtschaft ist weit verbreitet, so dass der Mensch über die Nahrungskette exponiert ist. Auch führt die Verwendung von Stoffen mit endokrinem Potential in der Herstellung von Plastikprodukten zur permanenten Exposition. Viele Kosmetika enthalten Substanzen, die zu endokrinen Disruptoren gerechnet werden können, so dass hier systemische Wirkungen durch dermale Resorption möglich sind.

In den letzten Jahrzehnten beobachtet man bei männlichen Neugeborenen eine steigende Inzidenz der genitalen Malformationen wie Hypospadie, Maldescensus testis, hypoplastische Hoden, unterentwickelte Samenbläschen und Vasa deferentia, Verkürzung der anogenitalen Distanz und andere Störungen (Sultan et al. 2001, Swan et al. 2005). Diese Tatsache führte zu der Annahme, dass pränatale Exposition gegenüber endokrinen Disruptoren hierbei eine Rolle spielt. Es ist zu vermuten, dass endokrine Disruptoren mit ihren antiandrogenen und östrogenen Wirkungen zu Störungen in der Entwicklung und Differenzierung der männlichen Sexualorgane führen.

Auch sind Wirkungen einiger endokrinen Disruptoren auf die Samenblase erwachsener Männer beschrieben worden. Dabei konnten nicht nur Gewichtsveränderungen des Organs beobachtet werden (Kang et al. 2004), sondern auch eine ganze Reihe anderer Veränderungen, darunter generelle Atrophie, Abnahme der exokrinen Sekretion, epitheliale Dysplasien, Störungen der Histoarchitektur, sowie leukozytäre Infiltration (Hendry et al. 2006).

Auch bei Frauen wird eine steigende Inzidenz genitaler Fehlbildungen und funktioneller Störungen beobachtet. Die Anzahl der Neuerkrankungen wie Prostata- und Mammakarzinom nimmt ebenfalls zu (Maffini et al. 2006).

Die Ergebnisse dieser Untersuchungen zeigen, dass die Möglichkeit der Entstehung funktioneller Störungen oder neoplastischer Veränderungen bei langfristiger Exposition mit endokrin aktiven Substanzen gegeben ist.

Phytoöstrogene sind Substanzen pflanzlichen Ursprungs mit östrogener Potenz. Sie können in vier Gruppen subklassifiziert werden: Isoflavonoide, Flavonoide, Stilbene und Lignane. Sie sind ubiquitär vorhanden, in ihrer Struktur sehr heterogen und erfahren einen komplexen Metabolismus.

Östrogenähnliche Eigenschaften bestimmter Pflanzen wurden bereits vor mehr als 50 Jahren erkannt. So hat man in den 1940iger Jahren in Australien ein Infertilitätssyndrom bei Schafen beobachtet, und eine Korrelation zwischen dem Syndrom und dem Konsum von Klee, der reich an Isoflavonen Genistein, Daidzein, Formononetin und Biochanin ist, festgestellt (Bennets et al. 1946, Adams 1995).
Viel später führten die Ergebnisse zahlreicher epidemiologischer und experimenteller Studien zu der Annahme, dass der Konsum phytoöstrogenreicher Nahrung protektive Wirkung auf einige östrogenassoziierte Zustände und Erkrankungen hat, wie z. B. Menopause (Baird und Umbach 1995), Prostata- (Denis et al. 1999) und Mammakarzinom (Lee et al. 1991), Osteoporose (Potter et al. 1998) oder kardio-vaskuläre Erkrankungen (Bakhit et al. 1994).
Inzwischen finden einige Phytoöstrogene bereits Anwendung in der Prophylaxe und Behandlung postmenopausaler Beschwerden als Alternative zur klassischen Hormonersatztherapie mit ihren zum Teil schweren Nebenwirkungen Die Ergebnisse

verschiedener Studien zum Einsatz von Phytoöstrogenen in der Postmenopause sind nicht einheitlich, und zur Zeit Gegenstand intensiver Diskussionen (Wuttke et al. 2003, 2006, Raus et al. 2006).

1.2 Allgemeines über Steroidhormonrezeptoren und Sexualsteroide

Als Ausgangsverbindung für die Synthese von Steroidhormonen dient das Cholesterol. Physiologische Effekte sämtlicher Steroidhormone werden über spezifische intrazelluläre Rezeptoren und anschließende Änderung der Transkription spezifischer Gene vermittelt (Knobil und Neill 1988).

Zur Superfamilie der nukleären Hormonrezeptoren gehören beide Typen der Östrogenrezeptoren, der Androgenrezeptor, der Progesteronrezeptor, der Mineralokortikoidrezeptor, der Glukokortikoidrezeptor, der Vitamin-D-Rezeptor, der Retinolsäurerezeptor und Schilddrüsenhormonrezeptoren.

In der inaktiven Form liegen diese Rezeptoren gebunden an die Hitzeschockproteine (Hsp 90) vor. Nach Bindung des Hormons an den jeweiligen Rezeptor, dissoziieren die Hitzeschockproteine ab und der Rezeptor dimerisiert (Neckers und Ivy 2003). Nach der Dimerisierung erfolgt der Transport des nun aktivierten und als Transkriptionsfaktor fungierenden Rezeptors in den Zellkern, wo es schließlich zur Bindung des Rezeptors an spezifische Basensequenzen der DNA und zur Änderung des Genexpressionsmusters kommt.

1.2.1 Östradiol und Östrogenrezeptoren

Östradiol ist das stärkste natürliche Östrogen. Daneben gehören Östron und Östriol zu den wichtigsten Östrogenen.

Östrogene beeinflussen Funktion, Wachstum und Differenzierung von vielen Geweben. Transkription vieler Gene wird durch Östrogen entweder verstärkt oder inhibiert (Dobrzycka et al. 2003).

Auch werden Apoptoseinhibition, Stimulation der Tumorinvasion und der Metastasierung, sowie Förderung der Angiogenese durch östrogenregulierte Gene vermittelt (Kent Osborne und Schiff 2005).

Zu den Zielgeweben der Östrogene gehören Gewebe des weiblichen und männlichen Reproduktionstraktes: Mamma, Uterus, Vagina, Ovar (hier proliferative Wirkungen), Testes, Nebenhoden, Prostata (Korach et al. 1994). Daneben sind

zahlreiche extragenitale Wirkungen der Östrogene bekannt (Harris et al. 2002, Deroo und Korach 2006, Erlandsson et al. 2001, McEwen und Alves 1999).
Auch in der Physiologie des Mannes spielen Östrogene eine wichtige Rolle. Östrogene im Körper des Mannes sind in erster Linie Produkte der peripheren Aromatisierung testikulärer und adrenaler Androgene. Während der Plasmaspiegel der Androgene mit dem Alter kontinuierlich absinkt, bleibt der totale Östrogenspiegel nahezu konstant oder erhöht sich, was zur Abnahme des so genannten Östrogen-Androgen-Quotienten führt (Kaufman und Vermeulen 1997, Vermeulen et al. 1996, 2002, Ellem und Risbridger 2010).
Dies wird unter anderem auf die Zunahme der Fettmasse (als Hauptort der peripheren Aromatisierung), Zunahme der Aromatase-Aktivität und Erhöhung des SHBG-Spiegels und dadurch Abnahme der freien, nicht-SHBG-gebundenen Androgene zurückgeführt (Gooren und Toorians 2003).

Es existieren 2 Typen der Östrogen-Rezeptoren: der ER-α , von dem man früher annahm, dass er alleine die Wirkung der Östrogene vermittelt, und der einige Zeit später, zunächst bei Ratten (Kuiper et al. 1996), und dann bei Menschen (Mosselmann et al. 1996) identifizierte ER-β. ER-α und ER-β sind Produkte verschiedener Gene (Green et al. 1986) und haben eine ähnliche, jedoch nicht identische Struktur (Kuiper et al. 1996). Über den ER-β ist weniger bekannt als über den ER-α. Der ER-β wird in vielen Geweben exprimiert und vermittelt dort zahlreiche östrogene Wirkungen. Wahrscheinlich besitzt er eine dem ER-α entgegen gerichtete und eher antiproliferative Funktion (Gustafsson 1999, McInerney et al. 1998).

1.2.2 Testosteron und Androgenrezeptor

Die Biosynthese der Androgene mit ihrem wichtigsten Vertreter Testosteron findet hauptsächlich in den Leydig-Zellen der Testes sowie zum Teil in der Nebennierenrinde und bei Frauen im Ovar statt.
Analog zu allen anderen Steroidhormonen dient auch hier das Cholesterol als Ausgangsverbindung.
Die biologische Rolle der Androgene liegt im Wesentlichen in der Entwicklung, Differenzierung und Funktion des männlichen Reproduktionssystems mit äußeren Geschlechtsorganen, sowie Prostata, Samenleiter und Samenblase, und zwar (im Gegensatz zu den Östrogenen) bereits in der Embryonalperiode (Knobil und Neill

1988). Auch unterliegen die Entwicklung und Aufrechterhaltung des männlichen Sexualverhaltens den Effekten der Androgene (Walsh et al. 1992).
Daneben sind zahlreiche Wirkungen von Androgenen auf Entwicklung und Funktion vieler anderer Organsysteme, wie z. B. Haut, kardio-vaskuläres System, Knochenstoffwechsel (Orwoll 2001) und zentrales Nervensystem (Patchev et al. 2004) bekannt.
Die biologische Aktivität der Androgene wird durch den Androgenrezeptor (AR) vermittelt. Dieser wird in allen Geweben, mit Ausnahme der Milz, exprimiert (Takeda et al. 1990).
Wie bereits erwähnt, werden mit dem steigenden Alter des Mannes durch das Enzym Aromatase aus Testosteron zunehmend Östrogene gebildet, was zur Veränderung des Östrogen-Androgen-Quotienten führt und wahrscheinlich bei der Entstehung sowohl benigner als auch maligner Prostataprozesse von Bedeutung ist (Ellem und Risbridger 2010).

1.3 Die untersuchten Substanzen

1.3.1 Linuron (Lin)

Linuron ist ein Herbizid mit Affinität zum Androgenrezeptor auf (Lambright et al. 2000) und einer relativ schwachen antiandrogenen Wirkung (Cook et al. 1993). Bei pränataler Exposition mit Linuron kommt es zu Störungen in der Differenzierung und Fehlbidungen der männlichen Geschlechtsorgane, wie z. B. Hypoplasie der Hoden oder Agenesie der Nebenhoden (McIntyre et al. 2000, 2002). Außerdem induziert Linuron die Entwicklung von Leydig-Zell-Adenomen bei Ratten (Cook et al. 1993). Zu den weiteren, extragenitalen Wirkungen von Linuron gehören eine Senkung der T3- und T4-Spiegel, sowie eine Erhöhung der Konzentration der Lipide (Seidlova-Wuttke et al. 2005). Linuron findet als Herbizid breite Anwendung in der Landwirtschaft, so dass große Menge dieser Substanz über die Produkte der Landwirtschaft in die menschliche Nahrungskette gelangen.

1.3.2 Procymidon (Pro)

Procymidon gehört zu Fungiziden und weist relativ starke antiandrogene Wirkungen auf (Nellemann et al. 2003). Procymidon bindet an Androgenrezeptor und inhibiert die androgenabhängige Genexpression (Ostby et al. 1999). Über die Nahrungskette

gelangt die Substanz in den menschlichen Organismus. Verschiedene Obst- und Gemüsearten enthalten große Mengen an Procymidon. Bei pränataler Exposition verhindert Procymidon die regelrechte Differenzierung des männlichen Reproduktionsgewebes und führt zu diversen Anomalien, wie z. B. Hypospadie oder Maldescensus testis (Ostby et al. 1999). Analog dem Linuron zeigt Procymidon auch extragenitale Wirkungen, wie T3- und T4-Suppression und Erhöhung des Lipidspiegels (Seidlova-Wuttke et al. 2005).

1.3.3 Benzophenon 2 (BP2)

Benzophenon 2 und seine Ausgangsverbindung Benzophenon sind UV-Licht-Filtersubstanzen. Sie weisen starke östrogene Wirkung auf, weshalb ihre Verwendung als Bestandteile der Sonnenschutzmittel in Deutschland nicht mehr zulässig ist. Allerdings findet Benzophenon 2 weiterhin Verwendung als Stabilisator in verschiedenen Produkten der kosmetischen Industrie. Benzophenone 2 zeigt starke östrogenagonistische Wirkungen: es führt zur Gewichtszunahme des Uterus, östrogenen Effekten an Vagina und anti-osteoporotischen Effekten am Knochen von Ratten (Seidlova-Wuttke et al. 2004). Weitere östrogenähnliche Wirkungen von Benzophenon 2 äußern sich in der Suppression von LH und Lipoproteinen LDL und HDL, zusätzlich besteht noch eine T4-suppressive Wirkung (Seidlova-Wuttke et al. 2005).

Die schnelle transkutane Resorption von Benzophenon 2 (Okereke et al. 1994) lässt systemische Wirkungen dieser Verbindung nicht ausschließen.

1.3.4 4-Methylbenzylidencampher (4-MBC)

Zu weiteren Substanzen, die als UV-Licht-Absorber breite Anwendung finden, gehört 4-MBC. Die starke Lipophilie dieser Verbindung macht deren Bioakkumulation und somit erhebliche umwelttoxikologische Bedeutung sehr wahrscheinlich. Nagtegaal et al (1997) berichteten über den Nachweis von mehreren Chemikalien, darunter auch 4-MBC, in Fischen aus einem deutschen See.

Es liegen Nachweise der östrogenen Potenz von 4-MBC vor: es wirkt stimulierend auf die Proliferation der MCF-7-Zellen, führt zu einer Zunahme des vom Östrogen regulierten Proteins pS2, sowie zu einer Gewichtszunahme des Uterus bei Ratten (Schlumpf et al. 2001). Dabei besitzt das 4-MBC eine höhere Affinität zum ER-β als zum ER- α (Schlumpf et al. 2004).

1.3.5 Octylmethoxycinnamat (OMC)

OMC ist ebenfalls eine UV-Licht-Filtersubstanz. Es besitzt dem 4-MBC ähnliche Eigenschaften: ist stark lipophil und wirkt östrogen. In der gleichen Studie wie im Fall von 4-MBC (Schlumpf et al. 2001) konnte die östrogene Aktivität von OMC nachgewiesen werden. Es führte zur Zunahme des Uterusgewichtes bei Ratten und förderte die Proliferation der MCF-7-Zellen. Ebenfalls konnte eine Zunahme des pS2-Proteins, welches vom Östrogen reguliert wird, beobachtet werden.

Da OMC in Muttermilch nachgewiesen werden konnte (Hany und Nagel 1995), ist dessen Bioakkumulation ebenso wahrscheinlich wie dies bei 4-MBC der Fall ist. Aufgrund der steigenden Inzidenz der UV-Licht-assoziierten Hauterkrankungen und der damit verbundenen Nachfrage nach UV-Licht-Schutzmitteln sind langfristige Folgen der endokrinen Wirkungen dieser Substanzen in großen Bevölkerungsgruppen nicht auszuschließen.

1.3.6 Genistein (Gen)

Genistein gehört zu der am meisten verbreiteten Gruppe der Phytoöstrogene - den Isoflavonoiden (Lee et al. 1991). Wie die meisten Isoflavonoide besitzt Genistein eine höherer Affinität zum ER-β als zum ER-α (Kuiper et al. 1997, Kuiper et al. 1998, Morito et al. 2001, Morito et al. 2002, Schmitt et al. 2001).

Epidemiologische Untersuchungen lieferten Hinweise auf kanzeroprotektive Eigenschaften von Genistein bei hormonabhängigen Krebserkrankungen (Adlercreutz et al. 2000, Lee MM et al. 2003).

Es gibt Hinweise auf sowohl proliferationshemmende als auch proliferationsfördernde Wirkungen von Genistein in weiblichen wie in männlichen Reproduktionsgeweben.

In einigen Untersuchungen zeigte Genistein antiproliferative Wirkungen (Naik et al. 1994, Lamartiniere et al. 1995, Barnes 1995, Santibanez et al. 1997, Hilakivi-Clarke et al. 1999).

Auf der anderen Seite wird über die Wachstumsstimulation der Mammakarzinomzellen in vivo und in vitro berichtet (Hsieh et al. 1998, de Lemos 2001), sowie über proliferative und karzinogene Effekte am Uterus (Newbold et al. 2001) und im Tierexperiment an der Prostata (Chau et al. 2007). Bei diesen unterschiedlichen Effekten von Genistein scheinen die Dosierung und das Expositionsalter einen Einfluss zu haben (Bouker und Hilakivi-Clarke 2000, de Lemos 2001).

Bei ovarektomierten Ratten hatte eine 3-monatige Genisteinzufuhr eine Zunahme des Uterusgewichtes, sowie hyperplastische Veränderungen des vaginalen Epithels zu Folge. Zusätzlich konnten gesteigerte Proliferation und Expression des Progesteronrezeptors in der Mamma festgestellt werden (Rimoldi et al. 2007).
Ferner konnten bei ovariektomierten Ratten Hinweise auf antiosteoporotische Wirkungen von Genistein beobachtet werden (Hertrampf et al. 2007, Sehmisch et al. 2008).
Außerdem ist Genistein wahrscheinlich in der Lage, sowohl in humorale als auch in zelluläre immunologische Prozesse einzugreifen (Cooke et al. 2006).

Besonders isoflavonoidreich sind Sojabohnen. Es zeigen sich allerdings große Unterschiede zwischen verschiedenen Soja-Formen in Bezug auf den Isovlavonoidgehalt. Dieses ist unter anderem von der Produktionstechnologie abhängig, so enthält z. B. das Soja-Öl keine Isoflavonoide, und Soja-Sauce wenig bis keine (Fukutake et al. 1996).
Genistein liegt in Pflanzen in inaktiver Form als Glycosid Genistin vor. Nach Konsum wird dieses durch Enzyme der normalen Darmflora zum korrespondierenden Aglycon Genistein umgewandelt (Hur und Rafii 2000). Als Aglycone können die Isoflavonoide mit höherer Effizienz als Glycoside von den Enterozyten durch nicht-ionische Diffusion im Jejunum aufgenommen werden (Andlauer et al. 2000 a, Andlauer et al. 2000 c). Aufnahme als Glycoside ist nicht möglich, was auch einige Studien sowohl mit menschlichen Enteroepithelien als auch mit denen von Ratten beweisen, sondern eine Hydrolyse ist notwendig (Setchell et al. 2002). Anschließend wird Genistein hepatisch glukuronidiert und sulfatiert und renal ausgeschieden (Lampe et al. 1994).

1.3.7 8-Prenylnaringenin (8-PN)

8-Prenylnaringenin ist ein Vertreter der Flavonoide und ein sehr potentes Phytoöstrogen (Milligan et al. 1999, Milligan et al. 2000).
Diese Substanz ist, neben einigen anderen Verbindungen aus dieser Klasse, unter anderem im Hopfen und Bier identifiziert worden (Wang und Murphy 1994). Aus diesem Grund wird 8-Prenylnaringenin auch Hopein genannt.
Die Wirkungen von 8-Prenylnaringenin werden überwiegend über den ER-α vermittelt. Im Tierexperiment zeigte sich, dass 8-Prenylnaringenin in der Lage ist, LH und FSH anhaltend zu supprimieren, und den Prolaktinspiegel zu erhöhen

(Christoffel et al. 2006). Außerdem konnten positive Effekte auf den Lipidmetabolismus sowie antiosteoporotische Wirkungen im Sinne einer Erhöhung der Knochendichte bei Ratten beobachtet werden (Christoffel 2004).
Zusätzlich zeigte sich in Versuchen mit ovarektomierten Ratten, dass längere (3 Monate) 8-Prenylnaringenin-Exposition zu einer Zunahme des Uterusgewichtes und hyperplastischen Veränderungen des vaginalen Epithels führt. An der Mamma konnten vermehrte Proliferation und Sekretion sowie eine Expression des Progesteron-Rezeptors beobachtet werden (Rimoldi et al. 2006)
Ferner gibt es Hinweise auf positive Wirkungen von 8-Prenylnaringenin bei dessen Einsatz zur Therapie der postmenopausalen Beschwerden bei Frauen: es wird berichtet, dass Einnahme von 8-Prenylnaringenin zur Reduktion der Hitzewallungen führt (Heyerick et al. 2006). Auch im Tierexperiment führte die Exposition gegenüber 8-Prenylnaringenin zur Senkung der Hauttemperatur bei ovarektomierten Ratten (Bowe et al. 2006).
Auch ein Einsatz von 8-Prenylnaringenin als mögliches Therapeutikum beim Prostatakarzinom erscheint interessant, gibt es doch zumindest in der Zellkultur Hinweise auf eine antikanzerogene Wirkung dieser Substanz (Delmulle et al. 2008).

1.3.8 Resveratrol (Res)

Resveratrol, ein Phytoöstrogen aus der Gruppe der Stilbene, kommt natürlicherweise in der Weintraubenhaut, Erdnüssen und Ananas vor, ist aber im Vergleich mit Flavonoiden insgesamt weniger in der Pflanzenwelt verbreitet (Cos et al. 2003). Es konnte gezeigt werden, dass Resveratrol mit vergleichbarer Affinität sowohl an ER-α als auch an ER-β bindet, jedoch mit viel geringerer Affinität als E2 (Bowers et al. 2000). Zahlreiche Wirkungen von Resveratrol konnten sowohl in vitro als auch im Tierexperiment nachgewiesen werden, z. B. chemo- und kardioprotektive Wirkungen (Jang et al. 1997, Jang und Pezzuto 1999, Hsieh und Wu 1999, Ray et al. 1999). Es liegen Berichte über diverse andere Wirkungen von Resveratrol vor. Dazu zählen Anti-Herpes-Virus-Aktivität (Doherty et al. 2004), COX-2-inhibitorische Wirkung (Zykova et al. 2008), Induktion der Autophagozytose in Zellen des Ovarialkarzinoms (Opipari et al. 2004), sowie neuroprotektive Wirkungen (Han et al. 2004).

1.4 Die untersuchten Organe

Die in der vorliegenden Arbeit untersuchten Organe Prostata und Samenblase, sind hormonabhängige Gewebe. Androgene haben den entscheidenden Einfluss auf die Proliferation und Differenzierung des Prostatagewebes und Funktion der Prostata (Cunha et al. 1987, Davies und Eaton 1991). Dabei stellt der Androgen-Rezeptor einen essentiellen Mediator für Androgenwirkungen in diesem Organ dar. Jedoch scheinen einige Aspekte der neonatalen Prostataentwicklung androgenunabhängig zu sein. So zeigten z. B. die Untersuchungen von Cunha, dass die Prostataentwicklung bei kastrierten Ratten nicht komplett ausbleibt (Cunha et al. 1987). Die vollständige Entwicklung der Prostata ist erst nach der Pubertät abgeschlossen.

Trotz vieler Unklarheiten ist es mittlerweile unumstritten, dass auch Östrogene eine wichtige Rolle in der Entwicklung und in der Pathologie der Prostata spielen (Thomas und Keenan 1994), und dass dabei synergistische Effekte von Androgenen und Östrogenen von Bedeutung sind (Suzuki et al. 1994, 1995).

Die Östrogenrezeptoren beider Typen werden sowohl in der Prostata als auch in der Samenblase exprimiert. Dabei ist die Rezeptorverteilung im Epithel- und Stromakompartiment beider Organe unterschiedlich.

So lassen sich in der gesunden Prostata eines Mannes ER-α im Stroma nachweisen, während ER-β im Epithel exprimiert werden (Royuela et al. 2001, Leav et al. 2001). In der Samenblase werden ER-β in epithelialen und in Stromazellen exprimiert, die Expression der ER-α ist schwach (Pelletier et al. 2000).

Bei der Ratte konnte ER-α im Epithel der Samenblase nachgewiesen werden (Pelletier et al. 2000). Der ER-β wird in Epithelien der Prostata und der Samenblase exprimiert, wobei sich in der Samenblase allerdings nur eine schwache Expression zeigte (Pelletier et al. 2000, Yamashita 2004).

1.5 Die Rolle der Androgene und der Östrogene bei hyperplastischen und malignen Veränderungen der Prostata

Mit ca. 567 000 Neuerkrankungen im Jahr 2007 ist das Prostatakarzinom die häufigste maligne Neoplasie des Mannes in den Industrieländern und mit ca. 783 000 Neuerkrankungen die zweithäufigste weltweit (http://www.cancer.org 2007).

In der Bundesrepublik Deutschland erkranken jährlich über 60.000 Männer am Prostatakarzinom, welches somit 26 % aller Krebsarten beim Mann ausmacht (Robert-Koch-Institut und Gesellschaft der epidemiologischen Krebsregister in Deutschland e. V. 2010).
Pathomorphologisch geht das Prostatakarzinom von den Stammzellen der Basalzellschicht peripherer Drüsenanteile aus und entsteht oft multizentrisch. Als frühestes Stadium in der Karzinogenese des Prostatakarzinoms gilt die prostatische intraepitheliale Neoplasie (PIN) (Riede et al. 2004).

Das Prostatakarzinom ist eine hormonabhängige Erkrankung. Es gibt zahlreiche Hinweise auf die Beteiligung der Androgene bei der Entwicklung und Progression des Prostatakarzinoms (Ross et al. 1986, Trapman und Brinkmann 1996, Feldmann und Feldmann 2001). Obwohl die Rolle der Androgene bei der Entwicklung der Erkrankung noch nicht vollständig geklärt ist, zeigt sich eine starke Korrelation zwischen dem Plasma-Androgenspiegel und dem Risiko der Karzinomentstehung (Gann et al. 1996).
Östrogene sind ebenfalls am Prostatawachstum und wahrscheinlich auch an der Pathogenese des Prostatakarzinoms beteiligt (Härkönen und Mäkelä 2004).
Es gibt Hinweise auf direkte Östrogenwirkungen auf Epithelzellen der Prostata.
So führte z. B. die neonatale Exposition gegenüber DES, einem Xenoöstrogen, zu dysplastischen Prostataveränderungen bei Mäusen (Pylkkänen et al. 1996).
Das Prostatagewebe kastrierter oder hypophysektomierter Hunde wies hyperplastische Veränderungen nach Östrogenexposition auf (Leav et al. 1978). Bei kastrierten Ratten konnte ein stimulierender Effekt des Östradiols auf die Zellproliferation des Prostataepithels beobachtet werden (Pelletier 2002).
Auch bei hypogonadalen Mäusen führte längere Östrogenexposition zu proliferativen Veränderungen der Epithel- und der Stromazellen, jedoch nicht zur Malignität (Bianco et al. 2002). In Aromatase-Knockout-Mäusen, also bei fehlendem Östrogeneinfluss, kommt es zur Vergrößerung der Prostata und zur Entwicklung einer benignen Prostatahyperplasie, allerdings auch in diesem Fall ohne Hinweis auf Malignität (McPherson et al. 2001).
Eine Stimulation des fetalen Prostatagewebes mit physiologischen Dosen von Östradiol führte bei Mäusen nicht nur zu einem Anstieg der ER-, sondern auch der AR-Expression. Dies hatte eine Vergrößerung der Prostata und einen vermehrten

AR-Besatz (verbunden mit einer erhöhten Sensibilität gegenüber androgenen Einflüssen) bis in die adulte Phase hinein zur Folge (Richter et al. 2007). Dies untermauert die Hypothese, dass es direkte Wirkungen der Östrogene auf das Prostatagewebe gibt. Schließlich konnten Östrogenrezeptoren im Prostatakarzinomgewebe identifiziert werden (Brolin et al. 1992, Konishi et al. 1993).
Auch die benigne Prostatahyperplasie (BPH), eines der häufigsten Leiden des alternden Mannes überhaupt, ist eine androgenabhängige Erkrankung, wobei die Rolle der Androgene noch nicht vollständig geklärt ist. Im Gegensatz zum Prostatakarzinom handelt es sich bei der BPH histologisch um eine stromale und weniger um eine epitheliale Erkrankung. Dabei scheinen Östrogene eine Rolle bei der Entstehung der Hyperplasie zu spielen. Es konnte gezeigt werden, dass im Alter die Östradiol- und Östron-Konzentrationen im Stroma, aber nicht im Epithel steigen (Krieg et al. 1993). Die daraus abgeleitete Vermutung, die Hemmung der biologischen Östradiol-Effekte hätte einen kurativen Effekt auf die BPH, konnte jedoch nicht bestätigt werden. Die Senkung der Östrogenspiegel mit Aromatase-Hemmern zeigte keinen positiven Effekt auf die klinisch manifeste BPH (Radlmaier et al. 1996). Eine andere Hypothese besagt, dass das SHBG, das im Alter vermehrt vorliegt, cAMP-Synthese in der Prostata induziert, welches wachstumsfördernd wirkt (Farnsworth 1996).

1.6 Phytoöstrogene und Chemoprävention des Prostatakarzinoms

Die weltweite Inzidenz des Prostatakarzinoms zeigt erhebliche geographische Unterschiede. Die höchste Anzahl an Neuerkrankungen registriert man in den USA, in Kanada, in Skandinavien und in Australien. Die niedrigste Inzidenz beobachtet man in China und anderen Teilen Asiens (http://www.cancer.org 2007).
Ebenfalls regional unterschiedlich ist die Mortalität des Prostatakarzinoms. Diese ist in Skandinavien und im Karibik-Raum am höchsten. China, Japan und Länder der ehemaligen Sowjetunion weisen die weltweit niedrigste Mortalität auf (Crawford 2003).
Die auffälligen geographischen Unterschiede bezüglich der Häufigkeit, sowie Mortalität des Prostatakarzinoms lassen die Annahme zu, dass bestimmte Umwelteinflüsse, vor allem Ernährungsfaktoren, zur Risikoreduktion bzw. -erhöhung beitragen, sowie den Progress der Erkrankung modulieren.

In der Tat wird die niedrigste Inzidenz in den Regionen mit einem hohen Konsum an Soja-Produkten registriert (Holzbeierlein et al. 2005).
Analog dem Prostatakarzinom kommt auch die benigne Prostatahyperplasie am seltensten dort vor, wo sojareiche Lebensmittel zur täglichen Nahrung gehören (Ranjan et al. 2006).
In einer der Studien zur Beziehung zwischen Karzinomrisiko und Ernährungsgewohnheiten konnten Muir und Mitarbeiter im Jahr 1991 zeigen, dass die Inzidenz des Prostatakarzinoms in Japan viel geringer ist als in den USA (Muir et al. 1991). Emigrierten nun Japaner in die USA und änderten somit zum Teil ihre Ernährung, dann erhöhte sich deren Risiko, an einem Prostatakarzinom zu erkranken, auf das Niveau der amerikanischen Männer (Shimizu et al. 1991).
Eine ähnliche Beobachtung konnte auch bei in Australien lebenden Chinesen gemacht werden. Diese weisen höhere SHBG- und dadurch niedrigere Testosteron-Plasmaspiegel auf als Chinesen in China (Jin et al. 1999). Auch Griffiths et al. wiesen 1998 nach, dass asiatische Männer im Vergleich zu westeuropäischen und nordamerikanischen Männern erhöhte SHBG- und niedrigere Testosteron-Plasma-Spiegel und eine niedrigere Inzidenz des Prostatakarzinoms aufweisen.
Diese Tatsachen lassen vermuten, dass diätetische Faktoren die Entstehung und die Progression der Erkrankung beeinflussen können.

Angesichts der vorliegenden Daten wird zurzeit viel über die Möglichkeiten der Chemoprävention des Prostatakarzinoms durch eine sojareiche Diät diskutiert (Hammerer et al. 2000). Dabei sind die Phytoöstrogene, die in Sojaprodukten reichlich enthalten sind und somit zur alltäglichen Nahrung der asiatischen Bevölkerung gehören, von besonderem Interesse und stehen im Verdacht, die kanzeroprotektiven Effekte der Soja zu vermitteln.
So beträgt z. B. die Aufnahme von Isoflavonen, einer Subklasse der Phytoöstrogene, in Asien ~ 50 µg/d/Person und lediglich ~ 2-3 µg/d/Person in den USA (Thrasher 1999, Barnes et al. 1995).

Wie die Wirkung der Phytoöstrogene vermittelt wird, ist noch nicht ganz klar. Zum einen haben Phytoöstrogene Einfluss auf den Androgen-Metabolismus. Als schwache Östrogene führen sie zur vermehrten SHBG-Bildung in der Leber, was zu

einer vermehrten Bindung und damit zu einer Senkung des freien Testosterons führt (Griffiths et al. 1998).
Der zweite mögliche Wirkmechanismus der Phytoöstrogene, der zu einer Abnahme der Androgenkonzentration führen kann, ist aus den Effekten der Östrogenbehandlung beim Prostatakarzinom abzuleiten. Die Hemmung der GnRH-Freisetzung durch den negativen feed-back-Mechanismus führt zur Abnahme der LH- und damit auch der Androgensekretion (Tomic und Bergmann 1987). Außerdem sind Phytoöstrogene in der Lage, Schlüsselenzyme der Androgenbiosynthese, wie 5α-Reduktase zu hemmen (Evans et al. 1995). Die Hemmung der 5α-Reduktase (z. B. beim Einsatz von Finasterid) senkt das Risiko der Entstehung einer high-grade-PIN und somit das Risiko eines invasiven Karzinoms (Thompson et al. 2007).

Dies sind mögliche Mechanismen, die den protektiven Effekt bezüglich der Entstehung und Progression des Prostatakarzinoms erklären. Die Wirkung der Phytoöstrogene wird möglicherweise über den in der Prostata vorhandenen ER-β vermittelt.

Aufgrund dieser Erkenntnisse und im Zuge des zunehmenden Interesses der Bevölkerung an alternativmedizinischen Präventions- und Therapiemöglichkeiten, geraten Phytoöstrogene gegenwärtig immer mehr in den Fokus der allgemeinen Aufmerksamkeit. Sie werden als Nahrungsergänzungsmittel vermarktet und in hohen Maßen auch konsumiert.

Trotz der auffälligen Beziehung zwischen dem Konsum der Phytoöstrogene und Epidemiologie des Prostatakarzinoms ist die Datenlage insgesamt jedoch noch unsicher (Ganry 2005, Holzbeierlein et al., 2005).

Zwar existieren für einige Substanzen, die zu den Phytoöstrogenen gehören, experimentell begründete Hinweise auf deren vor allem kanzero- und kardioprotektive Effekte. Über einige der Substanzen liegen aber auch zum Teil widersprüchliche Berichte vor, so dass die Datenlage insgesamt noch unsicher ist (Bouker und Hilakivi-Clarke 2000). Auch liegen noch keine Erfahrungswerte vor, die eine Aussage bezüglich der langfristigen, möglicherweise negativen Wirkungen dieser Substanzen erlauben.

Neben der Erforschung der präventions- und therapierelevanten Wirkungen wird auch über die möglichen negativen Nebeneffekte der Phytoöstrogenexposition berichtet (Abe 1999).
Bevor eine generelle Empfehlung zur Verwendung der Phytoöstrogene ausgesprochen werden kann, bedarf es weiterer langfristiger Studien. Insbesondere vor dem Hintergrund der endokrinen Potenz dieser Substanzen müssen mögliche Spätnebenwirkungen der Chemoprävention geklärt werden.

1.7 Ziele

Das Ziel der vorliegenden Arbeit ist es, die Wirkungen verschiedener Substanzen mit bekannten endokrinen Eigenschaften auf Prostata und Samenblase der Ratte zu überprüfen. Die beiden Organe stellen hormonabhängige Gewebe dar und exprimieren sowohl Androgen- als auch Östrogenrezeptoren, so dass die verwendeten Verbindungen mit ihrer antiandrogenen bzw. östrogenen Wirkung zu morphologischen Veränderungen in diesen Geweben führen können. Dabei stellen die orchidektomierten Tiere durch Androgenverlust ein Modell des andropausalen/hypogonadalen Mannes dar. Vor dem Hintergrund der Hormonabhängigkeit des Prostatakarzinoms und der endokrinen Potenz der Substanzen ist zu vermuten, dass endokrine Disruptoren die Erkrankung modulieren können. Daher sollen mögliche Gefahren der Exposition gegenüber endokrinen Disruptoren, aber auch potenzielle Präventions- und Behandlungsmöglichkeiten der hormonabhängigen pathologischen Veränderungen der Prostata und der Samenblase erfasst werden.

2. Material und Methoden

2.1 Tierversuche

2.1.1 In-vivo-Versuche

Eine Genehmigung durch die Bezirksregierung Braunschweig (AZ 509.42502/01-36.03) lag für den Versuch vor. Im Tierversuch wurden 163 männliche Sprague-Dawley-Ratten eingesetzt. Es handelte sich dabei um selbst gezogene Tiere (Züchter: Winkelmann, Borchen). Die Ratten waren ca. 3 Monate alt, das initiale Körpergewicht der Tiere lag bei 305 – 470 g. Für die Ermittlung des Gewichtes wurde eine basic lite BL3 – Waage (Firma Sartorius, Göttingen) eingesetzt.

Vor dem Versuch wurden jeweils 6 Tiere pro Käfig (Makrolonkäfige Typ IV, Firma Tecniplast Deutschland GmbH, Hohenpreißenberg) gehalten. Sojafreies Pellet-Futter, sowie Trinkwasser im Überfluss stellten die Nahrungsgrundlage dar. Die Aufrechterhaltung des Tagesrhythmus erfolgte durch einen 12-h-dark-light-Zyklus mit Licht von 6-18 Uhr. Die Raumtemperatur betrug durchschnittlich 23°C, die Luftfeuchtigkeit lag bei 55 %.

2.1.2 Orchidektomie

Zunächst erfolgte die Zuordnung der Tiere zu ihren Gruppen und zwar gewichts-randomisiert. Anschließend wurden 107 Ratten orchidektomiert. Dabei wurden die Tiere in eine 10 -15 Minuten andauernde intraperitoneale Narkose versetzt. Dazu wurden bei jedem Tier intraperitoneale Injektionen von 45 mg/kg KG (11 mg) Ketamin (Hostaket®, Firma Hoechst, Bad Soden) und 10 mg/kg KG (2,5 mg) Xylocain (Rompun®, Firma Bayer, Leverkusen) vorgenommen.

Nach Aufsuchen der Hoden wurde die Skrotalhaut medial inzisiert und das Peritoneum durchtrennt. Nach Ligatur mit Vicryl-Fäden und Entfernung des Ductus epididymidis mitsamt Begleitgefäßen auf beiden Seiten erfolgte der Verschluss der Skrotalhaut (ebenfalls mit Vicryl-Fäden). Als Dehydratationsprophylaxe diente die subcutane Gabe von 5 ml 0,9%-NaCl-Lösung (Firma Braun, Melsungen).

Anschließend Ausleitung der Narkose mit Antisedan® (Antipamezolhydrochlorid, Firma Pfizer).

2.1.3 Identifikationssystem

Zur späteren Identifikation der Ratten erfolgte in Inhalationsnarkose die subkutane Implantation eines Transponder-UNO Micro-ID-System, ISO-Transponder (12 mm) (Firma Uno-Roesvastaal BV, Zevenaar, Holland).

2.1.4 Versuchsablauf

Es wurden 14 Tiergruppen mit jeweils 10 -12 Tieren gebildet, wobei orchidektomierte Ratten (n=107) in 9 und nicht orchidektomierte (intakte) Ratten (n=56) in 5 Gruppen repräsentiert waren. In den darauf folgenden 3 Monaten wurden die Tiere mit sojafreiem testsubstanzhaltigem und soja- und testsubstanzfreiem Kontrollfutter (Firma ssniff Spezialdiäten GmbH, Soest) behandelt. In den einzelnen Gruppen erfolgte die Zugabe von folgenden Testsubstanzen:

- Estradiolbenzoat (E2): 0,0043 g/kg Futter
- Testosteron (T): 2,986 g/kg Futter
- Benzophenon 2 (BP2): 2,5 g/kg Futter
- Octylmethoxycinnamat (OMC): 12,5 g/kg Futter
- Methylbenzylidencampher (4-MBC): 2,5 g/kg Futter
- Procymidon (Pro): 1,25 g/kg Futter
- Linuron (Lin): 0,25 g/kg Futter
- Genistein (Gen): 1 g/kg Futter
- Resveratrol (Res): 0,84 g/kg Futter
- 8-Prenylnaringenin (8-PN): 0,126 g/kg Futter.

Die Menge an gefressenem Futter und getrunkenem Wasser wurde zweimal wöchentlich pro Käfig bestimmt, so dass die mittlere Futter- und Wasseraufnahme pro Tier in drei- bis viertägigen Abständen geschätzt werden konnte. Die mittlere Futteraufnahme pro Tier in den letzten 3 Versuchswochen wurde zur Berechnung der täglichen Aufnahme von Testsubstanzen herangezogen und ist in der Tabelle 1 angegeben.

Tabelle 1

Sojafreie Testsubstanz	Futtermenge (g/Tier/Tag)	Substanzmenge (g/Tier/Tag)
Kontrollfutter, sojafrei (int)	20,64	0
Kontrollfutter, sojafrei (orx)	21,128	0
E 2 (orx)	18,89	0,081
T (orx)	24,78	73,993
BP 2 (orx)	20,57	51,42
OMC (orx)	22,28	278,5
4-MBC (orx)	21,71	54,28
Procymidon (int)	21,55	26,94
Linuron (int)	22,38	5,60
Genistein (int)	21,88	21,88
Genistein (orx)	20,33	20,33
Resveratrol (int)	22,63	19,00
Resveratrol (orx)	21,60	18,14
8-PN (orx)	20,22	2,54

Nach 3 Monaten wurden die Tiere lege artis in CO_2-Narkose getötet und ihre Organe entnommen.

2.2 Histologische Aufarbeitung von Prostata und Samenblase

Nach Entnahme von Prostata und Samenblase wurden diese zunächst in 10%iger Formalinlösung über 24 Stunden konserviert. Anschließend erfolgte die Anfertigung von ca. 1 mm dicken Gewebeschichten, deren Einlage in Einbettkästen und Aufbewahrung im Leitungswasser.

Die weitere Präparation bestand in der Entwässerung der Gewebe durch Ethanollösungen in aufsteigenden Konzentrationen, sowie deren Behandlung mit einer Xylollösung mit Hilfe eines Gewebeeinbettautomaten (TP 1020, Leica, Wetzlar). Die Entwässerung der Organe erfolgte nach dem folgenden Schema (Tabelle 2):

Tabelle 2

Lösung	Einwirkzeit
Ethanol 50%	60 min
Ethanol 75%	80 min
Ethanol 75%	80 min
Ethanol 96%	80 min

Fortsetzung Tabelle 2

Lösung	Einwirkzeit
Ethanol 96%	80 min
Ethanol 100%	80 min
Ethanol 100%	80 min
Ethanol 100%	80 min
Xylol	80 min
Xylol	80 min
Paraffin	60 min
Paraffin	60 min

Danach wurden die Präparate unter Verwendung einer Paraffinausgießstation (EG 1160, Leica, Wetzlar) in Paraffinblöcke gegossen. Vor der eigentlichen Anfertigung der Schnittpräparate wurden die Paraffinblöcke bei -20° C eingefroren. Das Schneiden der Blöcke in 2-3 µm dicke Gewebeschnitte erfolgte an einem Mikrotom (RM 2135, Leica, Wetzlar). Danach wurden die Gewebeschnitte auf einen Objektträger aufgebracht und mit Hämatoxylin-Eosin (Merck) gefärbt. Die Färbung der Gewebeschnitte erfolgte nach dem folgenden Schema (Tabelle 3):

Tabelle 3

Substanz	Einwirkzeit
Xylen	5 min
Xylen	5 min
Xylen	5 min
Ethanol 100%	2 min
Ethanol 100%	2 min
Ethanol 100%	2 min
Ethanol 96%	2 min
Ethanol 96%	2 min
Ethanol 75%	2 min
Aqua dest	2 min
Hämatoxylin	30 sek
Leitungswasser	5–10 min
Eosin	20 sek
Aqua bidest	5–10 sek
Ethanol 75%	5 sek
Ethanol 96%	1 min

Fortsetzung Tabelle 3

Substanz	Einwirkzeit
Ethanol 96%	1 min
Ethanol 100%	2 min
Ethanol 100%	2 min
Ethanol 100%	2 min
Xylen	5 min
Xylen	5 min
Xylen	5 min

2.3 Auswertung der histologischen Präparate

Die histologische Auswertung der Präparate erfolgte an einem Zeiss Axiophot-Mikroskop, das über eine Digital-Fotokamera (Color View 12, SIS) an ein Rechnersystem angeschlossen war (Analysis, Olympus, Germany). Jedes Präparat wurde in vier imaginäre Quadranten geteilt, und von jedem Quadrant eines Präparates fotografische Aufnahmen erstellt, und zwar in der Vergrößerung 20x bei den Prostata-Präparaten und 40x bei den Präparaten der Samenblase.

Unter Verwendung des Bildbearbeitungsprogramms AnalySIS der Firma IS erfolgte nun die Messung der Epitheldicke der Prostata und der Samenblase. Dazu wurden in jedem Präparat innerhalb eines jeden Quadranten 10 repräsentative Stellen des jeweiligen Gewebes ausgesucht und dort die Messungen vorgenommen, so dass pro Präparat insgesamt 40 Messwerte zustande kamen. Anschließend erfolgte die Ermittlung des arithmetischen Mittelwertes der Epitheldicke in einem Präparat.

2.4 Statistik

Die Werte für die Statistik wurden mit dem Computerprogramm GraphPadPRISM, Version 3.0 (Graph Pad Software) berechnet. Das Signifikanzniveau wurde auf $P<0,05$ festgelegt, und die Signifikanz der Werteabweichung von der Kontrolle mit dem Symbol „* “ (Abweichung von den Kontrolltieren sf, orx), bzw. „ # “ (Abweichung von den Kontrolltieren sf, intakt) über der entsprechenden Säule markiert. Die statistische Auswertung erfolgte durch Anwendung einer Varianzanalyse für wiederholte Messung eines Faktors (ANOVA) und anschließenden multiplen T-Test nach Dunnett.

3. Ergebnisse

3.1 Körpergewichte der Tiere am Ende der Untersuchung:

Die Abbildung 3 zeigt die durchschnittliche Zunahme des Körpergewichtes (Δ Körpergewicht) der Ratten nach Beendigung der Untersuchung (Differenz zwischen Ausgangsgewicht und Gewicht bei der Obduktion).

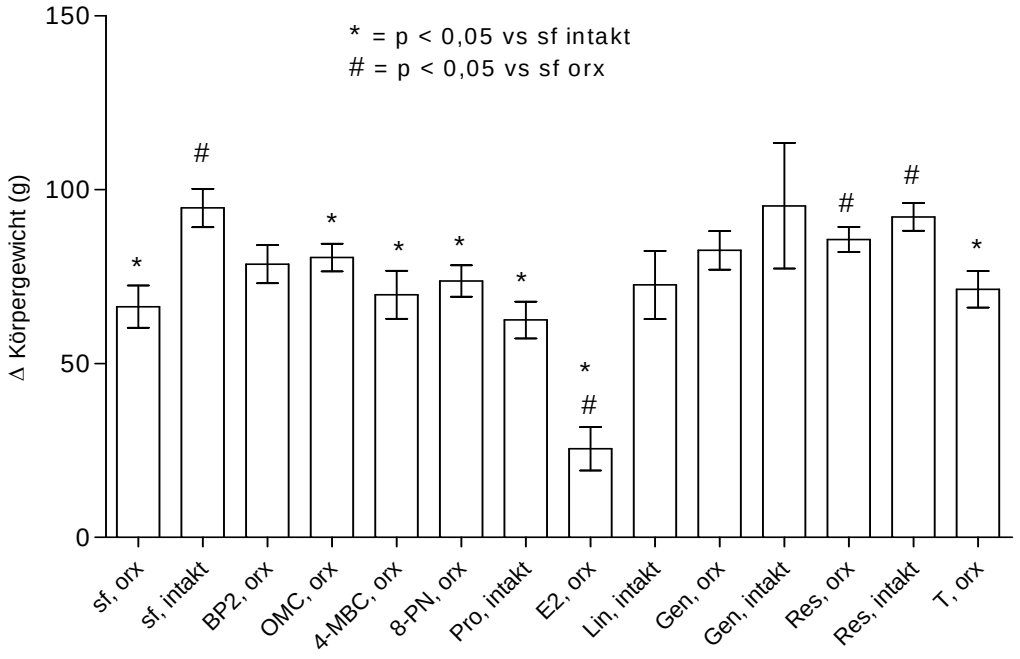

Abb. 1: Durchschnittliche Zunahme des Körpergewichtes (Δ Körpergewicht) der Tiere am Ende des Versuches

Die Graphik demonstriert die Wirkungen der untersuchten Substanzen auf das Gewicht der Tiere am Ende der Untersuchung. Dabei lässt sich feststellen, dass bei allen Tieren eine Gewichtszunahme stattgefunden hat. Das Ausmaß der Gewichtzunahme schwankt zwischen 20-30 g bei E2-exponierten orchidektomierten und >90 g bei genisteinexponierten intakten Ratten.

3.2. Prostata

Zunächst erfolgt die Darstellung der Ergebnisse der Prostatauntersuchungen. Dabei werden als Erstes die Gewichtsveränderungen und anschließend die Daten der

histologischen Auswertung (Epitheldicke) der Prostata nach Exposition gegenüber den oben beschriebenen Substanzen dargestellt.

3.2.1. Gewicht der Prostatae

3.2.1.1 Gewicht der Prostatae intakter sf- vs orx sf- Ratten

Die folgende Darstellung repräsentiert das Gewicht der Prostata von intakten gegenüber den orchidektomierten Tieren und zwar nach sojafreier Ernährung.

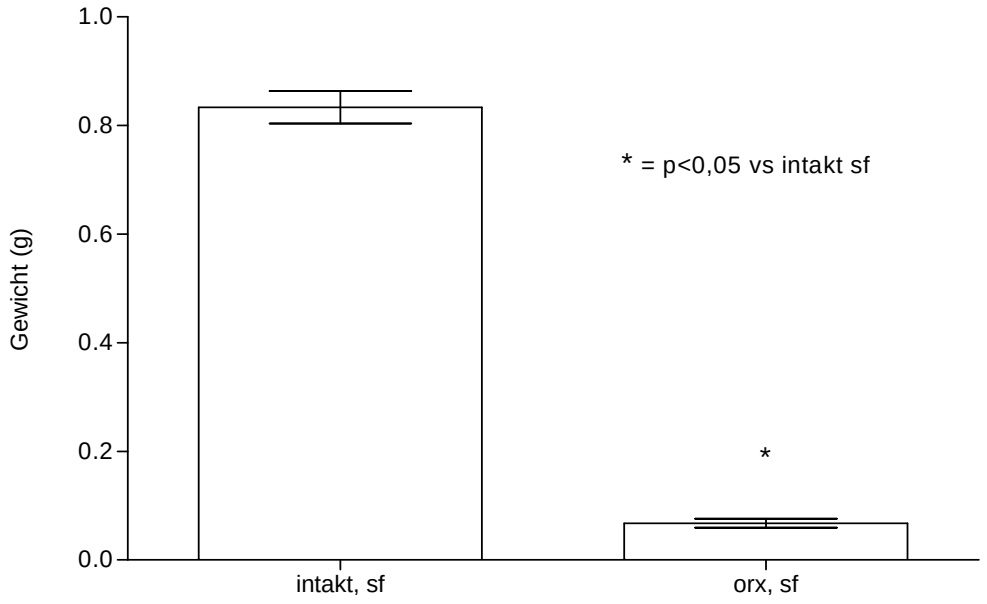

Abb. 2: Prostatagewicht der Ratten intakt sf vs orx sf

Die orchidektomierten Tiere weisen ein signifikant niedrigeres Prostatagewicht auf als die intakten.

3.2.1.2 Gewichte der Prostatae orchidektomierter Ratten nach ED-Exposition

Die Darstellung bezieht sich auf die Prostatagewichte orchidektomierter Ratten nach ED-Stimulation.

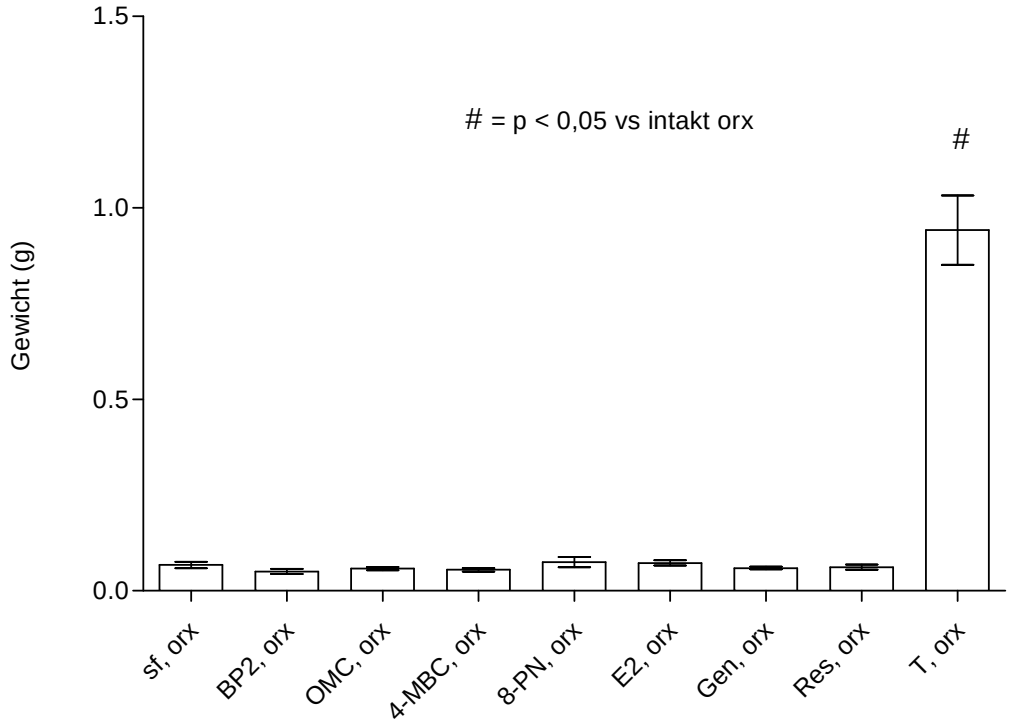

Abb. 3: Prostatagewicht orchidektomierter Ratten nach 3-monatiger ED-Exposition (per Futter)

Es zeigt sich eine hochsignifikante Gewichtserhöhung der Prostatae nach Testosteron-Exposition gegenüber der Kontrollgruppe. Dagegen bestehen bei den restlichen Tieren keine statistisch relevanten Gewichtsunterschiede.

3.2.1.3 Gewicht der Prostatae intakter Ratten nach ED-Exposition

Die Graphik zeigt Ergebnisse der Messung des Prostatagewichts bei intakten Ratten nach Fütterung mit verschiedenen Testsubstanzen.

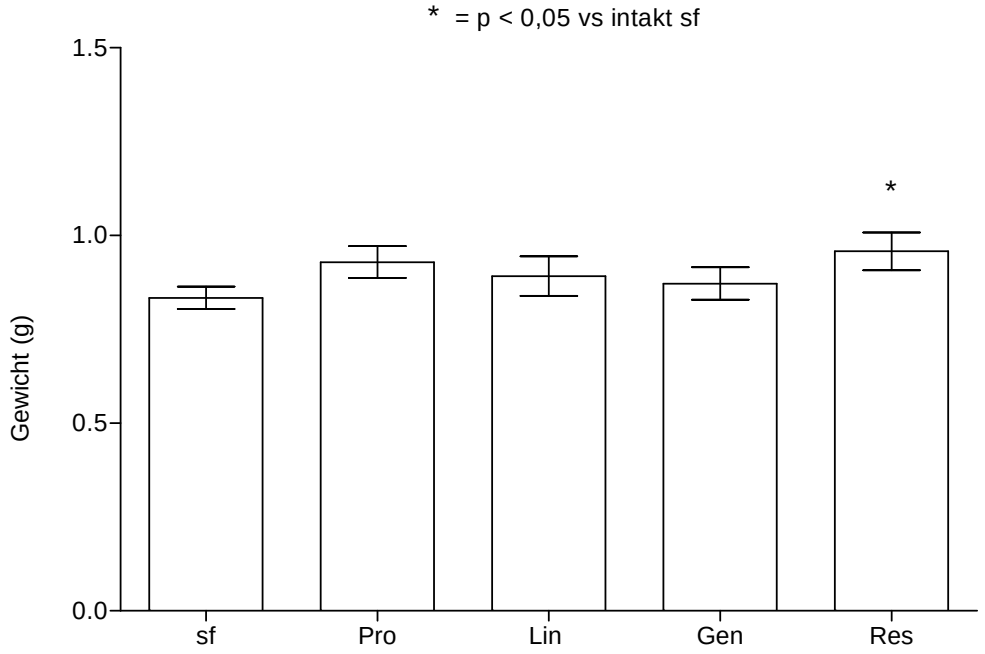

Abb. 4: Prostatagewicht intakter Ratten nach 3-monatiger ED-Exposition (per Futter)

Die Exposition gegenüber Resveratrol führte zu einer signifikanten Zunahme des Prostatagewichts im Vergleich zu Kontrolltieren. In den übrigen Fällen zeigen sich zwar in der Tendenz höhere Werte bei Tieren nach ED-Exposition als bei der sojafrei ernährten Kontrollgruppe, es lassen sich jedoch keine statistisch signifikanten Unterschiede bezüglich des Prostatagewichtes bei unterschiedlicher Exposition feststellen.

3.2.2 Epitheldicke der Prostatae

3.2.2.1 Epitheldicke der Prostatae intakter sf- vs orx sf-Ratten

Die folgende Graphik zeigt zunächst die Veränderungen der Dicke des Prostataepithels bei intakten und orchidektomierten Tieren, die während des Versuchs keine Nahrungsergänzungsmittel erhalten haben.

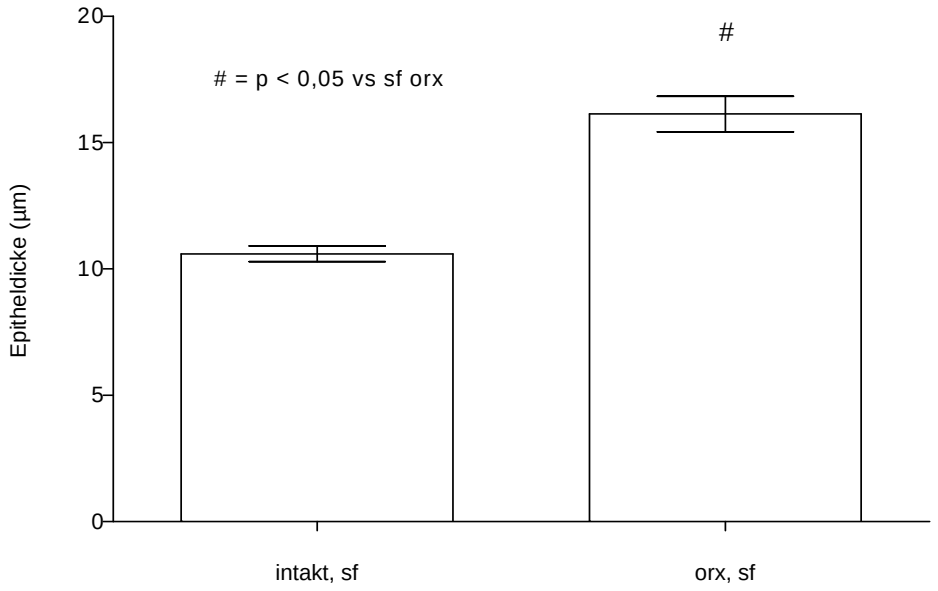

Abb. 5: Epitheldicke der Prostata-Azini der Ratten intakt sf vs orx sf

Es lässt sich eine signifikant größere Epitheldicke in den Prostatae der orchidektomierten gegenüber den intakten Ratten feststellen. Die nachfolgenden Abbildungen zeigen das jeweilige histologische Erscheinungsbild der Prostata einer intakten und einer orchidektomierten Ratte.

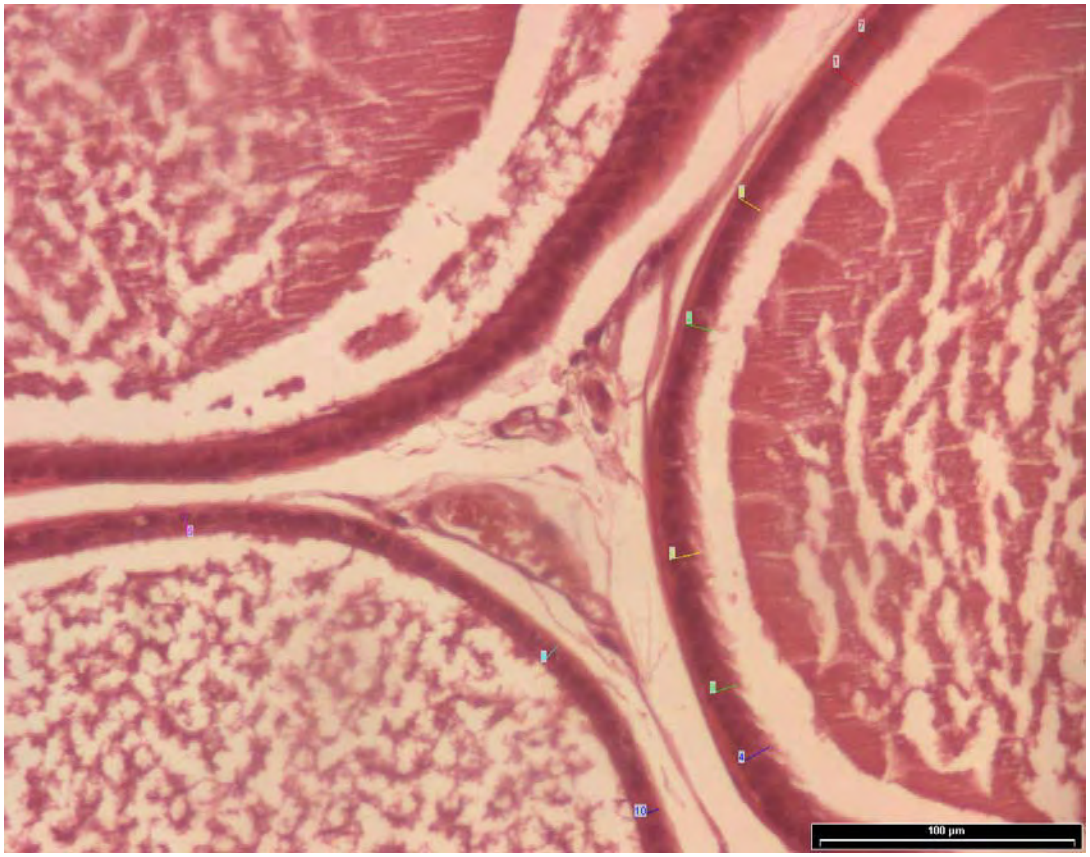

Abb. 6: Prostata einer intakten Ratte (HE-Färbung, Vergrößerung: 20x)

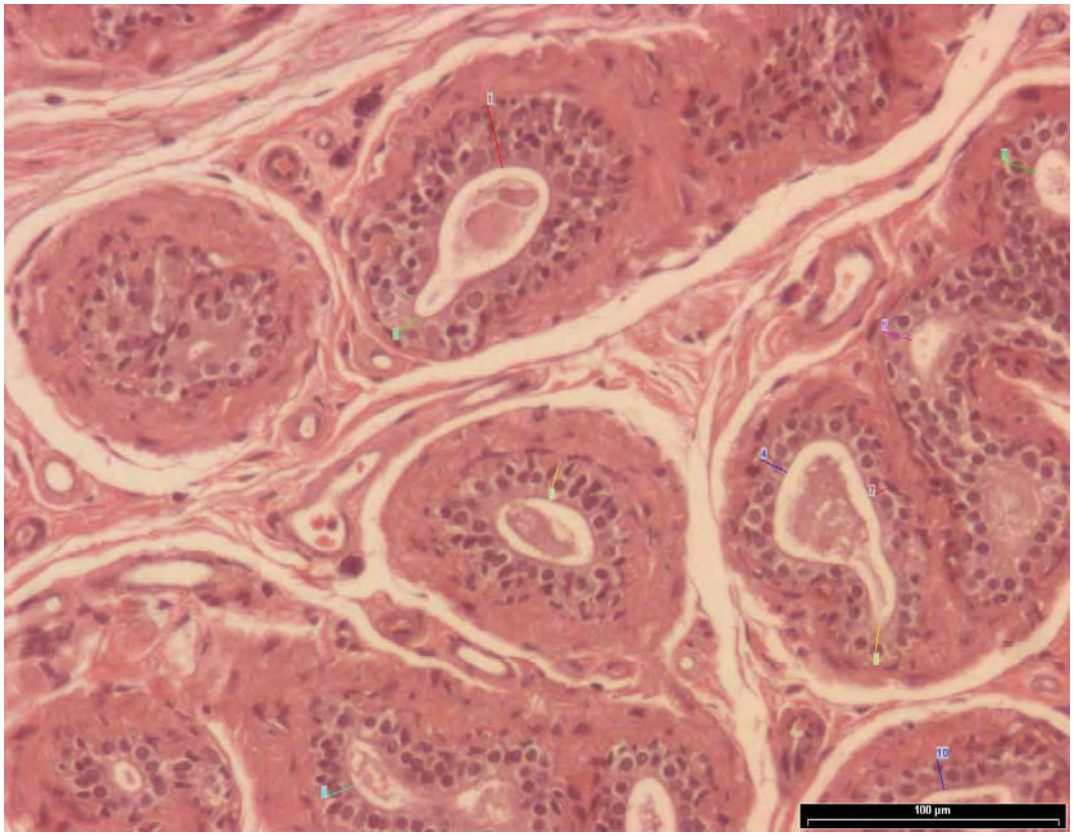

Abb. 7: Prostata einer orchidektomierten Ratte (HE-Färbung, Vergrößerung: 20x)

Auffällig sind die mit einer schmalen Epithelschicht ausgekleideten, sehr weiten und mit viel Sekret gefüllten Azini des intakten Tieres. Dagegen präsentiert die Prostata der orchidektomierten Ratte kleinere, jedoch mit dickerer Schicht mehrreihigen Epithels ausgekleidete Azini.

3.2.2.2 Epitheldicke der Prostatae orchidektomierter Ratten nach ED-Exposition

Die nächste Graphik präsentiert die Veränderungen in der Epithelproliferation bei orchidektomierten Tieren nach ED-Exposition.

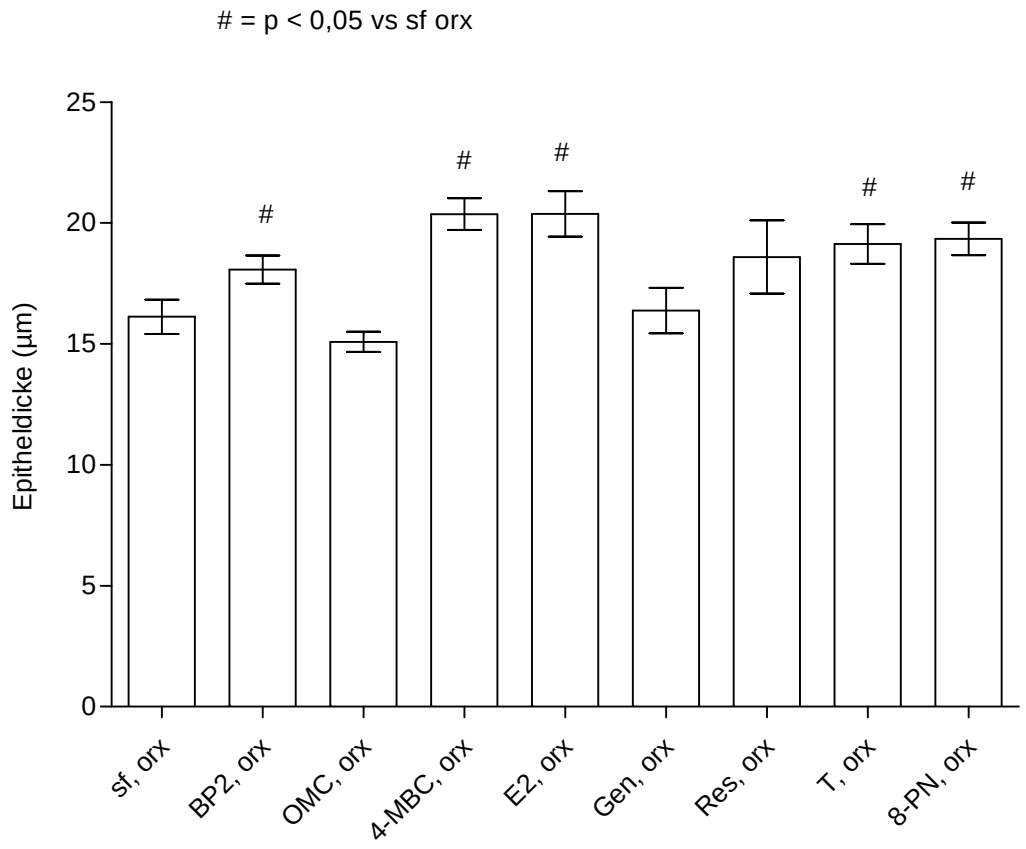

Abb. 8: Epitheldicke der Prostata-Azini orchidektomierter Ratten nach 3-monatiger ED-Exposition (per Futter)

Es lassen sich signifikant höhere Werte bei BP2-, 4-MBC-, E2-, T-, und 8-PN-stimulierten Tieren gegenüber der Kontrollgruppe feststellen. Die Behandlung mit OMC, Genistein und Resveratrol führte zu keinen signifikanten Änderungen der Epitheldicke. Im Folgenden werden histologische Prostatapräparate der jeweiligen Tiere mit signifikanten Veränderungen präsentiert.

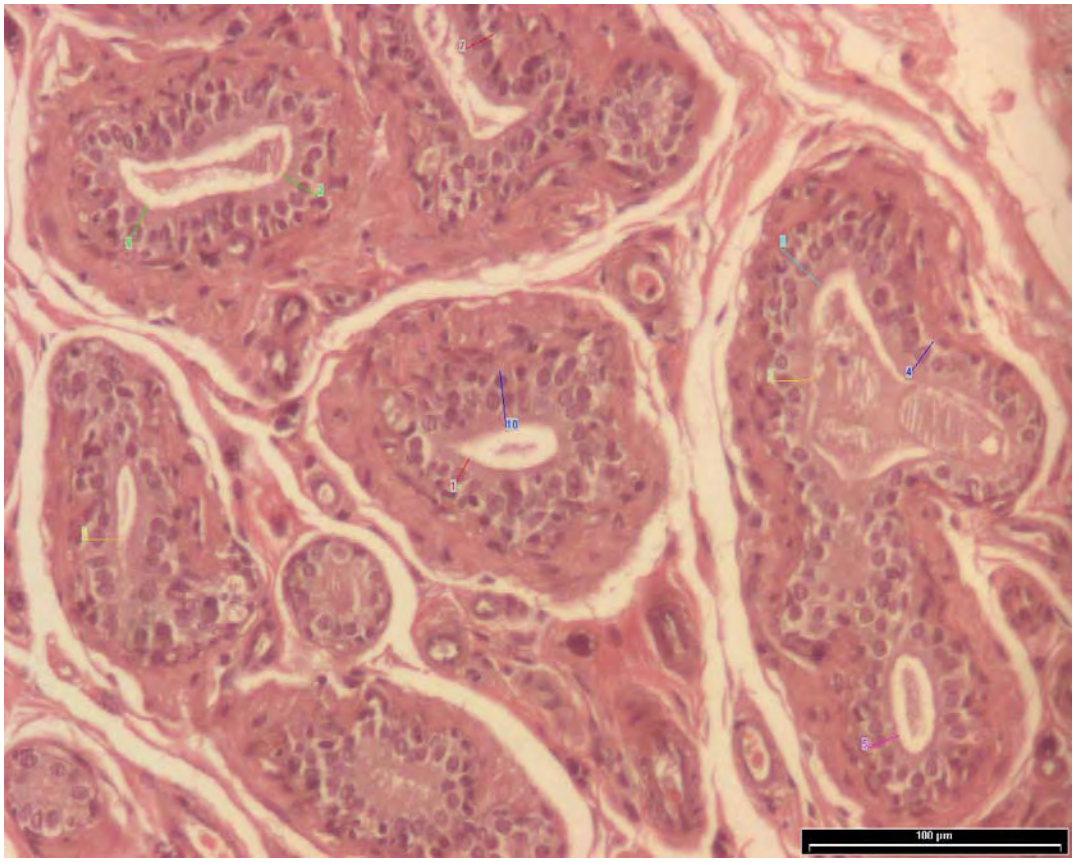

Abb. 9: Prostata einer orchidektomierten Ratte nach 3-monatiger BP2-Exposition (HE-Färbung, Vergrößerung: 20x)

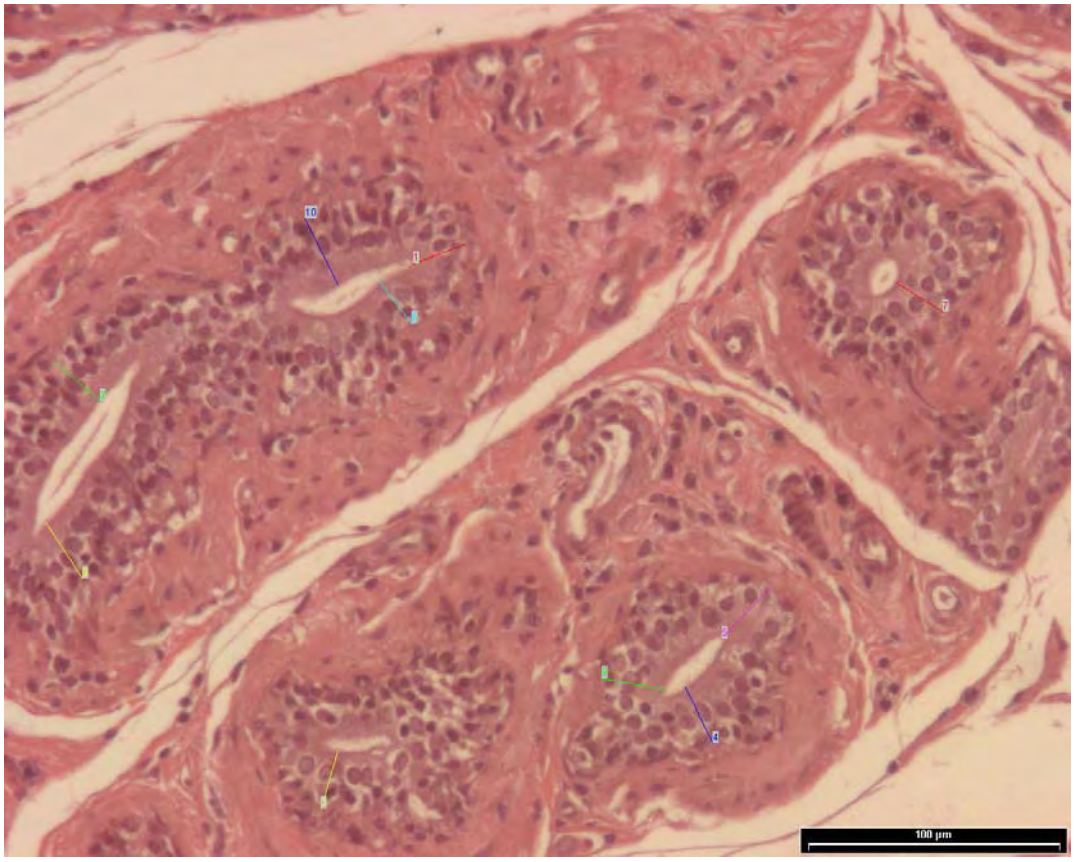

Abb. 10: Prostata einer orchidektomierten Ratte nach 3-monatiger 4-MBC-Exposition (HE-Färbung, Vergrößerung: 20x)

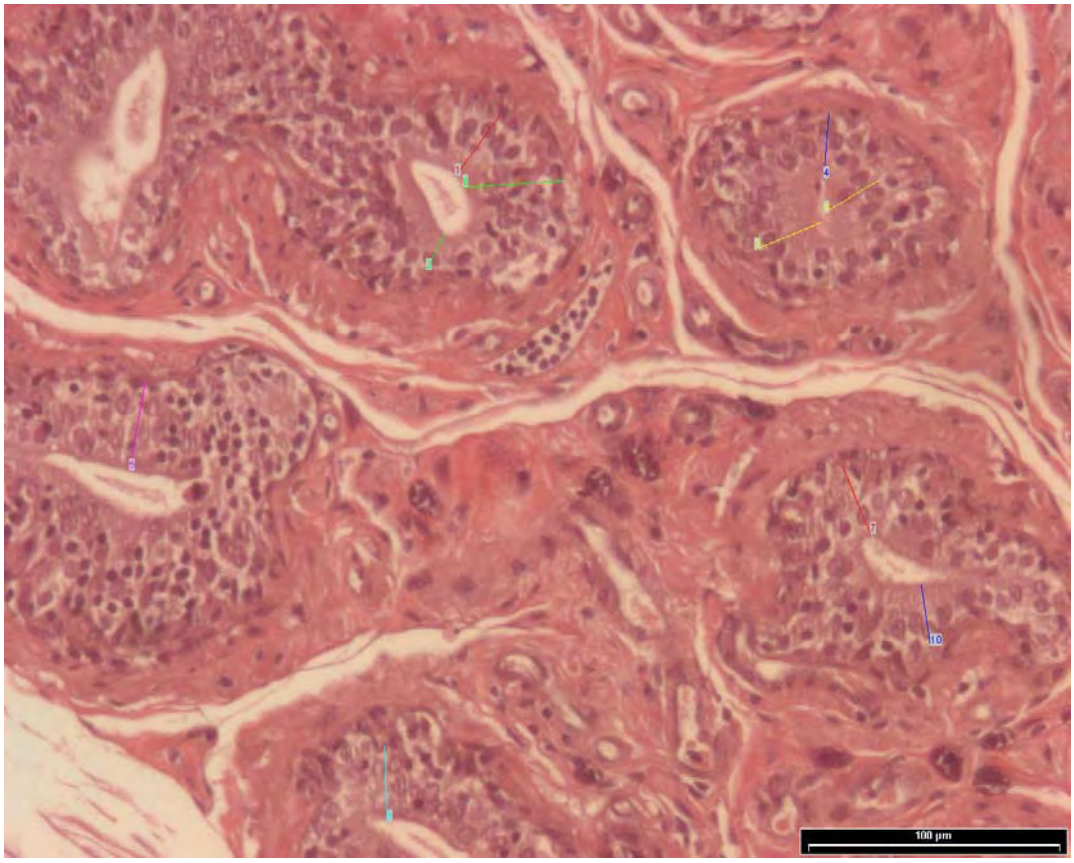

Abb. 11: Prostata einer orchidektomierten Ratte nach 3-monatiger E2-Exposition (HE-Färbung, Vergrößerung: 20x)

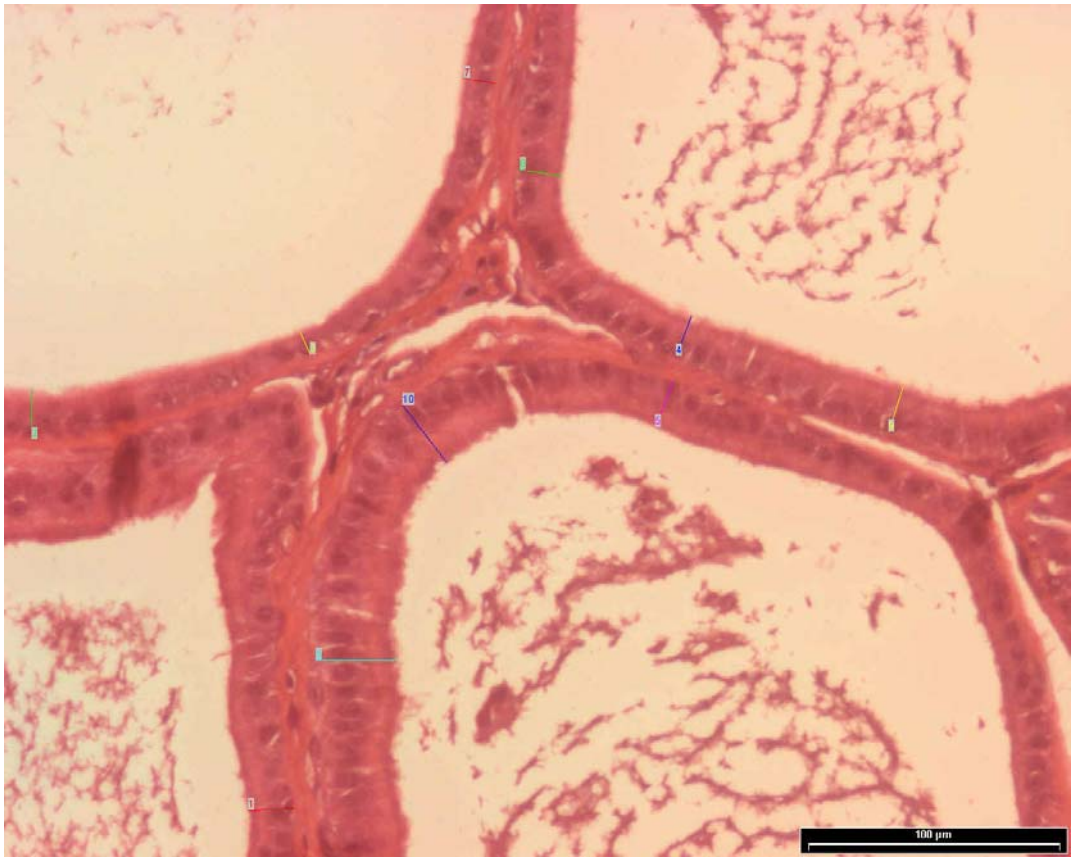

Abb. 12: Prostata einer orchidektomierten Ratte nach 3-monatiger T-Exposition (HE-Färbung, Vergrößerung: 20x)

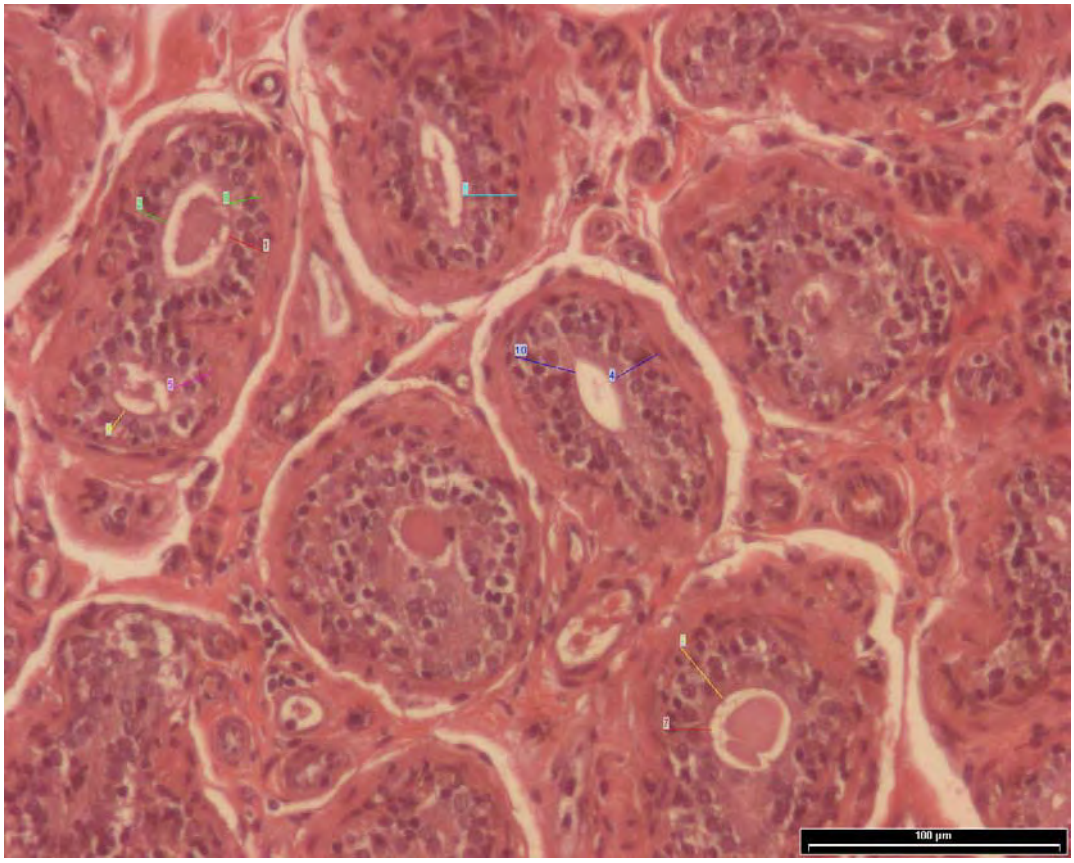

Abb. 13: Prostata einer orchidektomierten Ratte nach 3-monatiger 8-PN-Exposition (HE-Färbung, Vergrößerung: 20x)

Bei den orchidektomierten Tieren fallen recht uniforme histologische Erscheinungsbilder auf, die dem eines orchidektomierten Kontrolltieres sehr ähneln. Eine Ausnahme stellt lediglich das Präparat des testosteronstimulierten Tieres dar. Hier fällt ein morphologisches Muster auf, das dem eines intakten Kontrolltieres sehr nahe kommt. Allerdings liegt die Epitheldicke bei intakten Kontrolltieren im Schnitt bei 10,6 µm, während sie bei orchidektomierten testosteronstimulierten Ratten 19,13 µm, also fast das Doppelte, beträgt.

3.2.2.3 Epitheldicke der Prostatae intakter Ratten nach ED-Exposition

Die Graphik zeigt Veränderungen der Epitheldicke der Prostata bei intakten Tieren nach Exposition gegenüber den untersuchten Substanzen.

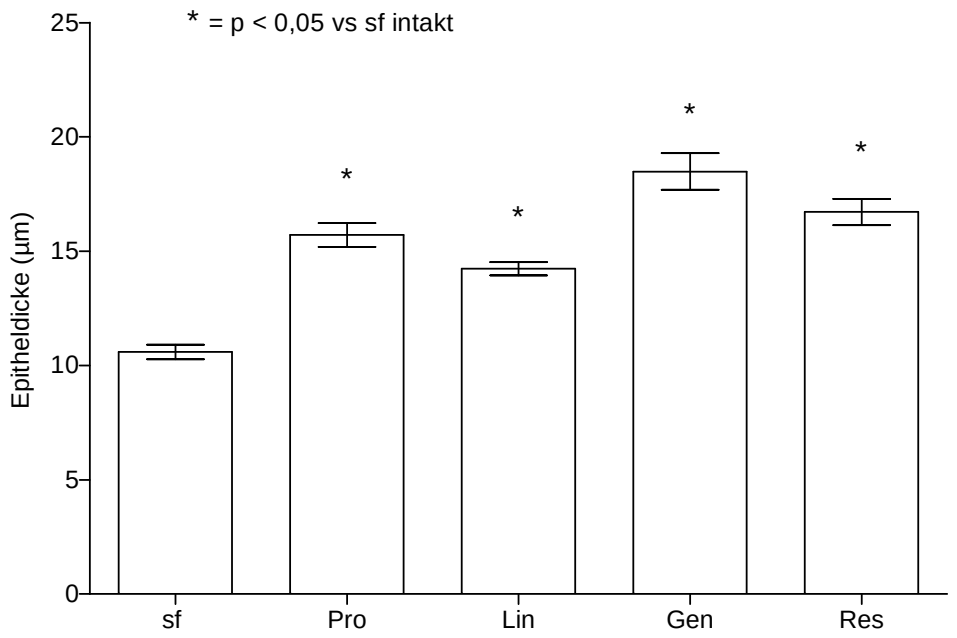

Abb. 14: Epitheldicke der Prostata-Azini intakter Ratten nach 3-monatiger ED-Exposition (per Futter)

Signifikant dickere Epithelschichten gegenüber der sojafreien Kontrollgruppe zeigen sich bei Tieren nach Exposition gegenüber Procymidon, Linuron, Genistein und Resveratrol. Dabei ist bei Genistein der größte Effekt auf die Zunahme der Epithelproliferation festzustellen. Das histologische Korrelat der Veränderungen ist auf den folgenden Aufnahmen erkennbar.

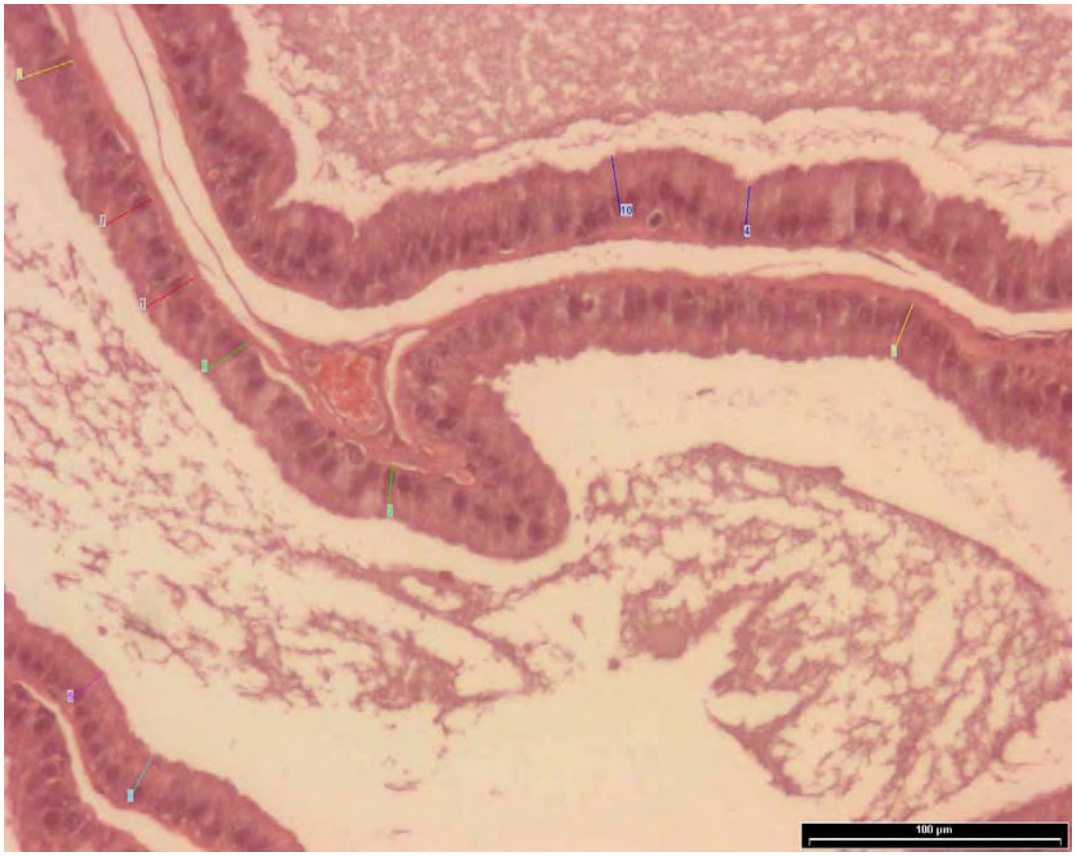

Abb. 15: Prostata einer intakten Ratte nach 3-monatiger Procymidon-Exposition (HE-Färbung, Vergrößerung: 20x)

Abb. 16: Prostata einer intakten Ratte nach 3-monatiger Linuron-Exposition (HE-Färbung, Vergrößerung: 20x)

Abb. 17: Prostata einer intakten Ratte nach 3-monatiger Genistein-Exposition (HE-Färbung, Vergrößerung: 20x)

Abb. 18: Prostata einer intakten Ratte nach 3-monatiger Resveratrol-Exposition (HE-Färbung, Vergrößerung: 20x)

Es fallen ähnlich weite Azini, wie bei intakten Kontrolltieren auf (s. Abb. 6). Große Mengen prostatischen Sekrets finden sich bei linuron- und resveratrolstimulierten Tieren.

3.3 Samenblase

Es folgt die Darstellung der Ergebnisse der Samenblasenuntersuchung. Analog zum ersten Teil der Präsentation der Ergebnisse werden zunächst die Gewichtsveränderungen und anschließend die Daten der histologischen Auswertung (Epitheldicke) der Samenblase nach Exposition gegenüber den oben beschriebenen Substanzen dargestellt.

3.3.1. Gewichte der Samenblasen

3.3.1.1 Gewichte der Samenblasen intakter sf- vs orx sf- Ratten

Die Gewichtsverhältnisse der Samenblasen intakter und orchidektomierter Ratten sind in der Abbildung 19 graphisch dargestellt.

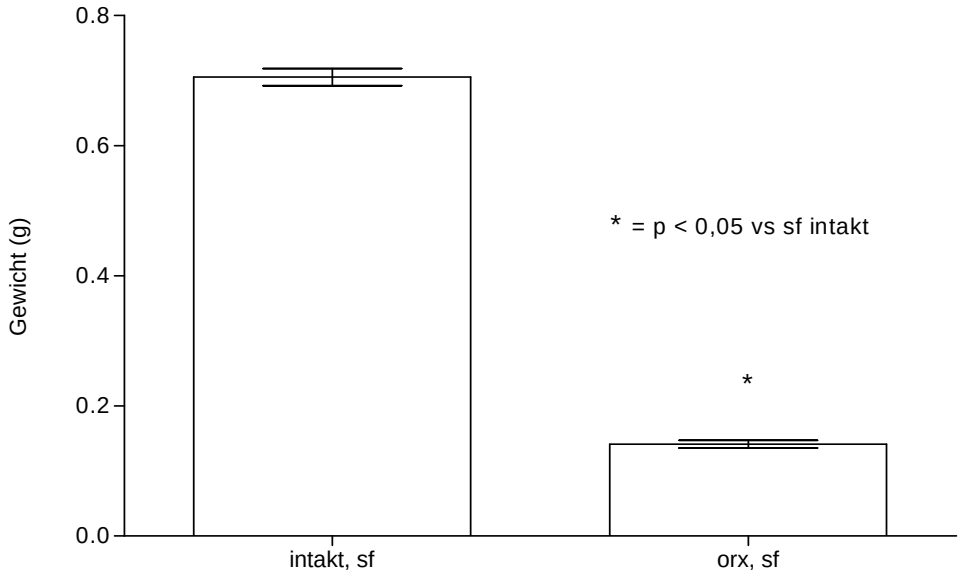

Abb. 19: Gewicht der Samenblase der Ratte intakt sf vs orx sf

Die orchidektomierten Tiere weisen signifikant niedrigere Gewichte der Samenblasen auf als die intakten Tiere.

3.3.1.2 Gewichte der Samenblasen orchidektomierter Ratten nach ED-Exposition

Folgende Darstellung zeigt Effekte der untersuchten Substanzen auf das Gewicht der Samenblase orchidektomierter Ratten.

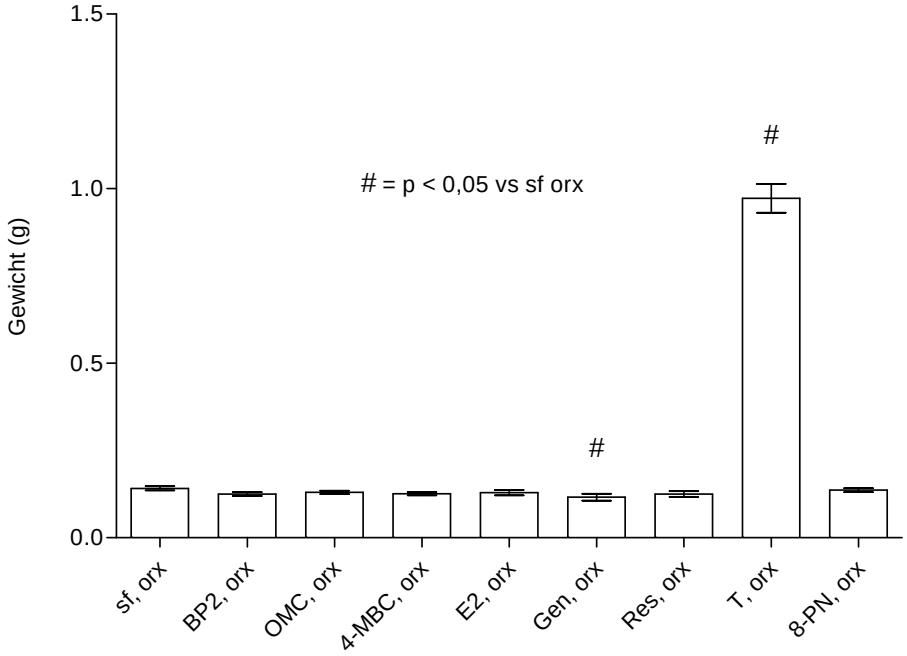

Abb. 20: Gewicht der Samenblase orchidektomierter Ratten nach 3-monatiger ED-Exposition

Eine hochsignifikante Gewichtszunahme der Samenblase gegenüber der Kontrollgruppe lässt sich nach der Testosteronstimulation feststellen. Bei den genisteinexponierten Tieren liegt eine signifikante Veränderung der Samenblase im Sinne einer Gewichtsabnahme vor. Nach Stimulation mit den übrigen Substanzen konnten keine signifikanten Veränderungen beobachtet werden.

3.3.1.3 Gewichte der Samenblasen intakter Ratten nach ED-Exposition

Die Abbildung 21 demonstriert die Gewichte der Samenblasen intakter Ratten nach Exposition gegenüber den untersuchten Substanzen.

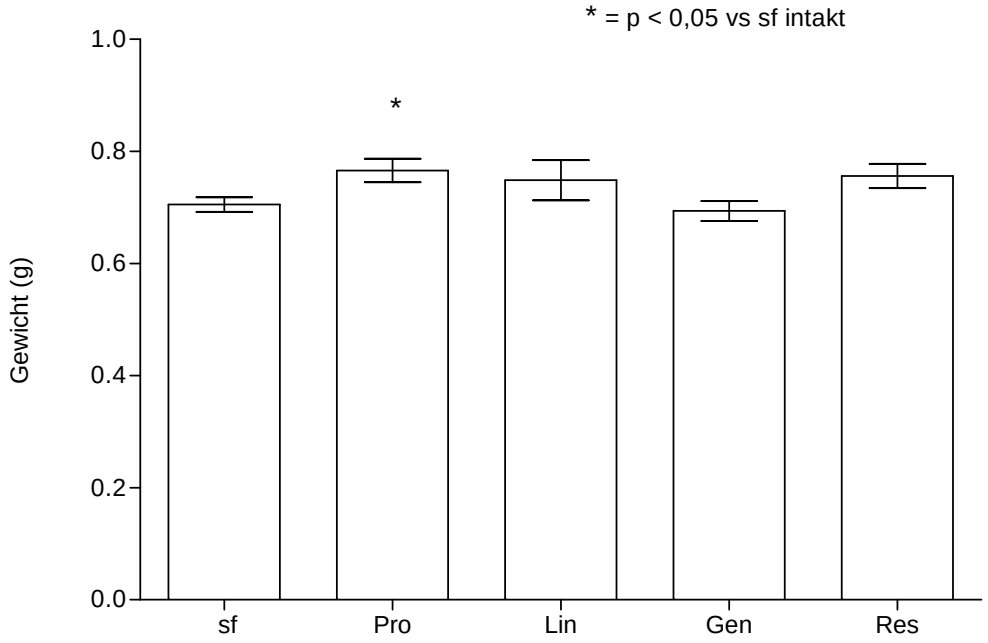

Abb. 21: Gewicht der Samenblasen intakter Ratten nach 3-monatiger ED-Exposition (per Futter)

Es lassen sich signifikante Veränderungen des Gewichts im Sinne einer Gewichtszunahme bei Samenblasen der mit Procymidon behandelten intakten Tiere feststellen. Die übrigen Substanzen zeigen keine signifikanten Unterschiede im Vergleich zur Kontrollgruppe.

3.3.2 Epitheldicke der Samenblasen

3.3.2.1 Epitheldicke der Samenblasen intakter sf- vs orx sf-Ratten

Die Abbildung 22 demonstriert die Epitheldicke der Samenblasen von intakten und orchidektomierten, sojafrei gefütterten Tieren.

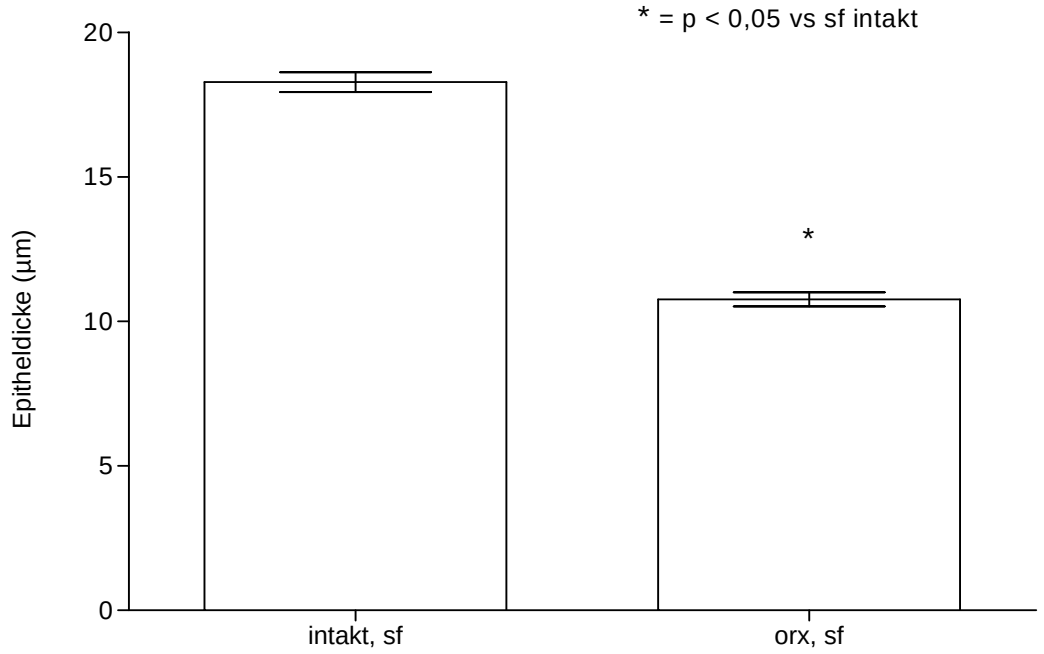

Abb. 22: Epitheldicke der Samenblase-Azini der Ratte intakt sf vs orx sf

Die Epitheldicke der Azini ist bei intakten Tieren signifikant größer als bei orchidektomierten Tieren. Die Abbildungen 23 und 24 zeigen die entsprechenden histologischen Präparate.

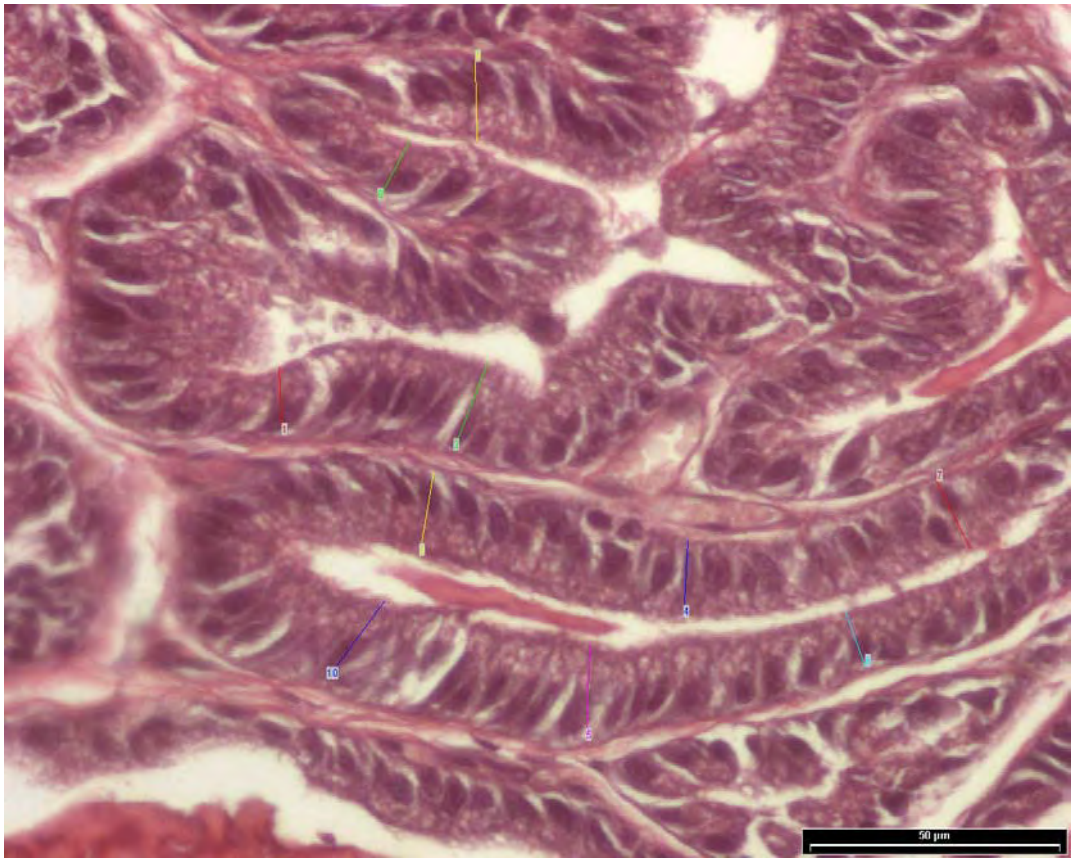

Abb. 23: Samenblase einer intakten Ratte (HE-Färbung, Vergrößerung: 40x)

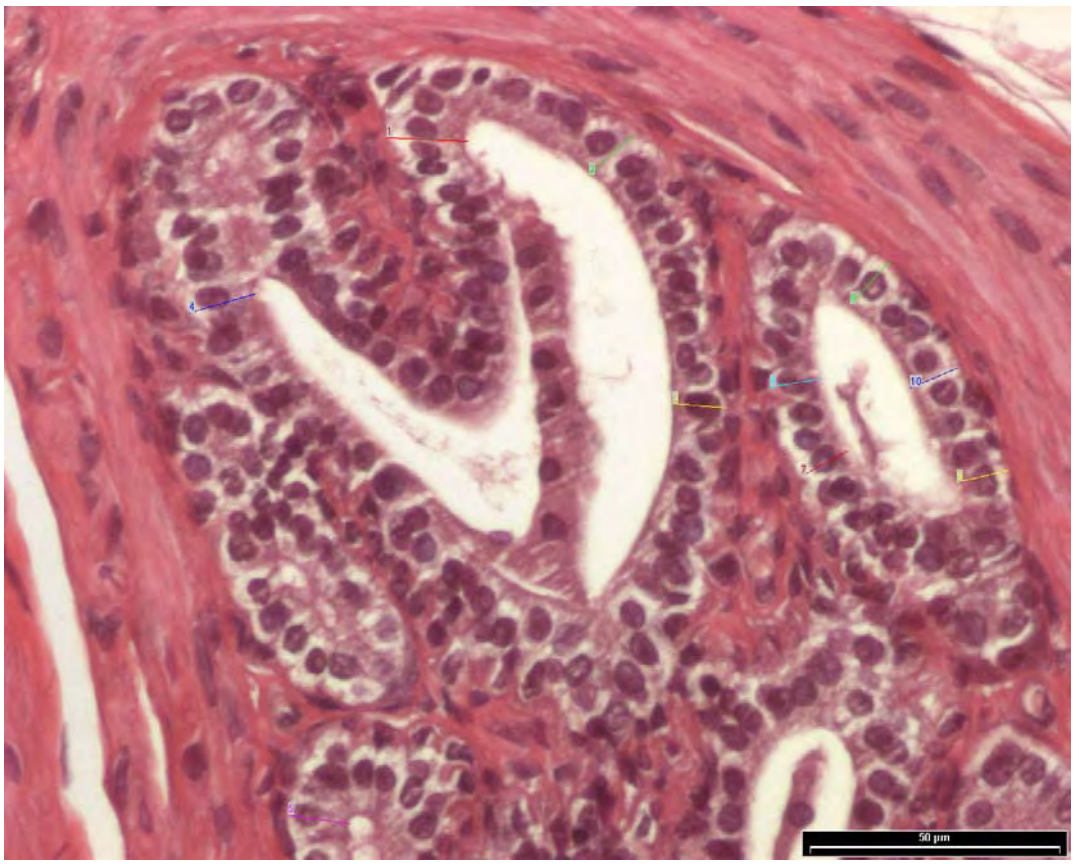

Abb. 24: Samenblase einer orchidektomierten Ratte (HE-Färbung, Vergrößerung: 40x)

Im Präparat des intakten Tieres sind die hochprismatischen Epithelzellen der Azini mit länglich konfigurierten Kernen zu erkennen. Die Epithelien der orchidektomierten Ratte erscheinen dagegen isoprismatisch und enthalten runde Kerne. Ebenfalls auffällig ist die deutliche Bindegewebskomponente beim orchidektomierten Tier.

3.3.2.2 Epitheldicke der Samenblasen orchidektomierter Ratten nach ED-Exposition

Die Graphik zeigt die Veränderungen der Höhe des Epithels der Samenblasen orchidektomierter Ratten nach Stimulation mit den untersuchten Substanzen.

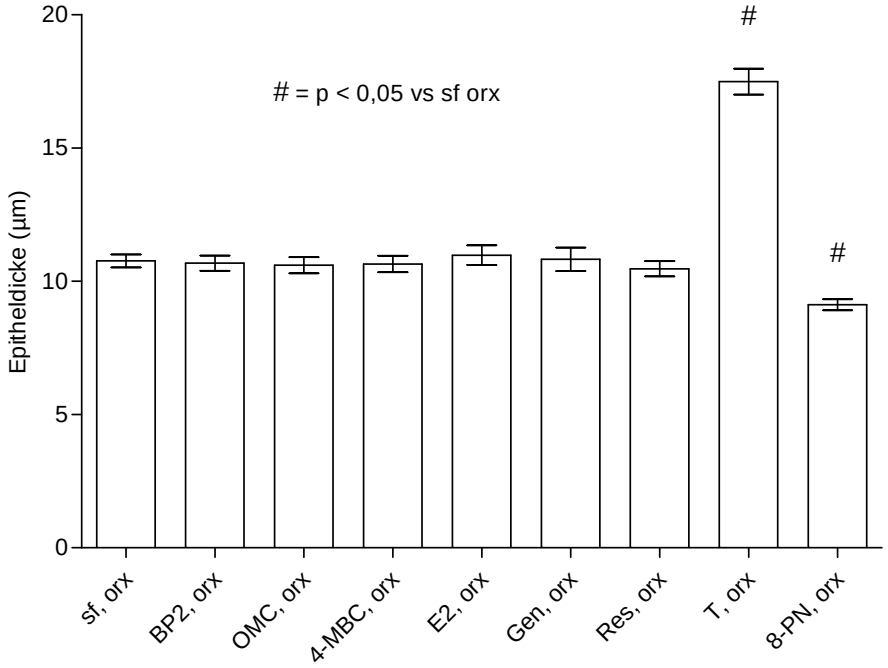

Abb. 25: Epitheldicke der Samenblase-Azini orchidektomierter Ratten nach 3-monatiger ED-Exposition

Signifikante Höhenveränderungen des Epithels im Sinne einer Zunahme finden sich bei testosteronexponierten Tieren. Nach 8-PN-Exposition zeigt sich eine signifikante Verringerung der Epitheldicke. Die restlichen Substanzen weisen keine signifikanten Effekte auf das Epithel auf. Entsprechende histomorphologische Korrelate stellen die Abbildungen 26 und 27 dar.

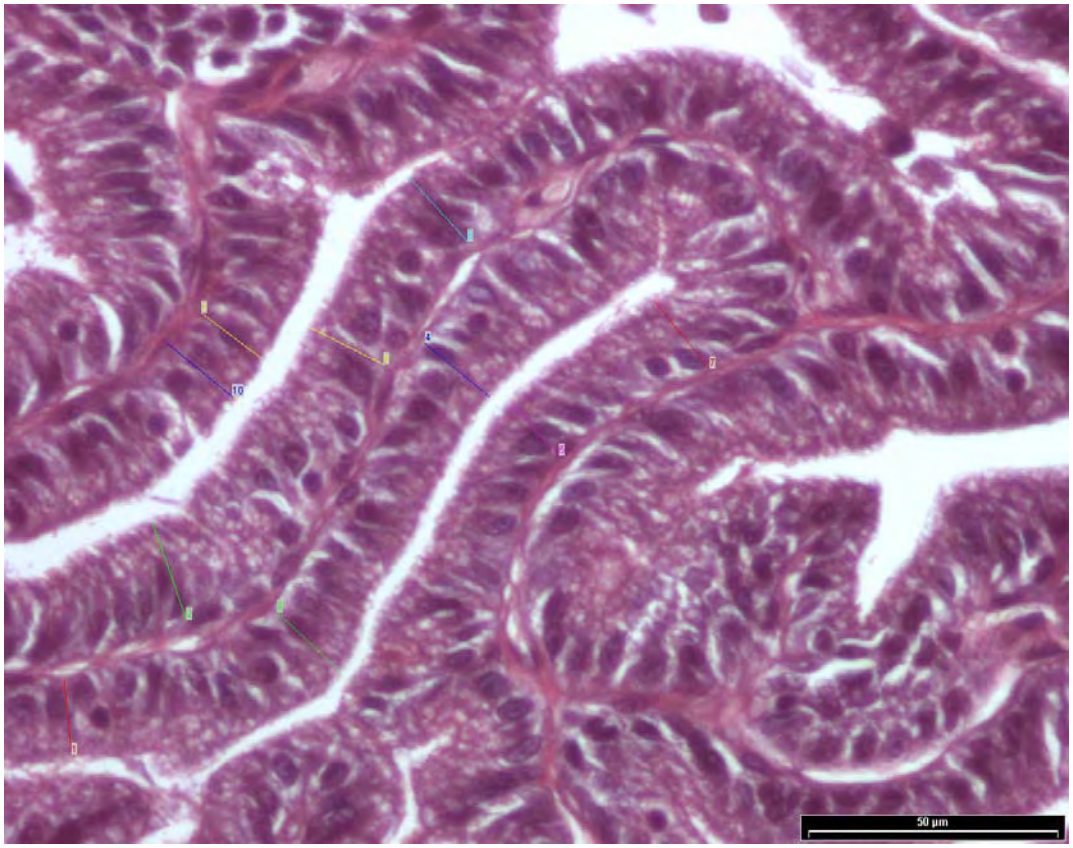

Abb. 26: Samenblase einer orchidektomierten Ratte nach 3-monatiger T-Exposition (HE-Färbung, Vergrößerung: 40x)

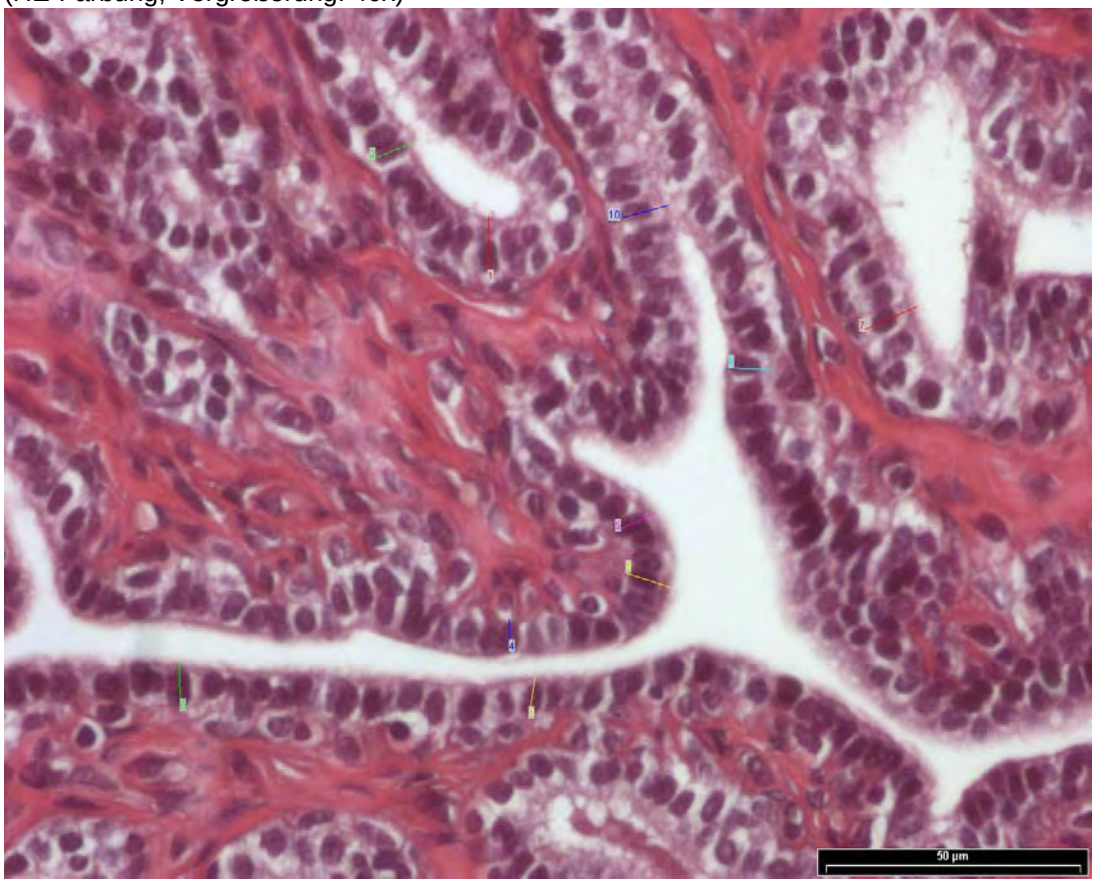

Abb. 27: Samenblase einer orchidektomierten Ratte nach 3-monatiger 8-PN-Exposition (HE-Färbung, Vergrößerung: 40x)

3.3.2.3 Epitheldicke der Samenblasen intakter Ratten nach ED-Exposition

Die Abbildung 28 stellt die Effekte der untersuchten Substanzen auf das Epithel intakter Ratten dar.

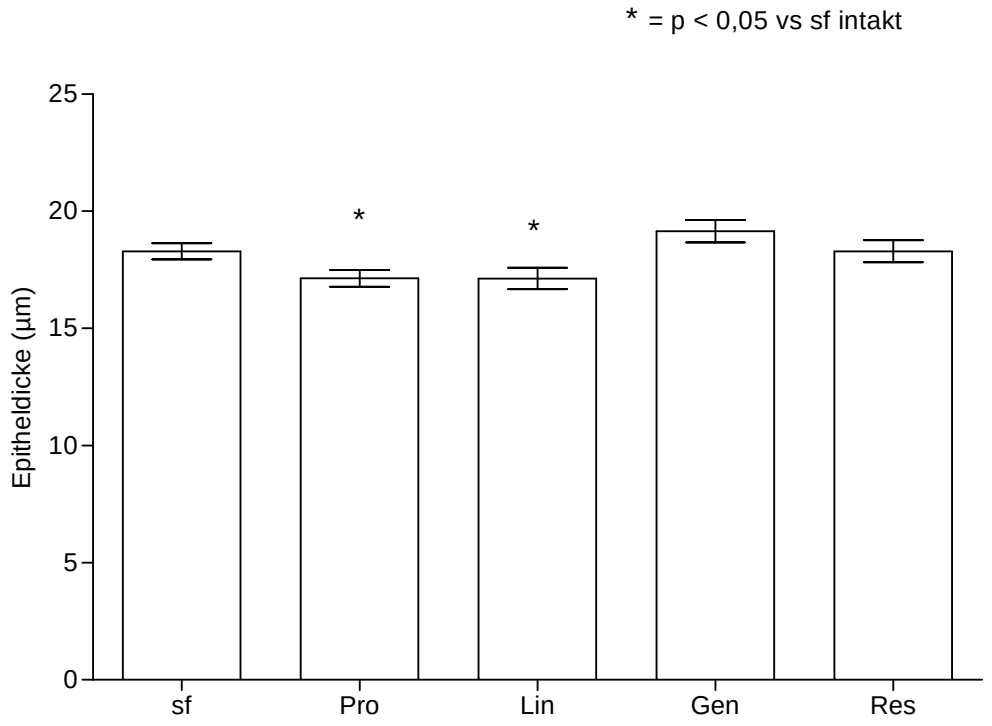

Abb. 28: Epitheldicke der Samenblase-Azini intakter Ratten nach 3-monatiger ED-Exposition (per Futter)

Es können signifikante Effekte auf die Epithelproliferation nach 3-monatiger Procymidon- und Linuron-Exposition festgestellt werden und zwar im Sinne einer Abnahme der Epitheldicke genenüber der Kontrollgruppe. Genistein und Resveratrol zeigen keinen signifikanten Einfluss auf die Epitheldicke.

Die Abbildungen 29 und 30 zeigen die entsprechenden histologischen Korrelate.

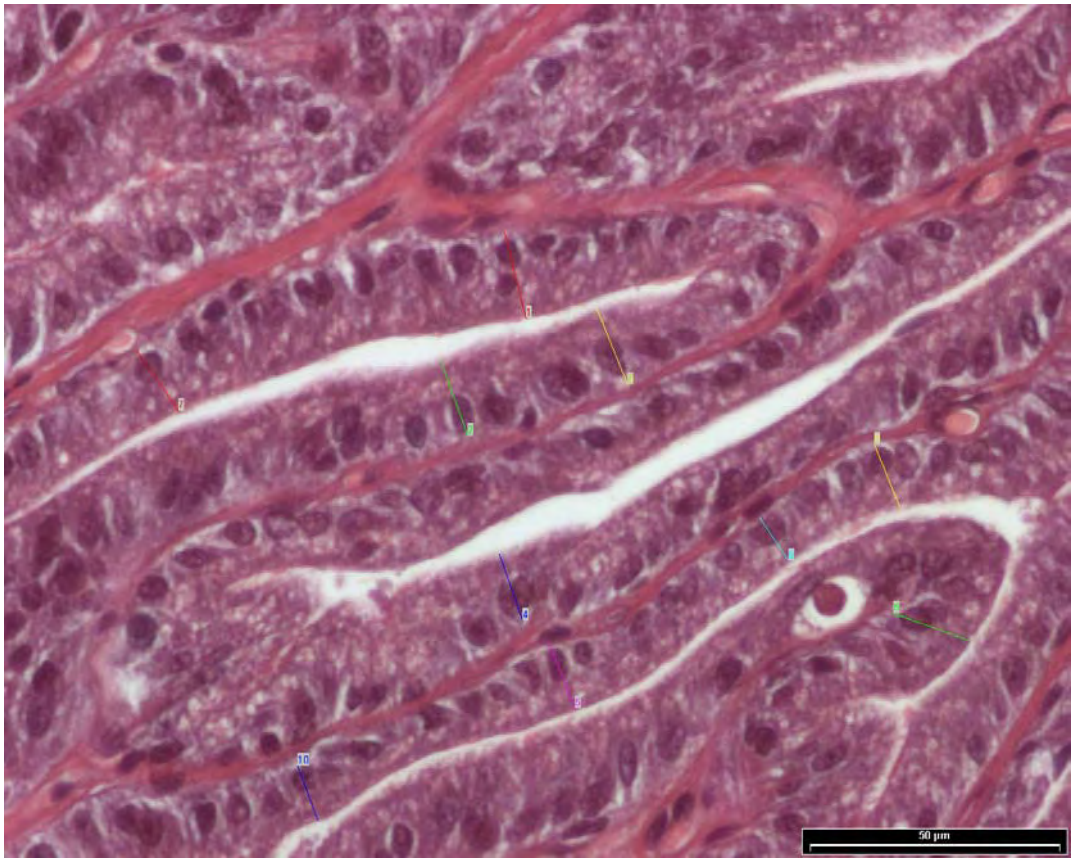

Abb. 29: Samenblase einer intakten Ratte nach 3-monatiger Procymidon-Exposition (HE-Färbung, Vergrößerung: 40x)

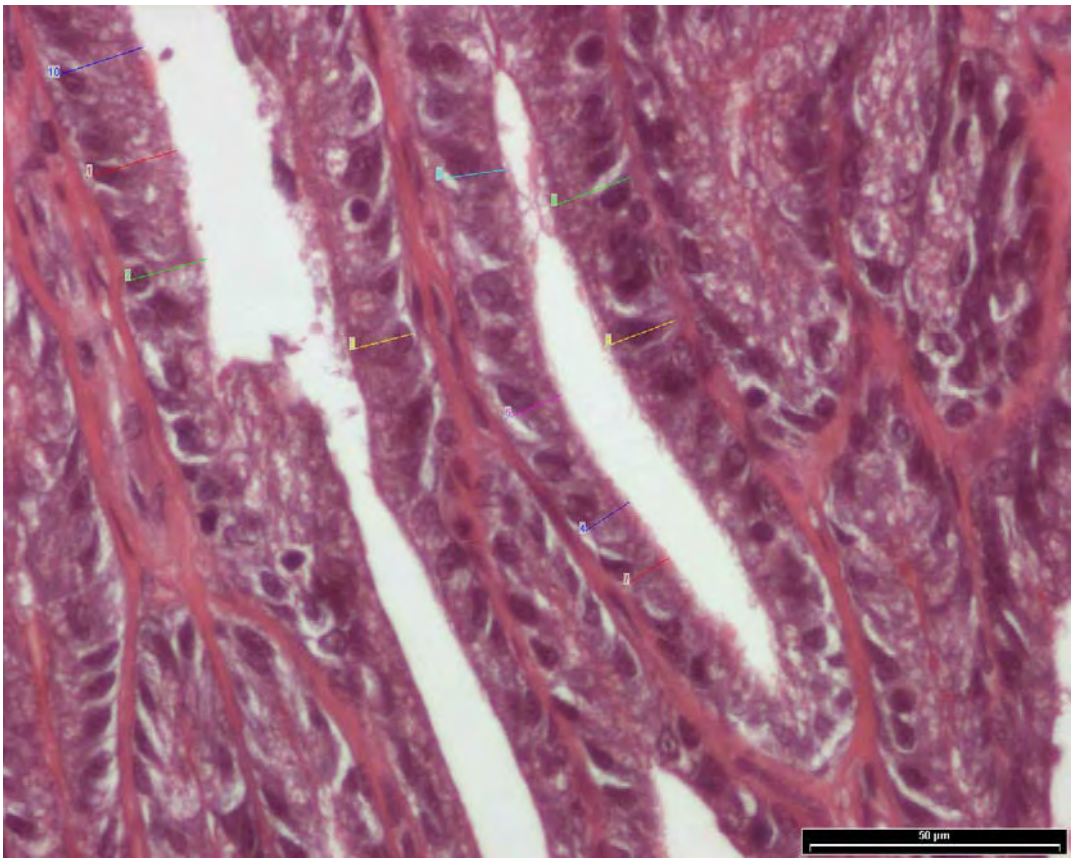

Abb. 30: Samenblase einer intakten Ratte nach 3-monatiger Linuron-Exposition (HE-Färbung, Vergrößerung: 40x)

Bei beiden Präparaten zeigt sich insgesamt eine der Samenblase eines Kontrolltieres ähnliche Histomorphologie.

4. Diskussion

Gegenstand der vorliegenden Arbeit ist die Untersuchung der Wirkungen ausgewählter endokriner Disruptoren auf Prostata und Samenblase der Ratte. Dabei wurden Veränderungen der Organgewichte und der Histoarchitektur (unter besonderer Berücksichtigung des Epithels) dieser Organe untersucht.

Endokrine Disruptoren sind chemische Substanzen sowohl synthetischer als auch natürlicher Herkunft, die biologische Effekte in Organismen auslösen können, die denen der natürlichen Hormone (in erster Linie der Sexualhormone) ähnlich sind. Aufgrund ihres ubiquitären Vorkommens ist die Exposition gegenüber endokrinen Disruptoren, sei es direkt oder über die Nahrungskette, praktisch bei jedem Menschen nachweisbar. Von besonderem Interesse sind mögliche, sowohl negative als auch positive, Effekte von endokrinen Disruptoren auf den menschlichen Organismus.

Aufgrund ihrer strukturellen Ähnlichkeit mit den Sexualsteroiden können endokrine Disruptoren durch Bindung an entsprechende Hormonrezeptoren direkte rezeptorvermittelte hormonelle Wirkungen (agonistische oder antagonistische) auslösen. Darüber hinaus sind sie in der Lage, durch Hemmung der Synthese von Hormonen oder deren Rezeptoren, Störung der Sekretion oder des Transports, Veränderungen im Hormonmetabolismus oder durch Hemmung von Enzymen ihre Wirkung zu entfalten.

Die untersuchten Organe stellen hormonabhängige Gewebe dar und exprimieren sowohl Androgen- als auch Östrogenrezeptoren, so dass die verwendeten Verbindungen mit ihrer antiandrogenen bzw. östrogenen Wirkung zu morphologischen Veränderungen in diesen Geweben führen können.

4.1 Körpergewichte der Tiere am Ende der Untersuchung

Am Ende der Untersuchung konnte bei allen Tieren eine Zunahme des Körpergewichtes festgestellt werden. Die größte Gewichtszunahme fand bei sojafrei ernährten intakten Ratten statt, die niedrigste bei E2-exponierten orchidektomierten Tieren.

4.2 Veränderungen der Organgewichte

4.2.1 Prostata

a. Erwartungsgemäß weisen Prostatae intakter Tiere aufgrund des physiologischen

Androgeneinflusses ein signifikant höheres Gewicht auf als die der orchidektomierten Ratten.

b. Nach Exposition der orchidektomierten Ratten gegenüber Testosteron, BP2, OMC, 4-MBC, 8-PN, E2, Genistein und Resveratrol zeigten nur testosteronstimulierte Tiere deutlich höhere Organgewichte. Zwischen den restlichen Tieren lässt sich kein signifikanter Unterschied feststellen. Ursächlich für fehlende Gewichtsveränderungen nach Exposition gegenüber östrogen wirkenden BP2, OMC, 4-MBC, 8-PN, E2, Genistein und Resveratrol im Vergleich zu den sojafrei gefütterten Tieren könnte hier die fehlende ER-Expression im Stroma der Rattenprostata sein. Bei hypogonadalen Mäusen, die in den Stromazellen der Prostata ER-α aufweisen, konnten jedoch Wachstum und Expansion der epithelialen, stromalen, und luminalen Kompartimente nach E2-Exposition beobachtet werden (Bianco et al. 2002). Auch in der Prostata des Mannes werden ER-α im Stroma exprimiert, so dass eine ähnliche Wirkung (im Sinne einer benignen Prostatahyperplasie?) auf die Prostata andropausaler Männer angenommen werden kann.
Insgesamt scheinen die Wirkungen der getesteten Substanzen artspezifisch zu sein.

c. Nach Exposition intakter Ratten gegenüber Procymidon und Linuron (antiandrogene Wirkungen) sowie Genistein (östrogene Wirkungen) zeigten sich keine signifikanten Gewichtsunterschiede im Vergleich zu den nicht exponierten Tieren, obwohl tendenzielle (jedoch statistisch nicht signifikante) Gewichtszunahme bei stimulierten Tieren zu erkennen ist.
Vor dem Hintergrund der bekannten antiandrogenen Eigenschaften von Procymidon und Linuron wären bei den mit diesen Substanzen stimulierten Tieren geringere Prostatagewichte zu erwarten. Procymidon und Linuron inhibieren die physiologische Testosteronwirkung und würden bei intakten Tieren zu einer Gewichtsreduktion des Organs führen. Solche Effekte von Linuron und Procymidon sind in der Studie von Kang et al. (2004) beobachtet worden. Allerdings betrug das Alter der in der Studie untersuchten Ratten 4 Wochen. Tinwell et al. (2007) berichten über eine minimale Gewichtsreduktion der Prostata bei 20 Tage alten Ratten nach Linuronexposition. Dies lässt den Schluss zu, dass die Effekte von endokrinen Disruptoren vom Alter und somit vom Entwicklungstadium der exponierten Spezies abhängig sind. Auch muss über die verschiedenen Effekte bei unterschiedlicher Dosierung diskutiert

werden, da es bekannt ist, dass einige Substanzen nur in einem bestimmten Dosisbereich ihre Wirkungen entfalten.
Nach der Stimulation der Tiere mit dem Phytoöstrogen Genistein konnten keine signifikanten Gewichtsunterschiede im Vergleich zu den Kontrolltieren festgestellt werden, obwohl Zunahme des Prostatagewichts nach pränataler xenoöstrogener Stimulation 2000 von Gupta beschrieben wurde (allerdings bei Mäusen).
Die fehlende Gewichtszunahme der Rattenprostata nach Genisteinstimulation könnte die Folge der anderen Rezeptorbesetzung als bei Mäusen sein, denn in den Stromazellen der Rattenprostata werden keine ER exprimiert (Pelletier et al. 2000, Yamashita 2004). Gleichwohl lassen sich aber ER-α im Stroma der humanen Prostata nachweisen, so dass beim Menschen ähnliche Wirkungen wie bei Mäusen möglich sind.
Darüber hinaus konnte in der Untersuchung von Gupta gezeigt werden, dass Substanzen mit östrogener Wirkung (z. B. Bisphenol A, eine Substanz, die bei der Herstellung von Verpackungen breite Anwendung findet und eine östrogene Potenz aufweist) die Bindungsaktivität der AR erhöhen und somit die Funktion der AR direkt modulieren können. Ein ähnlicher Mechanismus ist auch bei Resveratrol vorstellbar, das in der vorliegenden Untersuchung als einzige Substanz zu einer signifikanten Zunahme des Prostatagewichtes bei intakten Ratten gegenüber den sojafrei ernährten Kontrolltieren führte.

4.2.2 Samenblase

a. Die Samenblasen orchidektomierter Tiere wiesen ein signifikant niedrigeres Gewicht auf als die der intakten Tiere. Das erwartungsgemäß höhere Gewicht bei intakten Ratten ist als Ausdruck der physiologischen Androgenwirkung zu werten.

b. Bei den orchidektomierten Tieren führte die Testosteronstimulation zu einer deutlichen Zunahme des Samenblasengewichts im Vergleich zur Kontrollgruppe. Auch hier ist von bekannten physiologischen Testosteronwirkungen auszugehen.
Dagegen konnte nach Genisteinexposition, also unter östrogenem Einfluss, eine signifikante Abnahme des Samenblasengewichtes festgestellt werden. Die übrigen Substanzen zeigten keinen messbaren Effekt auf das Organ.

c. Nach der jeweiligen Stimulation der gesunden Tiere mit zwei antiandrogenen (Procymidon und Linuron) und zwei östrogen wirkenden Substanzen (Genistein und Resveratrol) konnten lediglich bei mit Procymidon stimulierten Tieren signifikante Veränderungen des Samenblasengewichtes beobachtet werden, und zwar im Sinne einer Gewichtszunahme. Linuron, Genistein und Resveratrol zeigten keinen wesentlichen Effekt auf das Organ.

Die Effekte von Procymidon sind somit diskrepant zu den Untersuchungen von Kang et al. (2004), der gezeigt hat, dass Procymidon und Linuron (ähnlich wie bei der Prostata) zu Gewichtsreduktion der Samenblasen bei Ratten führen.

Nur eine marginale Gewichtsreduktion der Samenblase bei 20 Tage alten Ratten nach Linuronexposition beschreiben Tinwell et al. (2007). Auch hier scheint das Alter der exponierten Tiere eine wesentliche Rolle zu spielen.

Die ausgebliebene Gewichtszunahme durch östrogene Stimulation könnte durch fehlende ER-Expression in der Samenblase der Ratte (Pelletier et al. 2000) erklärt werden.

4.3 Veränderungen am Epithel

4.3.1 Prostata

a. Bei der histologischen Auswertung der Prostata und einem Vergleich zwischen nicht stimulierten intakten und orchidektomierten Tieren ließ sich eine signifikant größere Epitheldicke in den Prostatae der orchidektomierten gegenüber den intakten Ratten feststellen. Die sehr weiten Azini der intakten Tiere sind dabei mit einer schmalen Epithelschicht ausgekleidet und mit viel Sekret gefüllt. Dagegen präsentiert die Prostata der orchidektomierten Ratte kleinere, jedoch mit dickerer Schicht mehrreihigen Epithels ausgekleidete Azini.

Trotz der fehlenden Androgenwirkung scheint die Proliferation der Epithelzellen stimuliert zu werden. Es ist anzunehmen, dass diese Wirkungen durch Östradiol mittels ER-β, welche in den Epithelzellen der Rattenprostata zu identifizieren sind, vermittelt werden. Diese Befunde stimmen mit denen anderer Studien überein. Leav et al. (1978), Pelletier (2002) und Bianco et al. (2002) konnten Nachweise stimulierender Effekte von Östradiol auf die Zellproliferation des Prostataepithels bei kastrierten Tieren erbringen.

Im Epithel der gesunden Prostata eines Mannes lassen sich ebenfalls ER-β nachweisen (Royuela et al. 2001, Leav et al. 2001). Dies lässt ähnliche Wirkungen

bei andropausalen Männern vermuten. Zwar sind maligne Veränderungen der Prostata in keiner der oben erwähnten Studien beschrieben worden. Allerdings scheint fehlender Testosteroneinfluss alleine noch kein protektiver Faktor für die erhöhte Proliferationsrate, und damit die prinzipielle Möglichkeit einer malignen Entartung des Gewebes zu sein.

b. Bei den orchidektomierten Tieren konnte eine signifikante Zunahme der Epitheldicke nach Exposition gegenüber BP2, 4-MBC, E2, Testosteron und 8-PN beobachtet werden.
Bis auf das Testosteron handelt es sich dabei um Substanzen mit bekannter östrogener Potenz. Auf die Rolle der Östrogene beim Wachstum und bei der Induktion von proliferativen Veränderungen in der männlichen Prostata ist bereits eingegangen worden. Hier lassen sich nun Wirkungen östrogen aktiver Substanzen bei orchidektomierten Tieren, also bei fehlendem Androgeneinfluss, beobachten.
Es ist bekannt, dass Östradiol zum Wachstum der Prostatazellen bei hypogonadalen Mäusen führt, und zwar sowohl im epithelialen als auch im stromalen Kompartiment (Bianco et al. 2002). Eine vergleichbare Wirkung von E2, BP2, 4-MBC, und 8-PN kann nun auch an orchidektomierten Ratten beobachtet werden. Die östrogenen Effekte könnten dabei durch die in den Epithelien der Rattenprostata exprimierten ER-β vermittelt werden. Vom 8-PN ist allerdings bekannt, dass es hauptsächlich über den ER-α wirkt. Hier ist zu vermuten, dass auch andere Wirkmechanismen eine Rolle spielen.
Ähnliche Wirkungen sind auch in der männlichen Prostata (auch dort ER-β-Expression in den Epithelien) vorstellbar. Dies würde bedeuten, dass vor allem andropausale Männer mit einem niedrigen Androgenspiegel bei Exposition gegenüber den erwähnten Substanzen gefährdet wären. Bei gegebenen proliferativen Wirkungen dieser Substanzen besteht zumindest hypothetisch die Gefahr maligner Zelltransformation. Trotz der Hinweise auf eine antikanzerogene Wirkung von 8-PN beim Prostatakarzinom in der Zellkultur (Delmulle et al. 2008) ist dessen Einsatz als mögliches Therapeutikum beim Prostatakarzinom kritisch zu betrachten.
Auch die Testosteronstimulation führte zu signifikant breiteren Epithelschichten. Zwar konnte bis jetzt nicht gezeigt werden, dass die Testosteronsubstitutionstherapie bei hypogonadalen Männern das Risiko für das Prostatakarzinom erhöht (Morales et al.

2000). Jedoch lassen sich bei orchidektomierten Ratten deutliche proliferative Effekte am Epithel dokumentieren.

Bei den orchidektomierten Tieren fallen recht uniforme histologische Erscheinungsbilder auf, die dem eines orchidektomierten Kontrolltieres sehr ähneln. Eine Ausnahme stellt hier lediglich das Präparat des testosteronstimulierten Tieres dar. Hier fällt ein morphologisches Muster auf, das dem eines intakten Kontrolltieres sehr nahe kommt: weite, mit relativ schmalen Epithelschichten ausgekleidete Azini. Allerdings liegt die Epitheldicke bei intakten Kontrolltieren im Schnitt bei 10,6 µm, während sie bei orchidektomierten testosteronstimulierten Ratten 19,13 µm, also fast das Doppelte, beträgt.

Anders als bei intakten Tieren konnten bei orchidektomierten Ratten keine signifikanten Veränderungen des Epithels nach Resveratrol- und Genisteinexposition festgestellt werden.

Auch nach Stimulation mit OMC, einer UV-Filter-Substanz, von der bekannt ist, dass sie zur Zunahme des Uterusgewichtes bei Ratten und zur Proliferation der MCF-7-Zellen führt, lassen sich hier keine Veränderungen des Epithels feststellen.

c. Bei den intakten Tieren führte die Exposition gegenüber Procymidon, Linuron, Genistein und Resveratrol zu signifikant breiteren Epithelschichten als bei nicht exponierten Tieren. Zusätzlich weisen Azini von linuron -und resveratrolstimulierten Ratten deutlich größere Sekretmengen auf als die restlichen Tiere.

Bis auf die Zunahme der Epitheldicke zeigt sich bei allen intakten Tieren ein insgesamt identisches histomorphologisches Bild. Grobe Störungen der Histoarchitektur oder dysplastische Veränderungen lassen sich nicht nachweisen.

In Bezug auf das Linuron stehen diese Befunde durchaus im Einklang mit den Ergebnissen von Tinwell et al. (2007). Diese Arbeitsgruppe konnte insgesamt nur schwache Wirkungen von Linuron auf die Rattenprostata feststellen, die Histomorphologie blieb unverändert im Vergleich zur Kontrolllgruppe. Die Tiere waren 20 tage alt und die Expositionsdauer betrug 10 Tage.

Prinzipiell ist die in der vorliegenden Arbeit festgestellte isolierte Zunahme der Epitheldicke bereits als Ausdruck der proliferativen Wirkung von Procymidon und Linuron zu werten. Somit erscheinen höhergradige Störungen der Histomorphologie

bei langfristiger Exposition bis hin zu dysplastischen und malignen Veränderungen möglich.
Der Mechanismus, der zu den beschriebenen Veränderungen führt ist unklar. Bei bekannter Antiandrogenität von Procymidon und Linuron wären eher proliferationshemmende Wirkungen zu erwarten. Ob hierbei andere als reiner AR-Antagonismus, bis jetzt unbekannte Wirkmechanismen eine Rolle spielen, ist unklar.

Auch die beiden zu den Phytoöstrogenen gehörenden Substanzen Resveratrol und Genistein führten zur im Vergleich mit den Kontrolltieren breiteren Epithelschicht.

Genistein gehört zu der am meisten verbreiteten Gruppe der Phytoöstrogene, den Isoflavonoiden, und bindet an ER-β mit höherer Affinität als an ER-α (Kuiper et al. 1997, Kuiper et al. 1998, Morito et al. 2001, Morito et al. 2002, Schmitt et al. 2001).
Die Ergebnisse der Studien über das biologische Verhalten von Genistein sind widersprüchlich. Es gibt Hinweise auf sowohl proliferationshemmende als auch proliferationsfördernde Wirkungen von Genistein.
Neben den Berichten über antiproliferative Wirkungen von Genistein (Lamartiniere et al. 1995, Hilakivi-Clarke et al. 1999,) wurden auch Daten über stimulierende Effekte an malignen Zellen geliefert (Hsieh et al. 1998, Newbold et al. 2001).
Mehrere Studien dokumentierten hemmende Effekte von Genistein auf karzinomatöse Zelllinien (Naik et al. 1994, Barnes 1995, Santibanez et al. 1997).
In Zusammenschau mit epidemiologischen Untersuchungen, die kanzeroprotektive Wirkungen der Phytoöstrogene nahe legten, kam Genistein als mögliches Präventionsmittel oder gar Therapeutikum beim Prostatakarzinom in Betracht. Bei diesen Untersuchungen wurden jedoch pharmakologische Konzentrationen von Genistein eingesetzt, die selbst im Rahmen einer sojareichen Diät niemals erreicht würden.
Chau et al. berichteten über Effekte von Genistein, die bei physiologischen, also unter einer speziellen Diät erreichbaren Konzentrationen auftreten. Es konnte nicht nur eine Erhöhung der Telomerase-Aktivität festgestellt werden, sondern auch eine Wachstumsförderung der humanen Prostatakarzinomzellen, sowie eine Tumorprogression bei Mäusen mit der prostatischen intraepithelialen Neoplasie (Chau et al. 2007).

Es konnte eine signifikante Zunahme der Epitheldicke bei intakten Tieren nach Genistein- und Resveratrolstimulation festgestellt werden. Dies ist zunächst als proliferationsfördernde Wirkung zu werten.
Vor dem Hintergrund der bekannten Wirkungen von Östrogenen auf die Prostatazellen und der wahrscheinlichen Beteiligung der Östrogene an der Pathogenese des Prostatakarzinoms (Härkönen und Mäkelä 2004) können die beschriebenen Veränderungen als Ausdruck des Agonismus von Genistein und Resveratrol an den ER interpretiert werden. Ein Mechanismus zur Induktion des Zellwachstums könnte der von Richter et al. beschriebene Anstieg der AR-Expression nach Stimulation des fetalen Prostatagewebes bei Mäusen mit physiologischen Dosen von Östradiol sein (Richter et al. 2007). Daraus ergibt sich eine erhöhte Sensibilität des Gewebes gegenüber androgenen Einflüssen mit erhöhtem Zellwachstum.
In Anbetracht der Befunde an den Epithelien nach Genistein- und Resveratrol-Stimulation und der Ergebnisse von Chau et al. (2007) ist die oft beschriebene proliferationshemmende Wirkung dieser Substanzen kritisch zu hinterfragen. Ein Einsatz von Genistein und Resveratrol im Rahmen der Chemoprävention oder der Therapie von Krebserkrankungen erscheint problematisch.

4.3.2 Samenblase

a. Die Epitheldicke der Azini der Samenblase ist bei intakten Tieren signifikant größer als bei orchidektomierten Tieren. Anders als in der Prostata resultierte aus dem fehlenden Androgeneinfluss bei orchidektomierten Tieren auch eine (erwartungsgemäß) geringere Epithelproliferation. Zusätzlich bestehen Unterschiede im Hinblick auf den Epitheltyp. Während bei intakten Tieren hochprismatische Zellen zu finden sind, ist das Epithel bei orchidektomierten Ratten durch isoprismatische Zellen repräsentiert.

b. Signifikante Effekte am Epithel der Samenblase orchidektomierter Ratten konnten bei testosteron- und 8-PN-stimulierten Tieren festgestellt werden.
Die Testosteronexposition führte dabei zu einer Zunahme der Epitheldicke, analog dem Prostatagewebe orchidektomierter Tiere. Diese Beobachtung lässt das Auftreten von epithelialen Veränderungen in der Samenblase z. B. im Rahmen einer Testosteronsubstitutionstherapie bei andropausalen Männern möglich erscheinen.

Anders als bei der Prostata, führte die 8-PN-Exposition nicht zu einer Zunahme, sondern zu einer Abnahme der Epitheldicke der Samenblasen. Hier könnte die unterschiedliche Rezeptorverteilung eine Rolle spielen: ER-β im Epithel der Prostata und ER-α im Epithel der Samenblase.
Die Substanzen BP2, OMC, 4-MBC, E2, Genistein, und Resveratrol führten zu keinen signifikanten Veränderungen am Samenblasenepithel orchidektomierter Tiere.

c. Die Stimulation der intakten Tiere mit Procymidon und Linuron führte in beiden Fällen zu einer signifikanten Abnahme der Epitheldicke. Dies ist durch die bekannten antiandrogenen Wirkungen der Substanzen zu erklären. Im Gegensatz dazu lösten diese Substanzen in der Prostata entgegengerichtete Effekte aus: dort war eine proliferationsfördernde Wirkung festzustellen.
Inhibierende Effekte von Procymidon und Linuron auf die Samenblasen von Mäuse konnten auch von Kang et al. (2004) beobachtet werden. Vergleichbare Effekte auf die Samenblasen von Menschen können angenommen werden. Schädigende Wirkung der Substanzen auf die Hoden sind bereits bekannt (McIntyre 2000, 2002, Ostby et al. 1999).
Ebenfalls andere Effekte als bei der Prostata konnten bei genistein- und resveratrolstimulierten Tieren dokumentiert werden. In der Samenblase führten diese Verbindungen zu keinen signifikanten Veränderungen des Epithels, während in der Prostata Zunahme der Epitheldicke festzustellen war.
Der fehlende Effekt von Genistein ist möglicherweise dadurch zu erklären, dass ER-β, über die Genistein seine Wirkungen vermittelt, im Epithel der Samenblase der Ratte nicht exprimiert werden. Anders ist der Rezeptorbesatz bei Männern: die Epithelzellen der Samenblase besitzen ER-β, so dass die Befunde bei Ratten nicht direkt auf die menschliche Samenblase zu übertragen sind. Beim Menschen sind also Effekte von Genistein durch seine Affinität zum ER-β nicht auszuschließen.
Resveratrol bindet mit vergleichbarer Affinität an beide ER-Typen. Trotz der bekannten ER-α-Expression in epithelialen Zellen der Samenblase bei Ratten, blieb die Resveratrol-Exposition ohne einen messbaren Effekt, obwohl in der Prostata Veränderungen feststellbar waren. Ob hier gewebsspezifische Signaltransduktionswege existieren und so zu verschiedenen Ergebnissen führen, ist unklar.

5. Zusammenfassung

Das Ziel der vorliegenden Arbeit war, die Wirkungen ausgewählter endokriner Disruptoren auf das Gewicht und die Histomorphologie (vor allem Veränderungen am Epithel) der Prostata und Samenblase der Ratte zu untersuchen.

Unter dem Begriff „endokrine Disruptoren“ werden sowohl natürlich vorkommende als auch synthetisch hergestellte Substanzen zusammengefasst, die biologische Effekte in Organismen auslösen können. Wegen der strukturellen Ähnlichkeit der endokrinen Disruptoren mit den Steroidhormonen sind es vor allem Wirkungen, die denen der natürlichen Steroide ähnlich sind. Aufgrund des ubiquitären Vorkommens der endokrinen Disruptoren besteht eine Exposition der Tiere und der Menschen gegenüber endokrinen Disruptoren, entweder direkt oder über die Nahrungskette. Von besonderem Interesse sind mögliche, sowohl negative als auch positive Effekte von endokrinen Disruptoren auf den menschlichen Organismus.

Die Wirkungen der endokrinen Disruptoren sind entweder rezeptorvermittelt (durch Bindung an entsprechende Hormonrezeptoren) oder werden durch Hemmung der Synthese von Hormonen oder deren Rezeptoren, Störung der Sekretion oder des Transports, Veränderungen im Hormonmetabolismus, sowie durch Hemmung von Enzymen entfaltet.

Die Prostata und die Samenblase stellen hormonabhängige Gewebe dar und exprimieren sowohl Androgen-, als auch Östrogenrezeptoren, so dass die in der Untersuchung verwendeten Substanzen zu antiandrogenen, bzw. östrogenen Wirkungen mit entsprechenden morphologischen Veränderungen in diesen Geweben führen können.

Für die Untersuchung dieser Wirkungen wurden männliche (intakte und orchidektomierte) Sprague-Dawley-Ratten per Futter einigen ausgewählten endokrinen Disruptoren über einen Zeitraum von 3 Monaten exponiert. Danach wurden die Prostatae und die Samenblasen der Tiere histologisch untersucht.

Es konnte festgestellt werden, dass einige der eingesetzten endokrinen Disruptoren Wirkungen auf diese Organe haben.

So führte Resveratrol, eine Substanz mit östrogener Wirkung, zu einer Gewichtszunahme der Prostata bei intakten Ratten. Dieser Effekt ist möglicherweise auf eine Erhöhung der Bindungsaktivität des Androgen-Rezeptors durch Resveratrol zurückzuführen (dieser Mechanismus ist z. B. bei Bisphenol A, ebenfalls östrogen potent, beschrieben worden).

Es ist zu vermuten, dass endokrine Effekte auch vom Alter der Spezies abhängig sind, da antiandrogene Substanzen Procymidon und Linuron in der vorliegenden Untersuchung zu keinen signifikanten Gewichtsabnahmen der Prostata führten, obwohl in der Literatur solche Effekte bei 20 und 28 Tage alten Ratten beschrieben sind.

Die Exposition der orchidektomierten Ratten gegenüber BP2, OMC, 4-MBC, 8-PN, E2, Genistein und Resveratrol führte zu keiner signifikanten Gewichtszunahme. Die fehlende östrogene Wirkung dieser Substanzen könnte auf die fehlende ER-Expression im Stroma der Rattenprostata zurückzuführen sein. Bei bekannter ER-α-Expression im Stroma der humanen Prostata kann jedoch Wachstum und Expansion der epithelialen und stromalen Komponente im Sinne einer benignen Prostatahyperplasie bei älteren Männern nicht ausgeschlossen werden, da solche Effekte bei hypogonadalen Mäusen (hier bekannte stromale ER-α-Expression) beobachtet wurden.

Die Antiandrogene Procymidon und Linuron vermochten eine Zunahme des Samenblasengewichtes bei intakten Ratten herbeizuführen, wobei diese Ergebnisse diskrepant zu denen von Kang et al. (2004) erscheinen, der eine Gewichtsreduktion der Samenblasen beobachtet hatte. Bei orchidektomierten Tieren konnte lediglich nach Genisteinstimulation eine Gewichtsreduktion der Samenblasen festgestellt werden.

Im Einklang mit den in der vorliegenden Arbeit zitierten Studien wiesen die orchidektomierten Tiere eine größere Epitheldicke der Prostata auf als die intakten. Dies zeigt, dass trotz der fehlenden Androgenwirkung die Proliferation der Epithelzellen stimuliert wird, wobei diese Wirkungen möglicherweise durch Östradiol vermitelt werden. Somit scheint der fehlende Testosteroneinfluss alleine noch kein protektiver Faktor gegen die erhöhte Proliferationsrate, und damit die prinzipielle Möglichkeit einer malignen Entartung des Gewebes zu sein.

Procymidon, Linuron, Genistein und Resveratrol führten bei intakten Tieren zu signifikant dickeren Epithelschichten. Obwohl grobe Störungen der Histoarchitektur oder dysplastische Veränderungen nicht registriert werden konnten, sind die

beobachteten Effekte prinzipiell als Ausdruck der proliferativen Wirkung von Procymidon, Linuron, Genistein und Resveratrol zu werten, so dass höhergradige Störungen der Histomorphologie bei langfristiger Exposition bis hin zu dysplastischen und malignen Veränderungen zumindest nicht auszuschließen sind.
Vor diesem Hintergrund und trotz der in der Literatur beschriebenen Hinweise auf kanzeroprotektive Wirkungen der Phytoöstrogene Genistein und Resveratrol erscheint deren Einsatz im Rahmen der Chemoprävention oder der Therapie von Krebserkrankungen problematisch.

Bei fehlendem Androgeneinfluss, also bei den orchidektomierten Tieren, konnte eine signifikante Zunahme der Epitheldicke nach Exposition mit BP2, 4-MBC, E2, Testosteron und 8-PN beobachtet werden. Dies untermauert die Vermutung, dass Östrogene Wachstum und Induktion von proliferativen Veränderungen in der männlichen Prostata induzieren können, und dass langfristige Exposition gegenüber diesen Substanzen prinzipiell zu hyperplastischen und malignen Prostataveränderungen führen kann. Der Einsatz von 8-PN als mögliches Therapeutikum beim Prostatakarzinom ist kritisch zu betrachten.

Anders als in der Prostata resultierte aus dem fehlenden Androgeneinfluss bei orchidektomierten Tieren eine geringere Epithelproliferation in der Samenblase.
Im Gegensatz zur Prostata war bei procymidon- und linuronstimulierten Tieren eine signifikante Abnahme der Epitheldicke festzustellen.

Ebenfalls andere Effekte als bei der Prostata konnten bei genistein- und resveratrol-stimulierten Tieren dokumentiert werden. In der Samenblase führten diese Verbindungen zu keinen signifikanten Veränderungen des Epithels. Wegen des unterschiedlichen Rezeptorbesatzes sind diese Beobachtungen jedoch nicht direkt auf die menschliche Samenblase zu übertragen. Beim Menschen sind Effekte von Genistein durch seine Affinität zum ER-β, welcher in der männlichen Samenblase exprimiert wird, nicht auszuschließen.

6. Literaturverzeichnis

Abe T (1999): Infantile leukaemia and soybeans: a hypothesis. Leukaemia 13:317-20

Adams NR (1995): Detestion of the effcts of phytoestrogens on sheep and cattle. J Animal Sci 73:1509-15

Adlercreutz H, Banwart C, Wahala KT (1993): Inhibition of human aromatase by mammalian lignans and isoflavonoid phytoestrogens. J Steroid Biochem Mol Biol 44:147-53

Adlercreutz H, Mazur W, Bartels P, Elomaa V, Watanabe S, Wahala K, Landstrom M, Lundin E, Bergh A, Damber JE et al., (2000): Phytoestrogens and prostate disease. J Nutr 130: 658S-9S.

Andlauer W, Kolb J, Fürst P (2000 a): Isoflavones from tofu are absorbed and metabolized in the isolated rat small intestine. J Nutr 130:3021-7

Andlauer W, Kolb J, Siebert K, Furst P (2000 b): Assessment of resveratrol bioavailabilty in the small intestine of the rat. Drug Exp Clin Res 26:47-55

Andlauer W, Kolb J, Stehle P, Fürst P (2000 c): Absorption and metabolism of genistein in isolated rat small intestine. J Nutr 130:843-6

Baird D, Umbach D (1995): Dietary intervention study to access estrogenicity of dietary soy, among postmenopausal women. Clin Endocrin 80:1685-90

Bakhit RM, Klein BP, Essex-Sorlie D (1994): Intake of 25 g of soybean protein with or without soybean fibre alters plasma lipids in men with elevated cholesterol concentrations. J Nutr 124:213-22

Barnes S (1995): Effect of genistein on in vitro and in vivo models of cancer. J Nutr 125: 777S-783S

Barnes S, Peterson TG, Coward L (1995): Use of genistein-containing soy matrices in chemoprvention trials for breast and prostate cancer. J Cell Biochem; 22: 181-187

Bennets HW, Underwood EJ, Shier FL (1946): A specific breeding problem of sheep on subterranean clover pastures in Western Australia. Aust Vet J 22:2-12

Berry SJ, Coffey DS, Walsh PC et al. (1984): The development of human benign hyperplasia with age. J Urol 132:474-479

Bianco J, Handelsmann DJ, Pedersen J (2002): Direct response of the murine prostate gland and seminal vesicles to estradiol. Endocrinology 143:4922-4933

Bouker KB, Hilakivi-Clarke L (2000): Genistein: does it prevent or promote breast cancer? Environ Health Perspect 108:701-708

Bowe J, Li XF, Kinsey-Jones J, Heyerick A, Brain S, Milligan S, O´Byrne K (2006): The hop phytoestrogen 8-prenylnaringenine reverses the ovariectomy-induced rise in skin temperature in an animal model of menopausal hot flashes. J Endocrinol 191:399-405

Bowers JL, Tyulmenkov VV, Jernigan SC, Klinge CM (2000): Resveratrol acts as a mixed agonist/antagonist for estrogen receptors alpha and beta. Endocrinology 141: 3657-36679)

Brevini TA, Zanetto SB, Cillo F (2005): Effects of endocrine disruptors on developmental and reproductive functions. Curr Drug Targets Immune Endocrin Metab Disord 5:1-10

Brolin J, Skoog L, Ekman P (1992): Immunohistochemistry and biochemistry i detection of androgen, progesteron, and estrogen receptors in benign and malignant human prostatic tissue. Prostate 20:281-95

Carter HB, Pearson JD, Metter EJ, Chan DW, Andres R, Fozard JL, Rosner W, Walsh PC (1995): Longitudinal evaluation of serum androgen levels in men with and without prostate cancer. Prostate 27:25-31

Carter HB, Piantadosi S, Isaacs JT (1990): Clinical evidence for and implication of the multistep development of prostate cancer. J Urol 143:742-746

Chau MN, El Touny LH, Jagadeesh S, Banerjee (2007): Physiologically achievable concentrations of genistein enhance telomerase activity in prostate cancer cells via the activation of STAT3. Carcinogenesis 28:2282-90

Christoffel J: Das endokrine Potential von Genistein, Resveratrol und 8-Prenylnaringenin in der Gonaden- und Schilddrüsenachse und assoziierten Organen. Math.-Naturwiss. Diss., Kiel 2004

Christoffel J, Rimoldi G, Wuttke W (2006): Effects of 8-prenylnaringenin on the hypothalamo-pituitary-uterine axis in rats after 3-month treatment. J Endocrinol 188:397-405

Cook JC, Mullin LS, Frame SR, Biegel LB (1993): Investigation of a mechanism for Leydig cell tumorigenesis by Linuron in rats. Toxicol Appl Pharmacol 119:195-204

Cooke PS, Selvaraj V, Yellayi S (2006) Genistein, estrogen receptor, and the aquired immune response. J Nutr 136:704-708

Cos P, De Bruyne T, Apers S, Vanden Berghe D, Pieters L, Vlietinck AJ (2003): Phytoestrogens: Recent developments. Planta Med 69:589-599

Crawford ED (2003): Epidemiology of prostate cancer. Urology 62 (Suppl. 6A):3-12

Cunha GR, Donjacour AA, Cooke PS et al. (1987): The endocrinology and developmental biology of the prostate. Endocrin Rev 8:338-362

Davies P, Eaton CL (1991): Regulation of prostate growth. J Endocrinol 131(1):5-17)

de Lemos (2001): Effects of phytoestrogens genistein and daidzein on breast cancer growth. Ann Pharmacother 35 (9):1118-21

Delmulle L, Berghe TV, Keukeleire DD, Vandenabeele P (2008): Treatment of PC-3 and DU145 prostata cancer cell by prenylflavonoids from hop (*humulus lupulus L.*) induces a caspase-independent form of cell death. Phytother Res 22:197-203

Denis L, Morton MJ, Griffiths K (1999): Diet and its preventive role in prostatic disease. Eur Urol 35:377-87

Deroo BJ, Korach KS (2006): Estrogen receptors and human disease. J Clin Invest 1116:561-70

Dobrzycka KM, Townson SM, Jiang S, Oesterrecih (2003): Estrogen receptor corepressors – A role in human breast cancer. Endocr Relat Cancer 10:517-536

Doherty JJ, Smith JS, Fu MM, Stoner T, Booth T (2004): Effect of topically applied resveratrol on cutaneous herpes simplex virus infection in hairless mice. Antiviral Res 61:19-26

Ellem SJ, Risbridger GP (2010): Aromatase and regulating the estrogen:androgen ratio in the prostate gland. J Steroid Biochem Mol Biol 118:246-51

Erlandsson MC, Ohlsson C, Gustafsson JA, Carlsten H (2001): Role of estrogen receptors alpha and beta in immune organ development and in estrogen-mediated effects on thymus. Immunology 103:17-25

Evans BA, Griffiths K, Morton MS (1995): Inhibition of 5α-reductase in genital skin fibroblasts and prostatic tissue by dietary lignans and isoflavonoids. J Endocrinol 147:295-302

Farnsworth WE (1996): Roles of estrogen and SHBG in prostate physiology. Prostate 28(1):17-23

Feldmann BJ, Feldmann D (2001): The development of androgen-independent prostate cancer. Nat Rev Cancer 1:34-48

Fukutake M, Tahakashi M, Ishida K, Kawamura H, Sugimura T, Wakabayashi K (1996): Quantification of genistein and genistin in soybeans and soybean products. Food Chem Toxicol 34:457-61

Gann PH, Hennekens CH, Ma J et al. (1996): Prospective study of sex hormone levels and risk of prostate cancer. J Natl Cancer Inst 88:1118-1126

Ganry O (2005): Phytoestrogens and prostate cancer risk. Prevent Med 41:1-6

Gooren LJG, Toorians AWFT (2003): Significance of oestrogens in male (patho)physiology. Ann Endocrinol 64 (2):126-135

Green S, Walter P, Greene G et al. (1986): Cloning of the human estrogen receptor cDNA. J Steroid Biochem 24:77-83

Griffiths K, Denis L, Turkes A, Morton MS (1998): Phytoestrogens and diseases of the prostate gland. Baillieres Clin Endocrinol Metab 12(4):625-647

Gupta C (2000): Reproductive malformations of the male offspring following maternal exposure to estrogenic chemicals. Proc Soc Exp Biol Med 224:57-60

Gustafsson JA (1999): Estrogen receptor β – a new dimension in estrogen mechanism of action. J Endocrinol 163:379-383

Haas GP, Sakr WA (1997): Epidemiology of prostate cancer. CA Cancer J Clin 47:273-287

Härkönen PL, Mäkelä SI (2004): Role of estrogens in development of prostate cancer. J Steroid Biochem Mol Biol 92:297-305

Hammerer P, Graefen M, Steuber T, Huland H (2000): Chemoprävention des Prostatakarzinoms. Urologe 39:304-308

Han, Zheng, Bastrinetto, Chabot, Quirien (2004): Neuroprotective effects of resveratrol against ß-amyloid-induced neurotoxicity in rat hippocampal neurons. Br J Pharmacol 141:997-1005

Hany J, Nagel R (1995): Nachweis von UV-Filtersubstanzen in Muttermilch. Dtsch Lebensmittel-Rundsch 91:341-345

Harris HA, Katzenellenbogen JA, Katzenellenbogen BS (2002): Characterization of the biological roles of the estrogen receptors, ERalpha and ERbeta, in estrogen target tissues in-vivo through the use of an ERalpha-selective ligand. Endocrinology 143:4172-4177

Hendry WJ 3rd, Weaver BP, Naccarato TR, Khan SA (2006): Differential progression of neonatal diethylstilbestrol-induced disruption of the hamster testis and seminal vesicle. Reprod Toxicol 21:225-40

Hertrampf T, Gruca MJ, Seibel J, Laudenbach U, Fritzemeier KH, Diel P (2007): The bone-protective effect of the phytoestrogen genistein is mediated via ER alpha-dependent mechanisms and strongly enhanced by physical activity. Bone 40(6):1529-35

Heyerick A, Vervarcke S, Depypere H, Bracke M, De Keukeleire D (2006): A first prospective, randomized, double-blind, placebo-controlled study on the use of a standardized hop extract to alleviate menopausal discomforts. Maturitas 54:164-75

Hilakivi-Clarke L, Onojafe I, Raygada M, Cho E, Skaar T, Russo I, Clarke R (1999): Prepubertal exposure to zearalenone or genistein reduces mammary tumorigenesis. Br J Cancer 80:1682-1688

Holzbeierlein JM, McIntosh J, Thrasher JB (2005): The role of soy phytoestrogens in prostate cancer. Curr Opin Urol 15:17-22

Hsieh TC, Wu JM (1999): Differential effects on growth, cell cycle arrest, and induction of apoptosis by resveratrol in human prostate cell lines. Exp Cell Res 249:109-115

Hsieh CY, Santell RC, Haslam SZ, Helferich WG (1998): Estrogenis effects of genistein on the growth of estrogen receptor-positive human breast cancer (MCF-7) cells in vitro and in vivo. Cancer Res 58:3833-3838

http://www.cancer.org; American Cancer Society, Atlanta 2007

http://www.who.int; WHO, Genf 2002

Hur HG, Rafii F (2000): Biotransformation of the isoflavonoids biochanin A, formononetin and glycitein by Eubacterium limosum. FEMS Microbiol Lett 192:21-5

Jang M, Pezzuto JM (1999): Cancer chemoprotective activity of resveratrol. Drugs Exp Clin Res 25:65-220

Jang M, Cai L, Udeani GO, Slowing KV, Thomas CF, Beecher CWW, Fong HHS, Farnsworth NR, Kinghorn AD, Mehta RG, Pezzuto JM (1997): Cancer chemoprevention activity of resveratrol, a natural product derived from grapes. Science 275:218-220

Jin B, Turner L, Zhou EL, Handelsman DJ (1999): Ethnicity and migration as determinants of human prostate size. J Clin Endocrinol Metab 84:3613-3619

Kang IH, Kim HS, Shin JH, Kim TS, Moon HJ, Kim IY, Choi KS et al., (2004): Comparison of antiandrogenic activity of flutamide, vinclozolin, procymidone, linuron, and p,p`-DDE in rodent 10-day Herschberger assay. Toxicology 199:145-59

Kaufman JM, Vermeulen A (1997): Declinin gonadal function in elderly men. Baillieres Clin Endocrinol Metab 11:289-309

Kent Osborne C, Schiff R (2005): Estrogen receptor biology: Continuing progress and therapeutic implications. J Clin Oncol 23:1616-1622

Knobil E, Neill JD (Hrsgb.): Physiology of reproduction, Vol. 1, Raven Press New York 1988

Konishi N, Nakaoka S, Hiasa Y, Kitahori Y, Ohshima M, Samma S, Okajima E (1993): Immunhistochemical evaluation of estrogen receptor status in benign prostatic hypertrophy and in prostate carcinoma and the relationship to efficacy of endocrine therapy. Oncology 50:259-63

Korach KS, Migliaccio S, Davis VL: Estrogens. In: Munson PL (ed) Principles of Pharmacology-Basic Concepts and Clinical Applications. Chapman and Hall, New York 1994, 809-825

Krieg M, Nass R Tunn S (1993): Effect of aging on endogenous level of 5-alpha-dihydrotestosterone, testosterone, estradiol, and estrone in epithelium and stroma of normal and hyperplastic human prostate. J Clin Endocrinol Metab 82: 2403-2409

Kuiper GG, Enmark E, Pelto-Huikko M, Nilsson S, Gustaffson JA (1996): Cloning of a novel estrogen receptor expressed in rat prostate and ovary. Proc Natl Acad Sci USA 93:5925-5930

Kuiper GG, Carlsson B, Grandien K, Enmark E, Häggblad J, Nilsson S, Gustafsson JA (1997): Comparison of the ligand binding specificity and transcript tissue distribution of estrogen receptors α and β. Endocrinology 138:863-70

Kuiper GG, Lemmen JG, Carlsson B, Corton JC, Safe SH, van der Saag PT, van der Burg B, Gustaffson JA (1998): Interaction of estrogenic chemicals and phytoestrogens with estrogen receptor β. Endocrinology 139:4252-63

Lamartiniere CA, Moore JB, Bown NM, Thompson H, Hardin MJ, Barnes S (1995): Genistein supresses mammary cancer in rats. Carcinogenesis 16:2833-2840

Lambright C, Ostby J, Bobseine K, Wilson V, Hotchkiss AK, Mann PC, Gray LE Jr (2000): Cellular and molecular mechanisms of action of linuron: an antiandrogenic herbicide that produces reproductive malformations in male rats. Toxicol Sci 56:389-

399

Lampe JW, Martini MC, Kurzer MS, Adlercreutz H, Slavin JL (1994): Urinary lignan and isoflavonoid excretion in premenopausal women consuming flaxseed powder. Am J Clin Nutr 60:122-8

Leav I, Merk FB, Ofner P, Goodrich G, Kwan PW, Stein BM, Sar M, Stumpf WE (1978): Bipotentiality of response to sex hormones by the prostate of castrated or hypophysectomized dogs. Direct effects of estrogen. Am J Pathol 93:69-92

Leav I, Lau KM, Adams JY, McNeal JE, Taplin ME, Wang J, Singh H, Ho SM (2001): Comparative studies of the estrogen receptors β and α and the androgen receptor in normal human prostate gland, dysplasia, and in primary and metastatic carcinoma. Am J Pathol 159:79-92

Lee HP, Gourley L, Duffy SW (1991): Dietary effects on breast-cancer risk in Singapore. Lancet 337:1197-200

Lee MM, Gomez SL, Chang JS, Wey M, Wang RT, Hsing AW (2003): Soy and isoflavone consumption in relation to prostate cancer risk in China. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 12:665-8.

Maffini MV, Rubin BS, Sonnenschein C, Soto AM (2006): Endocrine disruptors and reproductive health: The case of bisphenol-A. Mol Cell Endocrinol 254–255:179–186

McEwen BS, Alves SE (1999): Estrogen actions in the central nervous system. Endocr Rev 20:279-307

McInerney EM, Weis KE, Sun J et al. Transcription activation by the human estrogen receptor subtype beta (ER-beta) studied with ER-alpha and ER-alpha-chimeras (1998): Endocrinology 139:4513-4522

McIntyre BS, Barlow NJ, Duncan GW, Maness SC, Gaido KW, Foster PMD (2000): Effects of in utero exposure to Linuron on androgen-dependent reproductive development in the male Crl:CD(SD)BR rat. Toxicol Appl Pharmacol 167:87-99

McIntyre BS, Barlow NJ, Foster PM (2002): Male rats exposed to linuron in utero exhibit permanent changes in anogenital distance, nipple retention, and epididymal malformations that result in subsequent testicular atrophy. Toxicol Sci 65:62-70

McPherson SJ, Wang H, Jones ME, Pedersen J, Iismaa TP, Wreford N, Simpson ER, Risbridger GP (2001): Elevated androgens and prolactin in aromatase-deficient mice cause enlargement, but not malignancy, of the prostate gland. Endocrinology 142:2458-2467

Milligan SR, Kalita JC, Heyerich A, Rong H, De Cooman L, De Keukeleire D (1999): Identification of a potent phytoestrogen in hops (Huulus lupulus L.) and beer. J Clin Endocr Metab 83:2249-52

Milligan SR, Kalita JC, Pocock V, van de Kauter V, Stevens JF, Deinzer ML et al. (2000): The endocrine activity of 8-prenylnaringenin and related hop (Humulus lupulus L.) flavonoids. J Clin Endocr Metab 85:4912-5

Morales A, Heaton JP, Carson CC (2000): Andropause: a misnomer for a true clinical entity. J Urol 163:705-712

Morito K, Hirose T, Kinjo T, Ogawa S, Inone S, Muramatsu M, Masamune Y (2001): Interaction of phytoestrogens with estrogen receptors α and β. Biol Pharm Bull 24:351-6

Morito K, Aomori T, Hirose T, Kinjo J, Hasegawa J, Ogawa S et al. (2002): Interaction of phytoestrogens with estrogen receptor α and β (II). Biol Pharm Bull 15:433-9

Mosselmann S, Polman J, Dijkema R (1996): ER-beta: Identification and characterisation of a novel human estrogen receptor. FEBS Lett 392:49-53

Muir CS, Nectoux J, Staszewski J (1991): The epidemiology of prostate cancer: geographical distribution and time trends. Acta Oncol 30:133-140

Nagtegaal M, Ternes TA, Baumann W, Nagel R (1997): UV-Filtersubstanzen in Wasser und Fischen. UWSF-Z Umweltchem Ökotox 9:79-86

Naik HR, Lehr JE, Pienta KJ (1994): An in vitro and in vivo study of antitumor effects of genistein on hormone refractory prostate cancer. Anticancer Res 14: 2617-9

Neckers L, Ivy SP (2003): Heat shock protein 90. Curr Opin Oncol 15:419-424

Nellemann C, Dalgaard M, Lam HR, Vinggaard AM (2003): The combined effects of vinclozolin and procymidone do not deviate from expected additivity in-vitro and in-vivo. Toxicol Sci 71:251-262

Newbold RR, Banks EP, Bullock B, Jefferson WN (2001): Uterine adenocarcinoma in mice treated neonally with genistein. Cancer Res 61:4325-4328

Okereke CS, Abdel-Rhaman MS, Friedman MA (1994): Disposition of benzophenone-3 after dermal administration in male rats. Toxicol Lett 73:113-122

Opipari AW, Tan L, Boitano AE, Sorenson DR, Aurora A, Liu JR (2004): Resveratrol induced autophygocytosis in ovarian cancer cells. Cancer Res 64:696-703

Orwoll ES (2001): Androgens: Basic Biology and Clinical Implication. Calcif Tissue Int 69:185–188

Osborne CK, Schiff R, Fuqua SA, Shou J (2001): Estrogen receptor: Current understanding of its activation and modulation. Clin Cancer Res 7 (Suppl. 12) :4338s-4342s

Ostby J, Kelce WR, Lambright C, Wolf CJ, Mann P, Gray LE Jr. (1999): The fungicide procymidone alters sexual differetiation in the male rat by acting as an androgen-receptor antagonist in vivo and in vitro. Toxicol Ind Health 15:80-93

Patchev VK, Schroeder J, Goetz F, Rohde W, Patchev AV (2004): Neurotropic action of androgens: principles, mechanisms and novel targets. Exp Gerontol 39:1651-1660

Pelletier G (2002): Effects of estradiol on prostate epithelial cells in the castrated rat J Histochem Cytochem 50(11):1517-1523

Pelletier G, Labrie C, Labrie F (2000): Localization of oestrogen receptor α, oestrogen receptor β and androgen receptor in the rat reproductive organs. J Endocrinol 165:359-370

Potter SM, Baum JA, Teng H, Stillman RJ, Shay NF, Erdman JW (1998): Soy protein and isovlavones: their effects on blood lipids and bone density in postmenopausal women. Am J Clin Nutr 68:1375S-9S

Pylkkänen L, Mäkalä S, Santti R (1996): Animal models for the preneoplastic lesions of the prostate. Eur Urol 30:243-8

Radlmaier A, Eickenberg HU, Fletcher MS et al. (1996): Estrogen reduction by aromatase inhibition for benign prostatic hyperplasia: results of a double-blind, placebo-controlled, randomized clinical trial using two doses of the aromatase-inhibitor atamestane. Atamestane Study Group. Prostate 29(4):199-208

Ranjan P, Dalela D, Sankhwar SN (2006): Diet and benign prostatic hyperplasia: implication for prevention. Urology 68:470-476

Raus K, Brucker C, Gorkow C, Wuttke W (2006): First-time proof of endometrial safety of the special black cohosh extract (Actaea or Cimicifuga racemosa extract) CR BNO 1055. Menopause 13:678-91

Ray PS, Maulik G, Cordis GA, Bertelli AA, Bertelli A, Das DK (1999): The red wine antioxidant resveratrol protects isolated rat hearts from ischemia reperfusion injury. Free Radic Biol Med 27:160-169

Richter CA, Taylor JA, Ruhlen RL, Welshons WV, vom Saal FS (2007): Estradiol and bisphenol A stimulate androgen receptor and estrogen receptor gene expression in fetal mouse prostate mesenchyme cells. Environ Health Perspect 111:902-908

Riede UN, Werner M, Schäfer HE : Allgemeine und spezielle Pathologie; 5. Auflage, Thieme Verlag, Stuttgart 2004, 933

Riggs BL, Khosla S, Melton LJ (2002): Sex steroids and conservation of the adult skeleton. Endocr Rev 23:279-302

Rimoldi G, Christoffel J, Wuttke W (2006): Morphologic changes induced by oral long-term treatment with 8-prenylnaringenin in the uterus, vagina, and mammary gland of castrated rats. Menopause 13:669-77

Rimoldi G, Christoffel J, Seidlova-Wuttke D, Jarry H, Wuttke W (2007): Effects of chrinic genistein treatment in mammary gland, uterus, and vagina. Environ Health Perspect 115 (Suppl. 1): 62-8

Robert-Koch-Institut (Hrsg) und die Gesellschaft der epidemiologischen Krebsregister in Deutschland e. V. (Hrsg): Krebs in Deutschland 2005/2006. Häufigkeit und Trends. 7. Auflage. Robert-Koch-Institut, Berlin 2010, 72

Ross RK, Bernstein L, Judd H, Hanisch R, Pike M, Henderson B (1986): Serum testosterone levels in young black and white men. J Natl Cancer Inst 76:45-48

Royuela M, de Miguel MP, Bethencourt FR, Sanchez-Chapado M, Fraile B, Arenas MI, Paniagua R (2001): estrogen receptors α and β in the normal, hyperplastic and carcinomatous human prostate. J Endocrinol 168:447-454

Sanderson JT, Boerma J, Lansbergen GW, van den Berg M (2002): Induction and

inhibition of aromatase (CYP19) activity by various classes of pesticides in H295R human adrenocortical carcinoma cells. Toxicol Appl Pharmacol 182:44-54

Santibanez JF, Navarro A, Martinez J (1997): Genistein inhibits proliferation and in vitro invasive potential of human prostatic cancer cell lines. Anticancer Res 17:1199-204

Schlumpf M, Cotton B, Conscience M, Haller V, Steinmann B, Lichtensteiger W (2001): In vitro and in vivo estrogenicity of UV-screens. Environ Health Perspect 109:239-244

Schlumpf M, Jarry H, Wuttke W, Ma R, Lichtensteiger W (2004): Estrogenic activity and estrogen receptor β binding of the UV filter 3-benzylidene camphor: Comparison with 4-methylbenzylidene camphor. Toxicology 199:109-120

Schmitt E, Dekant W, Stopper H (2001): Assaying the estrogenicity of phytoestrogens in cells of different estrogen sensitive tissues. Toxicol In Vitro 15:433-9

Sehmisch S, Hammer F, Christoffel J, Seidlova-Wuttke D, Tezval M, Wuttke W, Stuermer KM, Stuermer EK (2008): Comparison of the Phytohormones Genistein, Resveratrol and 8-Prenylnaringenin as Agents for Preventing Osteoporosis. Planta Med 74:794-801

Seidlova-Wuttke D, Jarry H, Wuttke W (2004): Pure estrogenic effect of benzophenone-2 (BP2) but not of bisphenol A (BPA) and dibutylphthalate (DBP) in uterus, vagina and bone. Toxicology 205:103-1129

Seidlova-Wuttke D, Jarry H, Christoffel J, Rimoldi G, Wuttke W (2005): Effects of bisphenol-A (BPA), dibutylphtalate (DBP), benzophenone -2 (BP2), procymidone (Proc), and linurone (Lin) on fat tissue, a variety of hormones and metabolic parameters: a 3 months comparison with effects of estradiol (E2) in ovarectomized (ovx) rats. Toxicology 213:13-24

Setchell KDR, Brown NM, Zimmer-Nechemias L, Brashear WT, Wolfe BE, Kirschner AS, Heubri JE (2002): Evidence for lack of absorption of soy isoflavone glycosides in humans, supporting the crucial role of intestinal metabolism for bioavailibility. Am J Clin Nutr 76:447-53

Shimizu H, Ross RK, Bernstein et al. (1991):Cancers of the prostate and breast among Japanese and white immigrants in Los Angeles County. Br J Cancer 63:963-966

Steinberg GD, Cater BS, Beaty TH et al. (1990): Family history and the risk of prostate cancer. Prostate 17:337-347

Sultan C, Balaguer P, Terouanne B, Georget V,Paris F, Jeandel C, Lumbroso S, Nicolas JC (2001): Environmental xenoestrogens, antiandrogens and disorders of male sexual differentiation. Mol Cell Endocrinol 178:99–105

Suzuki K, Takezawa Y, Suzuki T, Honma S, Yamanaka H (1994): Synergistic effects of estrogen with androgen on the prostate of androgen-administered rats and 5-alpha-reductase activity. Prostate 25:169-176

Suzuki K, Ito K, Suzuki T, Honma S, Yamanaka H (1995): Synergistic effects of estrogen and androgen on the prostate: effects of estrogen on androgen- and estrogen-receptors, BrdU uptake, immunohistochemical study of AR, and responses to antiandrogens. Prostate 26:151-163

Svechnikov K, Supornsilchai V, Strand ML, Wahlgren A, Seidlova-Wuttke D, Wuttke W, Söder O (2005): Influence of long-term dietary administration of procymidone, a fungicide with anti-androgenic effects, ort he phytoestrogen genistein to rats on the pituitary-gonadal axis and Leydig cell steroidogenesis. J Endocrinol 187:117-124

Swan SH, Main KM, Lin F, Stewart SL, Kruse RL, Calafat AM, Mao CS, Redmon JB, Ternand CL, Sullivan S, Teague JL, the Study for Future Families Research Team (2005): Decrease in anogenital distance among infants with prenatal phthalate exposure. Environ Health Perspect 113:1056-1061

Takeda H, Chodak G, Mutchnik S, Nakamoto T, Chang C (1990): Immunhistochemical localization of androgen receptor with mono- and polyclonal antibodies to androgen receptor. J Endocrinol 126:17-25

Thomas JA, Keenan EJ (1994): Effects of estrogens on the prostate. J Androl 15:97-99

Thompson IM, Lucia SM, Redman MW, La Rosa FG, Parnes HL, Lipman SM, Coltman CA (2007): Finasteride decreases the risk of prostate intraepithelial neoplasia. J Urol 178:107-110

Thrasher JB: Prostate cancer: causes, risk factors and prevention. In: New frontiers in the diagnosis and treatment of prostatic diseases. Medical Education Collaborative, Golden, Colorado 1999; 8-19

Tinwell H, Friry-Santini C, Rouquié D, Belluco S, Elies L,Pallen C, Bars R (2007): Evaluation of the antiandrogenic effects of flutamide, DDE and linuron in the weanling rat assay using organ weight, histopathological and proteomic approaches. Toxicol Sci 100:54-65

Tomic R, Bergmann G (1987): Hormonal effects o f cessation of oestrogen treatment for prostatic carcinoma. J Urol 138:801-803

Trapman J, Brinkmann OA (1996): The androgen receptor in prostate cancer. Pathol Res Pract 192:752-760

Vermeulen A, Kaufman JM, Giagulli VA (1996): Influence of some biological indexes on SHBG and androgen levels in aging obese males. J Clin Endocrinol Metab 81:1821-1826

Vermeulen A, Kaufman JM, Goemaere S, Pottelberg van I (2002): Estradiol in elderly men. Aging Male 5:98-1029

Walsh PC, Retik AB, Stamey TA, Darracott VE (Hrsgb.): Campbell' s Urology, 6 th ed. Vol. 1, WB Saunders, Philadelphia 1992

Wang H, Murphy PA (1994): Isoflavone composition of American and Japanese soybeans in Iowa: effects of variety, crop year and location. J Agr Food Chem 42:1674-7

Weihua Z, Saij S, Makinen S, Cheng G, Jensen EV, Warner M, Gustafsson JA (2000): Estrogen receptor (ER) beta, a modulator of ERalpha in the uterus. Proc Natl Acad Sci USA 97 (11):5936-41

Wu CP, Gu FL (1991): The prostate in eunuchs. Prog Clin Biol Res 370:249-255

Wuttke W, Jarry H, Becker T, Schultens A, Christoffel V, Gorkow C, Seidlova-Wuttke D (2003): Phytoestrogens: endocrine disruptors or replacement for hormone replacement therapy? Maturitas 44 (Suppl. 1):9-20

Wuttke W, Rimoldi G, Christoffel J, Seidlova-Wuttke D (2006) Plant extracts for the treatment of menopausal women: Safe? Maturitas 55 (Suppl. 1):92-100

Yamashita S (2004): Localization of estrogen and androgen receptors in male reproductive tissues of mice and rats. Anat Rec Part A 279A:768-778

Zykova TA, Zhu F, Zhai X, Ma WY, Ermakova SP, Lee KW, Bode AM, Dong Z (2008): Resveratrol directly targets COX-2 to inhibit carcinogenesis. Mol Carcinog 47(10):797-805

Danksagung

Herrn Prof. Dr. med. W. Wuttke danke ich für die Bereitstellung des Themas, die Betreuung und die Arbeitsmöglichkeiten in seiner Abteilung.

Ich danke Frau PD Dr. med. D. Seidlová-Wuttke für die Betreuung und Unterstützung während der gesamten Dauer der Anfertigung der Arbeit, sowie allen Mitarbeitern des Departements für Endokrinologie der Medizinischen Fakultät der Universität Göttingen.