

## ANHANG

Nachfolgend werden einige besonders interessante Studien, die von Martin u.a. (2021) berücksichtigt wurden, näher beschrieben.

### Christiansen u.a. (2009)

Das Experiment von Christiansen u.a. (2009), bei dem die Ausprägung der männlichen Geschlechtsorgane von Ratten untersucht wurde, ist mit Abstand die komplexeste Studie und zugleich eine, die einer möglichen realen Situation am nächsten kommt. Im Mutterleib und während der ersten 16 Lebenstage wurden die Nachkommen von trächtigen Ratten mit einem Gemisch von vier antiandrogene Substanzen in fest definierten Proportionen in drei verschiedenen Dosierungen behandelt. Das oral verabreichte Gemisch bestand aus zwei Fungiziden (Vinclozolin und Prochloraz) dem Weichmacher DEHP (Diethylhexylphthalat, der mit einem globalen Marktanteil von rund 50% am häufigsten verwendete Weichmacher) und dem Prostata-Medikament Finasterid. Im Anschluss an den Behandlungszeitraum erfolgte eine teils quantitative, teils semiquantitative Bewertung der Entwicklung der männlichen Geschlechtsorgane. Hervorzuheben ist, dass zwar alle vier Substanzen bekannte Antiandrogene sind, also Stoffe, die die Entwicklung bzw. Reifung der männlichen Geschlechtsorgane beeinträchtigen, aber sie wirken über vier verschiedene Mechanismen.

Während für vier Parameter (unter anderem die Gewichte von zwei Organen) eine additive Wirkung des Gemischs demonstriert wurde, zeigte sich bei der Häufigkeit bzw. beim Schweregrad beobachteter Missbildungen der männlichen Geschlechtsorgane eine vierfache Wirkungsverstärkung.

**Die Studie ist aus zwei Gründen bemerkenswert. Erstens belegt sie, dass synergistische Effekte übersehen werden können, wenn man die falschen bzw. eine ungenügende Zahl von verschiedenen Parametern auswählt. Zum zweiten widerlegt sie die bei den Behörden verbreitete Ansicht (die Autor\*innen nehmen auf die von den britischen und norwegischen Behörden vertretenen Ansichten Bezug), dass es bei Chemikaliengemischen in niedrigen, als unbedenklich betrachteten Dosierungen (den so genannten No-observed-adverse effect levels, NOAELs) zu keiner Wirkungsverstärkung kommen würde.**

### Kjaerstad u.a. (2010)

Kjaerstad und Mitautor\*innen führten *in-vitro* Untersuchungen verschiedener Stoffgemische in Zellkulturen durch. Diese Art von Untersuchungen haben Vor- und Nachteile. Die Vorteile sind, dass sie sich schnell und kostengünstig durchführen lassen und dass sie in der Regel auf spezifischen einen Wirkungsmechanismus ausgelegt sind, so dass bei beobachteten Effekten Ursache und Wirkung in der Regel klar benannt werden können. Der Nachteil ist, dass die komplexe Realität von *in-vivo* Studien nicht abgebildet wird, was zu vereinfachten Aussagen führt. *In-vitro* Untersuchungen liefern also erste Aussagen, lassen jedoch keine endgültigen Schlussfolgerungen zu.

Das Bemerkenswerte an der Studie von Kjaerstad u.a. (2010) ist die Stärke der festgestellten synergistischen Wirkungen. So verglichen sie die theoretisch zu erwartende Wirkung einer Mischung

aus drei Fungiziden (Epoconazol, Propiconazol und Tebuconazol) auf die Synthese des weiblichen und männlichen Geschlechtshormons (Östradiol und Testosterone) und stellten – nach den Berechnungen von Martin u.a. (2021) – eine rund zehnfache Wirkungsverstärkung fest. Ein anderes Stoffgemisch – so genannte Parabene, die ebenfalls fungizid wirken und als Konservierungsmittel Lebensmitteln, Kosmetika und Arzneimitteln hinzugefügt werden – zeigte eine hundertfache Wirkungsverstärkung in einem als *Androgen Reporter Gene Assay* bezeichneten Testsystem. Einerseits wurden derart ausgeprägte Wirkungsverstärkungen nur selten beobachtet (siehe Martin u.a. 2021) und *in-vitro* Testergebnisse lassen sich nicht unmittelbar auf *in-vivo* Situationen übertragen. Andererseits wurden in der Vergangenheit zumeist nur Zwei-Komponenten-Gemische untersucht, was eine Vereinfachung der realen Situation darstellt.

**Deshalb schlussfolgern Kjaerstad u.a. (2010), dass die von ihnen durchgeführten Experimente zeigen, dass die Vorhersage von Additivität stark von der Anzahl der Chemikalien, ihrer Wirksamkeit und den verwendeten Konzentrationen in den ausgewählten Modellen abhängt. Mit anderen Worten, ein falsches Studien-Design kann schnell zu falschen Aussagen und zum Übersehen von Effekten führen.**

#### **Mutlu u.a. (2016)**

Mutlu u.a. (2016) verabreichten polychlorierte Biphenyle (PCBs), die dafür bekannt sind, dass sie oxidativen Stress erzeugen, über einen Zeitraum von 14, 31 oder 51 Wochen (fünf Tage pro Woche) an Ratten. Konkret ging es um die orale Verabreichung von PCB 126, einem dioxin-artigen Molekül in der Dosierung von einem Mikrogramm pro Kilogramm Körpergewicht und Tag und um das nicht-dioxin-artige PCB 153 (1 mg/kg/Tag). Die beiden Substanzen wurden entweder allein oder kombiniert verabreicht, verbunden mit der Entdeckung einer bis zu 20-fachen Wirkungsverstärkung bei Erbgutschäden, die durch oxidativen Stress hervorgerufen wurden. Oxidativer Stress (Überschuss an hochreaktiven Sauerstoffmolekülen, die im Körper nicht schnell genug deaktiviert werden können) ist als karzinogener Mechanismus bekannt, bei dem zunächst Schäden am genetischen Material hervorgerufen werden (Erzeugung von *DNA Adducts*), was dann zur Entstehung von Krebs führt. Im Rahmen des *National Toxicology Program* der USA wurden Krebsstudien an Ratten mit PCB 126, PCB 153 und der Kombination aus beiden PCBs durchgeführt, die eine entsprechende Erhöhung der Krebsinzidenzen dokumentierten.

**PCBs sind keine Pestizide, sondern persistente, seit 1979 verbotene Industriechemikalien (Weichmacher), aber die Ergebnisse illustrieren eine Möglichkeit der Wirkungsverstärkung, zu der es auch unter ähnlichen Bedingungen kommen könnte, denn die Entstehung von oxidativem Stress ist nicht auf PCBs beschränkt, sondern ein immer wieder anzutreffender, auch bei Pestiziden beobachteter Effekt, der unter anderem für Glyphosat belegt ist (vgl. IARC 2015). Eine weitere, gut belegte Quelle für die Erzeugung von oxidativem Stress ist Feinstaub, verbunden mit der Möglichkeit einer Entstehung von Lungenkrebs (Valavanidis u.a. 2013). Hier ergibt sich zum Beispiel die Frage, ob es beim Herbizid Prosulfocarb, für das eine erhöhte Inzidenz von Lungenkrebs bei weiblichen Mäusen beobachtet wurde (vgl. Clausing 2020) zu einer Wirkungsverstärkung durch Feinstaub kommen könnte.**

## Quellen

- Clausing, P., 2020. Baumrinden-Monitoring der Pestizid-Belastung über die Luft: Eine toxikologische Bewertung. <https://www.enkeltauglich.bio/wp-content/uploads/2020/02/Tox-Bewertung-Clausing-02.pdf> (letzter Zugriff 02.08.2021) Peter-
- Christiansen, S., Scholze, M., Dalgaard, M., Vinggaard, A.M., Axelstad, M., Kortenkamp, A., Hass, U., 2009. Synergistic Disruption of External Male Sex Organ Development by a Mixture of Four Antiandrogens. *Environmental Health Perspectives* 117, 1839–1846. <https://doi.org/10.1289/ehp.0900689>
- EFSA Panel on Plant Protection Products and their Residues (PPR), 2013a. Scientific Opinion on the identification of pesticides to be included in cumulative assessment groups on the basis of their toxicological profile. *EFSA* 11. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2013.3293>
- EFSA Panel on Plant Protection Products and their Residues (PPR), 2013b. Scientific Opinion on the relevance of dissimilar mode of action and its appropriate application for cumulative risk assessment of pesticides residues in food. *EFSA* 11. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2013.3472>
- EFSA Scientific Committee, More, S.J., Bampidis, V., Benford, D., Bennekou, S.H., Bragard, C., Halldorsson, T.I., Hernández-Jerez, A.F., Koutsoumanis, K., Naegeli, H., Schlatter, J.R., Silano, V., Nielsen, S.S., Schrenk, D., Turck, D., Younes, M., Benfenati, E., Castle, L., Cedergreen, N., Hardy, A., Laskowski, R., Leblanc, J.C., Kortenkamp, A., Ragas, A., Posthuma, L., Svendsen, C., Solecki, R., Testai, E., Dujardin, B., Kass, G.E., Manini, P., Jeddi, M.Z., Dorne, J.C., Hogstrand, C., 2019. Guidance on harmonised methodologies for human health, animal health and ecological risk assessment of combined exposure to multiple chemicals. *EFSA* 17. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2019.5634>
- European Food Safety Authority (EFSA), Craig, P.S., Dujardin, B., Hart, A., Hernández-Jerez, A.F., Hougaard Bennekou, S., Kneuer, C., Ossendorp, B., Pedersen, R., Wolterink, G., Mohimont, L., 2020a. Cumulative dietary risk characterisation of pesticides that have acute effects on the nervous system. *EFSA* 18. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2020.6087>
- European Food Safety Authority (EFSA), Craig, P.S., Dujardin, B., Hart, A., Hernandez-Jerez, A.F., Hougaard Bennekou, S., Kneuer, C., Ossendorp, B., Pedersen, R., Wolterink, G., Mohimont, L., 2020b. Cumulative dietary risk characterisation of pesticides that have chronic effects on the thyroid. *EFSA* 18. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2020.6088>
- Kjaerstad, M.B., Taxvig, C., Andersen, H.R., Nellemann, C., 2010. Mixture effects of endocrine disrupting compounds in vitro. *International Journal of Andrology* 33, 425–433. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2605.2009.01034.x>
- Kjeldsen, L.S., Ghisari, M., Bonefeld-Jørgensen, E.C., 2013. Currently used pesticides and their mixtures affect the function of sex hormone receptors and aromatase enzyme activity. *Toxicology and Applied Pharmacology* 272, 453–464. <https://doi.org/10.1016/j.taap.2013.06.028>
- Kortenkamp, A.; Backhaus, T.; Faust, M., 2009. State of the Art Report on Mixture Toxicity, 391 S. [https://ec.europa.eu/environment/chemicals/effects/pdf/report\\_mixture\\_toxicity.pdf](https://ec.europa.eu/environment/chemicals/effects/pdf/report_mixture_toxicity.pdf) (letzter Zugriff 02.08.2021)
- Hofmann, F., Kruse-Platz, M., Schlechtriemen, U., Wosniok, W., 2020. Pestizid-Belastung der Luft, 140 S. [https://www.enkeltauglich.bio/wp-content/uploads/2021/06/Studie\\_final\\_niedrig.pdf](https://www.enkeltauglich.bio/wp-content/uploads/2021/06/Studie_final_niedrig.pdf) (letzter Zugriff 02.08.2021)
- Martin, O., Scholze, M., Ermler, S., McPhie, J., Bopp, S.K., Kienzler, A., Parissis, N., Kortenkamp, A., 2021. Ten years of research on synergisms and antagonisms in chemical mixtures: A systematic review and quantitative reappraisal of mixture studies. *Environment International* 146, 106206. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2020.106206>
- Mutlu, E., Gao, L., Collins, L.B., Walker, N.J., Hartwell, H.J., Olson, J.R., Sun, W., Gold, A., Ball, L.M., Swenberg, J.A., 2016. Polychlorinated Biphenyls Induce Oxidative DNA Adducts in Female *Sprague–Dawley* Rats. *Chem. Res. Toxicol.* 29, 1335–1344. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrestox.6b00146>
- Parkinson, A., Ogilvie, B.W., Buckley, D.B., Kazmi, F., Parkinson, O., 2019. Biotransformation of Xenobiotics In: Klaassen, C.D. (Ed.), 2019. Casarett and Doull's toxicology: the basic science of poisons, Ninth edition. ed. McGraw-Hill Education, New York.
- Valavanidis, A., Vlachogianni, T., Fiotakis, K., Loidas, S., 2013. Pulmonary Oxidative Stress, Inflammation and Cancer: Respirable Particulate Matter, Fibrous Dusts and Ozone as Major Causes of Lung Carcinogenesis through Reactive Oxygen Species Mechanisms. *IJERPH* 10, 3886–3907. <https://doi.org/10.3390/ijerph10093886>