

Erich Möstl, Leobendorf, Österreich

Das Darmmikrobiom, der Steroidstoffwechsel und die Umwelt

E. MÖSTL*

eingelangt am 17. Mai 2020
angenommen am 15. Dezember 2020

Schlüsselwörter: Bakterien, Cholesterin, Gallensäuren, Steroidhormone, Metaboliten.

Keywords: Bacteria, cholesterol, bile acids, steroid hormones, metabolites.

■ Zusammenfassung

Das Darmmikrobiom erfüllt wichtige Aufgaben im Stoffwechsel des Wirts und die Mikroorganismen sind am Aufschluss von Nahrung und an der Bildung wasserlöslicher Vitamine beteiligt.

Im tierischen Organismus sind Steroide essentielle Bestandteile der Zellmembran (Cholesterin), ermöglichen die Fettverdauung und Fettresorption (Gallensäuren) und sind für die Reproduktion, die Steuerung metabolischer Vorgänge und den Mineralstoffhaushalt von Wichtigkeit (Steroidhormone). Die Steroide werden vom Körper metabolisiert und über den Harn und die Faeces ausgeschieden. Wenig beachtet wird, dass das Darmmikrobiom auch am Stoffwechsel von Steroiden beteiligt ist. In den Darm gelangen die Steroide und ihre Metaboliten mit der Gallenflüssigkeit und kommen dort in Kontakt mit den vorhandenen Mikroorganismen. Bakterien und Archaeen können zwar selbst keine Steroide bilden, etliche dieser Arten haben aber Enzyme, die Steroide (sowohl die vom Körper gebildeten als auch Pharmaka, wie synthetische Östrogene oder Glucocorticoide) verstoffwechseln können. Während der Darmpassage werden die Steroide durch Darmbakterien weiter metabolisiert und, abhängig von ihren chemischen Strukturen, auch teilweise wieder resorbiert (enterohepatischer Kreislauf). Die im Darm gebildeten Steroidhormonmetaboliten haben teilweise andere physiologische Eigenschaften als die Ausgangsverbindungen und können auch an der Entstehung von Krankheiten beteiligt sein (z.B. Hypercholesterinämie, Hypertonie und einige Formen von Tumoren im Colon), was neue Ansätze für Prophylaxe und Therapie dieser Erkrankungen ermöglichen kann.

■ Summary

The microbiome of the gut, steroid metabolism and the environment

Steroids are produced by all members of the eukaryotic kingdom (except insects) and have a wide range of functions. Vertebrates form cholesterol, which is a major component of cell membranes and serves as precursor for other steroids, such as bile acids, vitamin D and steroid hormones. Steroids are largely metabolized in the liver and excreted via the urine and faeces - before faecal excretion, some of them are reabsorbed and transported to the liver again (enterohepatic circulation). During gut passage, they are in contact with microorganisms. Although bacteria and archaea cannot form steroids, some bacterial species can metabolize them to produce metabolites that may be inactive or may show activities other than those of the substance formed by the vertebrate. Some bacterial steroid metabolites are thought to be involved in the onset of diseases such as elevated blood pressure and colonic adenoma. After excretion, steroids (endogenous or synthetic steroids such as oestrogens or glucocorticoids) can be degraded by aerobic or anaerobic pathways but some metabolites, for example the bacterial cholesterol metabolite coprostanol, may persist in the environment for a long time. Some excreted steroids are biologically active, so it is important to ensure that they do not contaminate surface and ground water or the soil.

*E-Mail: erichmoestl@gmail.com

Die vom Organismus ausgeschiedenen Steroide können in der Umwelt als endokrine Disruptoren wirken (z.B. Östrogene), es erfolgt dort aber auch ein weiterer Abbau sowohl auf aerobem als auch auf anaerobem Weg. Einige Metaboliten wie beispielsweise Coprostanol (ein bakterieller Metabolit von Cholesterin) verbleiben jedoch für lange Zeit in der Umwelt. Da einige Ausscheidungsmetaboliten von Steroidhormonen biologische Wirkungen aufweisen, ist es wichtig, dass sie nicht in die Gewässer oder ins Grundwasser gelangen und sich nicht in Böden anreichern.

■ Einleitung

Die Mikroorganismen im Darm sind für Wirbeltiere aufgrund ihrer Stoffwechselleistungen von großer Bedeutung und haben sich vermutlich im Sinn einer Co-Evolution mit ihrer Wirtsspezies entwickelt. Dabei unterliegen sie nicht nur einem Selektionsdruck durch den Wirt, sondern auch durch andere Bakterien sowie Bakteriophagen (KOSKELLA u. BROCKHURST, 2014; De SORDI et al., 2019).

Für Pflanzenfresser sind sie schon deshalb unentbehrlich, da Vertebraten nicht in der Lage sind, Zellulose (der Hauptbestandteil pflanzlicher Zellwände und das am häufigsten vorkommende Biomolekül) abzubauen. Die Bakterien im Verdauungstrakt liefern auch für den Wirt lebenswichtige Moleküle (z.B. Vitamine und kurzkettige Fettsäuren). Mikroorganismen beeinflussen auch das Immunsystem des Wirts und können an der Entstehung von Autoimmunkrankheiten beteiligt sein, wie z.B. anhand eines Mausmodells für Diabetes Typ 1 gezeigt werden konnte (MARKLE et al., 2013).

Verschiedene Untersuchungen zeigen, dass das Mikrobiom einen tiefgreifenden Einfluss auf die Physiologie und Pathophysiologie hat. ZHU et al. (2010) bezeichnen das menschliche Mikrobiom des Darms als zweites Genom des Menschen. Einige Darmbakterienarten sind in der Lage, Hormone und Mediatorstoffe zu bilden oder zu modifizieren und so das Endokrinium des Wirts zu beeinflussen. So bildet das Darmmikrobiom unter anderem γ -Aminobuttersäure (GABA) und Glutamat, also neuroaktive Substanzen (MAZZOLI u. PESSIONE, 2016). Es ist auch ein wichtiger Regulator der Serotoninsynthese in den enterochromaffinen Zellen des Verdauungstrakts. Serotonin wird auch von Darmbakterien gebildet und fördert die Verdauung, indem es die Muskelzellen im Darm aktiviert (YANO et al., 2015). Darmbakterien haben weiters einen modulierenden Einfluss auf zahlreiche andere endokrine Vorgänge (NEUMAN et al., 2015), so dass die Mikroorganismen des Verdauungstrakts in ihrer Gesamtheit als ein (virtuell) endokrin aktives Organ angesehen werden können (EVANS et al., 2013; O'CALLAGHAN et al., 2016).

Abkürzungen: HSD = Hydroxysteroiddehydrogenase; GALF = glycyrrhetic acid-like factor(s)

Störungen in der Zusammensetzung der Mikroorganismen treten bei verschiedenen Erkrankungen des Darmtrakts auf. Die Übertragung von Mikroorganismen aus dem Darmtrakt von gesunden Spendern auf erkrankte Individuen findet zunehmend Eingang in die Therapie von gewissen Erkrankungen des Darmtrakts (KIM u. GLUCK, 2019).

Mikroorganismen im Darm sind nicht nur bei einigen Darmerkrankungen beteiligt, sondern sind auch am Zustandekommen von systemischen Erkrankungen wie Übergewicht oder Diabetes Typ 2 involviert (PASCALE et al., 2019). Auch das Verhalten von Tieren wird durch Mikroorganismen im Darm beeinflusst. So zeigten LUO et al. (2018) anhand von keimfrei aufgezogenen Mäusen, dass es bei diesen Tieren im Vergleich mit einer Kontrollgruppe zu Veränderungen des Verhaltens kam. Eine ausführliche Zusammenfassung über den Einfluss des Mikrobioms auf die neurobiologischen Mechanismen, die das Verhalten beeinflussen, ist bei SARKAR et al. (2020) beschrieben.

Die zunehmenden Kenntnisse über die Wichtigkeit des Mikrobioms für die Gesundheit von Vertebraten hatten zur Folge, dass im letzten Jahrzehnt die Publikationen über das Mikrobiom stark zugenommen haben. So beschrieb CANI (2018), dass in den Jahren zwischen 2013 und 2017 ca. 12.900 wissenschaftliche Publikationen zu diesem Thema erschienen sind.

Es besteht aber keineswegs nur eine unidirektionale Einwirkung des Mikrobioms auf den Wirt, sondern auch der Wirtsorganismus steuert die Bakterienpopulation im Darm, und es wird eine „gut-brain-axis“ postuliert (CARABOTTI et al., 2015; De WEERTH, 2017; DUSZKA u. WAHLI, 2018), die den Einfluss der Mikroorganismen auf den Wirt und sein Verhalten zeigt. EVRENSEL u. CEYLAN (2015) wiesen aber darauf hin, dass es sich dabei um ein bidirektionales Geschehen handelt, also der Wirt auch Einfluss auf die Population der Mikroorganismen hat. TETEL et al. (2018) zeigten in einer Übersichtsarbeit, dass das Mikrobiom vom Gehirn beeinflusst werden kann, da es bei etlichen Erkrankungen des Menschen (u.a. Alzheimer, Autismus, Depressionen oder Morbus Parkinson) zu einer Dysbiose im Darm kommt.

Einige Mikroorganismen des Verdauungstrakts exprimieren Enzyme, die Steroide verstoffwechseln können. Es gibt Hinweise in der Humanmedizin, dass die Metaboliten dieser Verbindungen an der Entstehung verschiedener Erkrankungen beteiligt sein könnten. Im Folgenden wird vor allem auf die Interaktionen zwischen dem Darmmikrobiom, deren Einfluss auf den Steroidstoffwechsel und die Auswirkung dieser Metaboliten bei verschiedenen Krankheiten eingegangen.

■ Das Darmmikrobiom

Als „Mikrobiom“ wird die Gesamtheit aller Mikroorganismen bezeichnet, die ein vielzelliges Lebewesen besiedeln, aber keine Erkrankungen auslösen (PARIENTE, 2019). Frühere Schätzungen, dass die Anzahl der Mikroorganismen im menschlichen Verdauungstrakt um den Faktor 10 höher sei als die Zahl der Körperzellen, wurden mittlerweile korrigiert (THURSBY u. JUGE, 2017), da neuere Kalkulationen (SENDER et al., 2016) ergaben, dass die Zahl der Mikroorganismen im Verdauungstrakt ($3,8 \times 10^{13}$) ungefähr gleich der Zahl der Körperzellen ist ($3,0 \times 10^{13}$). Diese Bakterienzahl wird in der neueren Literatur weitgehend akzeptiert. Die bakteriellen Gene codieren durch ihre Vielfalt für verschiedenste Enzyme und so stellt das Mikrobiom einen „Bioreaktor“ dar, der in der Lage ist, zahlreiche chemische Reaktionen durchzuführen, die der Stoffwechsel von Vertebraten nicht durchführen kann (z.B. Synthese von Vitaminen, Abbau von Pflanzeninhaltsstoffen wie beispielsweise Zellulose).

Die Untersuchung der Vielfalt dieser Mikroorganismen im Darm (Darmmikrobiom) erwies sich in der Vergangenheit als schwierig, da in weiten Bereichen des Darms anaerobe Bedingungen dominieren und die Anzüchtung aller im Darm vorkommenden Lebewesen nicht durchführbar war (GILL et al., 2006; HOFER, 2019; SADANAND, 2019). Neue DNA-Extraktionsverfahren und Sequenzierungstechniken in Verbindung mit der Bioinformatik (CAPORASO et al., 2011; ABUBUCKER et al., 2012) begründeten das Forschungsgebiet der Metagenomik. Diese Verfahren ermöglichen es unter anderem, durch Analyse der in den Faeces vorkommenden DNA Rückschlüsse auf die Zahl der Arten im jeweiligen Mikrobiom zu ziehen. Da dieses aus sehr vielen Arten besteht, ist dessen kollektives Genom (Summe aller Gene im Mikrobiom) im Darmtrakt ca. 100mal umfangreicher als das Genom in der menschlichen Zelle (GILL et al., 2006; ZHU et al., 2010; RIDLON, 2020).

Vergleichende Untersuchungen der Artenzahl des Mikrobioms verschiedener Tierspezies zeigten, dass die Komplexität mit zunehmender Körpergröße zunimmt. Große Pflanzenfresser (z.B. Giraffen) haben in ihrem Darm mehr Bakterienarten als beispielsweise

Mäuse oder kleine Vögel (GODON et al., 2016). Das kann aber auch dadurch bedingt sein, dass die Nahrungsbestandteile von großen Pflanzenfressern deutlich komplexer sind als die von Körner- oder Fleischfressern.

Untersuchungen über das Darmmikrobiom des Menschen (MetaHIT) haben gezeigt, dass einige Bakterienarten bei allen untersuchten Individuen nachgewiesen werden konnten (Core Mikrobiom, SHADE u. HANDELSMAN, 2012). Es gibt jedoch auch Bakterien (Gene), die nicht in allen Menschen vorkommen, so dass verschiedene Individuen Unterschiede in der Zusammensetzung des Darmmikrobioms aufweisen (THE HUMAN MICROBIOME PROJECT CONSORTIUM, 2012). Auch Alter, Geschlecht und Herkunft spielen eine Rolle (ZOETENDAL et al., 1998; PUTIGNANI et al., 2014). Bei Pferden ergaben Untersuchungen des Mikrobioms von Welsh Mountain Ponystuten, dass der Phänotyp und das Alter des Tieres das Darmmikrobiom beeinflussen (MORRISON et al., 2018). Auch die Ernährung hat einen Einfluss auf die Zusammensetzung des Mikrobioms. Beim Menschen ergab die Sequenzierung des Darmmikrobioms von Individuen der Hadza-Volksgruppe, einer Jäger- und Sammlergesellschaft, dass ihr Mikrobiom besser auf die Verwertung verschiedenster Kohlenhydrate und verzweigtkettiger Aminosäuren ausgerichtet ist als das von einer italienischen Vergleichspopulation (RAMPELLI et al., 2015). Bei Hunden wird die Ernährung mit Knochen und rohem Fleisch (bone and raw food, BARF) in Österreich populärer, auch wenn gewisse suboptimale Nährstoffzusammensetzungen und Futterhygiene dadurch bedingt sein können (KOCH et al., 2020). Die Analyse des fäkalen Mikrobioms von Hunden, die mit kommerziellem Futter und von solchen, die mit Knochen und rohem Fleisch gefüttert wurden ergab, dass sich die Artenzusammensetzung der beiden Ökotope (β -Diversität, BETERIUHNLETT, 2003) signifikant unterschied (SCHMIDT et al., 2018). Beim Feldhasen hat sich gezeigt, dass auch die Lokalisation innerhalb ihres Verbreitungsgebietes einer Art einen Einfluss auf die Zusammensetzung des Darmmikrobioms hat (STALDER et al., 2019), was durch unterschiedliche Umwelteinflüsse bedingt sein kann. Bei Przewalskipferden (*Equus ferus przewalskii*) zeigten im Freiland aufgewachsene Tiere eine größere Diversität der Arten des Darmmikrobioms als in Zoos geborene und aufgewachsene Tiere (METCALF et al., 2017). Bei Schweinen beeinflussen die Mikroorganismen im Darmtrakt die Futterverwertung und die Wachstumsrate. Modifikationen der Mikroorganismen im Darm können potentiell zur Produktivitätssteigerung verwendet werden (GARDINER et al., 2020).

Die Besiedelung des Verdauungstraktes mit Mikroorganismen erfolgt im Wesentlichen nach der Geburt, da der Darmtrakt von Neonaten weitgehend steril ist. Dabei stammen die Erstbesiedler aus dem Geburtskanal der Mutter, bei Kaiserschnitten aus der unmittel-

baren Umgebung des Neugeborenen (TUDDENHAM u. SEARS, 2015). Beim Menschen dauert es Jahre, bis sich ein stabiles „Erwachsenenmikrobiom“ entwickelt (DERRIEN et al., 2019). Bei neugeborenen Kälbern zeigten KLEIN-JÖBSTL et al. (2019), dass das Mikrobiom der Vagina der Muttertiere eine wesentliche Bedeutung bei der beginnenden Besiedelung des Verdauungstrakts der Kälber hat.

Eine Zusammenfassung verschiedener Einflussfaktoren auf das humane Mikrobiom und die Auswirkungen der mikrobiellen Aktivitäten auf die pathophysiologischen Vorgänge beim Menschen findet sich bei BUSNELLI et al. (2020) und RIDLON (2020).

■ Bildung und Funktion von Steroiden bei Eukaryonten

Bei Wirbeltieren ist Cholesterin die Ausgangssubstanz für die verschiedenen im Organismus gebildeten Steroide. Die Vertebraten haben eine ausreichende Eigensynthese von Cholesterin, sind also nicht auf die Zufuhr dieses Stoffs durch die Nahrung angewiesen. Die Funktionen von Steroiden sind vielfältige:

So sind Steroide z.B. an der Stabilisierung der Zellmembran (Cholesterin) sowie an der Fettverdauung und Fettresorption beteiligt (Gallensäuren). Auch zahlreiche Hormone sind Steroide. Vitamin D muss ebenfalls zu den Steroidhormonen (Prohormon) gerechnet werden, da es vom Körper durch UV-B Bestrahlung in ausreichender Menge gebildet wird und somit die Definition eines Vitamins nicht erfüllt. Insekten hingegen können Steroide nicht oder nur in geringer Menge selbst bilden. Da aber bei Insekten Cholesterin wie bei anderen Eukaryonten am Aufbau der Zellmembran beteiligt ist und die Ecdysteroide wichtige physiologische Funktionen haben (Metamorphose, Häutung, Reproduktion), müssen Insekten die Vorstufen (pflanzliche oder tierische Steroide) mit der Nahrung aufnehmen (JING et al., 2012; BEHMER et al., 2013; ZHENG et al., 2018). Bei der Umwandlung der Phytosteroide zu Cholesterin spielen zumindest bei einigen Arten intestinale Mikroorganismen eine wesentliche Rolle, da sie die Umwandlung von Phytosterolen (siehe nächster Absatz) zu Cholesterin bewirken. Eine Zusammenfassung über die Nutzung von Steroiden aus der Nahrung bei Insekten findet sich bei CLAYTON (1964).

Bei Pflanzen werden statt Cholesterin Phytosteroide (Sitosterol, Stigmasterol und Campesterol) gebildet. Aus diesen werden z.B. Brassinosteroide, die Herzglykoside (Digitalis), Ecdysteroide sowie kleine Mengen an gonadalen Steroiden gebildet (LING u. JONES, 1995; JANECZKO u. SKOCZOWSKI, 2005; SPERANZA, 2010; ABOOBUCKER u. SUZA, 2019). Pilze und Protozoen bilden statt Cholesterin Ergosterin (WEETE et al., 2010) und lagern es in die Zellmembran ein.

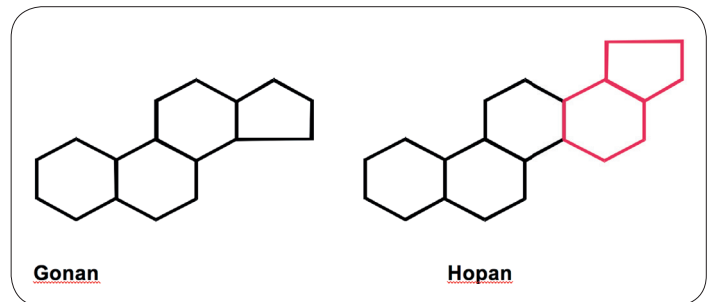


Abb. 1: Formel des Grundgerüsts eines Steroids (Gonan) und des Hopans. Zur rascheren Unterscheidung ist der Unterschied der beiden Moleküle farblich hervorgehoben. Beide Moleküle haben eine membranstabilisierende Wirkung, die Bildung von Hopan erfolgt jedoch, im Gegensatz zur Cholesterinsynthese, anaerob. / Structure of the skeleton of a steroid (gonan) and hopan. Differences between the molecules are highlighted in red. Both molecules have a membrane-stabilizing effect. In contrast to the biosynthesis of steroids, no oxygen is needed to form a hopan.

■ Bakterien und Archaeen bilden keine Steroide

Anders als bei Tieren haben Bakterien als Außenhülle eine Zellwand. Zur Stabilisierung ihrer darunterliegenden Zellmembran nutzen sie (mit Ausnahme der Mykoplasmen) nicht Cholesterin, sondern Hopanoide (Abb. 1); das sind Verbindungen mit einem ähnlichen Aufbau wie Steroide, die eine mit Cholesterin vergleichbare Funktion haben (SÄENZ et al., 2015). Zur Bildung der Hopanoide wird (im Gegensatz zur Steroidsynthese) kein Sauerstoff benötigt, was für die anaerob lebenden Mikroorganismen im Darm wichtig ist.

Die dritte Domäne der Lebewesen (neben Bakterien und Eukaryonten), die Archaeen, unterscheiden sich im Aufbau der äußeren Hülle der Zelle deutlich von Bakterien und Eukaryonten, da der Großteil ihrer Zellmembran nicht aus Phospholipiden besteht, sondern diese aus Isoprenoidalkoholen aufgebaut ist.

■ Homöostase von Cholesterin bei Vertebraten

Die Konzentration von Cholesterin im Körper wird durch die endogene Bildung, die Resorption aus dem Darm und die Ausscheidung geregelt, wobei die Bildung durch einen Feedback-Mechanismus gesteuert wird. Cholesterin ist für Vertebraten essentiell, eine zu hohe Cholesterinkonzentration im Körper ist aber schädlich, da dadurch die Bildung von atherosklerotischen Plaques in der Gefäßwand ausgelöst werden kann (LUSIS, 2000). Bei Carnivoren und Omnivoren stammt Cholesterin nicht nur aus der Eigensynthese, sondern wird auch über die Nahrung aufgenommen. Beim Menschen wird beispielsweise Cholesterin aus dem Darm zu ca. 50 % resorbiert (SALEN et al., 1970).

Die Cholesterinausscheidung kann durch Darmbakterien erhöht sein

Cholesterin wird ständig vom Körper gebildet, in Membranen eingelagert und zu Gallensäuren oder Steroidhormonen umgewandelt.

Überschüssiges Cholesterin muss wieder ausgeschieden werden, um eine Akkumulation im Körper zu vermeiden. Die Ausscheidung erfolgt teilweise mit der Gallenflüssigkeit. Leberzellen sind in der Lage, Cholesterin aus den Lipoproteinen des Blutes aufzunehmen. Der Export von Cholesterin in die Gallenflüssigkeit erfolgt durch ein Membranprotein, das als „Pumpe“ fungiert und zur Energieversorgung Adenosintriphosphat (ATP) benötigt (SMALL, 2003). Zum Weitertransport von Cholesterin in der Gallenflüssigkeit sind weiters Phospholipide und Gallensäuren erforderlich, die mit Cholesterin „gemischte Mizellen“ (Molekülaggregate aus verschiedenen grenzflächenaktiven Substanzen) bilden, um Cholesterin, das in Wasser sehr schlecht löslich ist, in Lösung zu halten und die Bildung von Gallensteinen zu vermeiden. Sinkt das Verhältnis von Gallensäuren zu Cholesterin in der Galle auf unter 13:1, so ist Cholesterin nicht mehr löslich und fällt aus. Es entstehen Gallensteine.

Cholesterin kann nicht nur mit der Gallenflüssigkeit in den Darm gelangen, sondern auch direkt vom Darm ausgeschieden werden. Diese „transintestinale Cholesterin Exkretion“ (TICE) ist, wie der Transport von Cholesterin in die Galle, ein aktiver Transport und verbraucht ATP (LE MAY et al., 2013). In den Darm abgegebenes Cholesterin kann teilweise auch wieder aus dem Darm resorbiert und zur Leber zurücktransportiert werden (enterohepatischer Kreislauf). Einige Bakterienarten im Darm wandeln aber einen erheblichen Teil des Cholesterins zu Coprostanol um. Dieser Metabolit wird in nur sehr geringen Mengen wieder aus dem Darm aufgenommen und wird daher großteils mit den Faeces ausgeschieden, was zur Senkung der Cholesterinkonzentration im Blut führen kann. Interessant ist, dass nicht alle Menschen diesen Cholesterinmetaboliten bilden

und dass die Verabreichung einiger Antibiotika die Coprostanolbildung für längere Zeit hemmt (MIDTVEDT et al., 2009; MOLINERO et al., 2019). Eine Übersicht über die Schwierigkeit der Isolierung dieser Cholesterin metabolisierenden Bakterien aus dem Darm und die Untersuchung des Stoffwechselweges von Cholesterin zu Coprostanol findet sich bei RIDLON (2020).

Bildung von Gallensäuren aus Cholesterin

In der Leber werden aus Cholesterin auch verschiedene Gallensäuren gebildet. Sie kommen in der Galle als konjugierte Gallensäuren (gekoppelt entweder mit Taurin oder Glycin) vor. Da der pH-Wert der Gallenflüssigkeit alkalisch ist, sind Gallensäuren im Darm überwiegend als Gallensalze vorhanden. Diese Steroide sind amphiphil und können daher Lipide emulgieren, was deren Resorption begünstigt. Der Metabolismus der Gallensäuren durch Mikroorganismen im Darmtrakt wird auch durch die Nahrung und die Menge an Ballaststoffen beeinflusst. Eine Zusammenfassung der vielfältigen Effekte von Nahrungsbestandteilen auf die Gallensäuren findet sich bei SINGH et al. (2019).

In den terminalen Abschnitten des Ileums werden die Gallensäuren weitgehend resorbiert und über den Pfortaderkreislauf wieder in die Leber transportiert. Beim Menschen gelangen physiologischerweise nur ca. 5 % der von der Galle sezernierten Gallensäuren in das Colon und werden über den Kot ausgeschieden. Gallensäuren wirken auf das Bakterienwachstum hemmend. Ist die Rückresorption von Gallensäuren erheblich gestört (z.B. durch chronisch entzündliche Darmerkrankungen), gelangen Gallensäuren vermehrt in den Dickdarm und werden ausgeschieden. In der Folge ist die Fettverdauung erheblich gestört und es entsteht ein Malabsorptionssyndrom. Die physiologischerweise deutlich geringere Konzentration von Gallensäuren im Dickdarm verglichen mit dem Dünndarm ist eine der Ursachen, dass die Zahl der Mikroorganismen im Dickdarm deutlich höher ist als im Dünndarm. Die Gallensäuren im Dickdarm werden durch bakterielle Umwandlungen dekonjugiert und weiter metabolisiert. Es entstehen so die sekundären Gallensäuren (KRIAA et al., 2019; MOLINERO et al., 2019). Dies erfolgt unter anderem durch die Entfernung der Hydroxygruppe an der Position 7 der primären Gallensäuren und Dekonjugation (Abb. 2).

Beim Menschen wird beschrieben, dass verschiedene sekundäre Gallensäuren einen Einfluss auf die Entstehung von Darmkrebs haben, wobei der Wirkungsmechanismus ent-

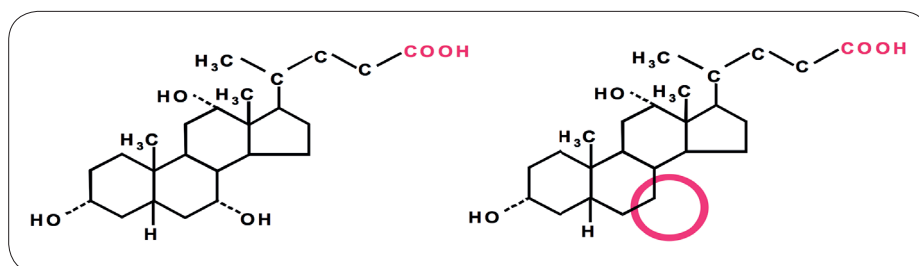


Abb. 2: Cholsäure (links): Die Säuregruppe ist farblich hervorgehoben. An dieser Gruppe erfolgt auch die Konjugation mit Taurin oder Glycin. Rechts eine sekundäre Gallensäure ohne funktionelle Gruppe an der Position 7 des Steroids (roter Kreis) / Left: cholic acid. The acidic group of the molecule is highlighted in red. Right: Secondary bile acid. In contrast to cholic acid, the secondary bile acid lacks the hydroxy group at position 7 (red circle).

weder direkt oder über die durch die Gallensäuren bedingten Änderungen der Zusammensetzung des Darmmikrobioms verlaufen kann. Einer der möglichen Mechanismen ist, dass sekundäre Gallensäuren die Bildung von Sauerstoffradikalen begünstigen, was in der Folge zu Schäden an der DNA führt. *In vitro* konnte auch gezeigt werden, dass in Darmkrebs-Zelllinien die Lithocholsäure zu Brüchen im DNA-Strang führt, was wiederum zu Fehlern bei der Reparatur des Stranges führen kann. Zusammenfassungen verschiedener auslösender Faktoren für Darmkrebs durch Mikroorganismen und Gallensäuren finden sich bei WANG et al. (2019) und LIU et al. (2020).

Steroidhormone

Zu dieser Gruppe von Steroiden zählen die gonadalen Steroidhormone (Gestagene, Androgene und Östrogene), die in den Gonaden, bei einigen Spezies auch in der Plazenta gebildet werden. Weitere Vertreter dieser Hormongruppe sind die Mineralo- und die Glucocorticoide, die überwiegend in den Nebennieren synthetisiert werden.

Glucocorticoide haben unter den Steroidhormonen dadurch eine Sonderstellung, dass sie nicht nur von der Nebenniere, sondern auch von etlichen anderen Geweben gebildet werden (TAVES et al., 2011). Die Bildung in den jeweiligen Organen unterliegt einer lokalen Regulation und auch die Deaktivierung dieser Hormone kann lokal erfolgen. Das ermöglicht eine Fein Anpassung der Hormonwirkung an lokale Erfordernisse, unabhängig von der Wirkung auf den Gesamtorganismus. CIMA et al. (2004) zeigten, dass Epithelzellen des Darmtrakts in der Lage sind, Glucocorticoide zu bilden und die Aktivierung der T-Zellen im Verdauungstrakt zu regulieren. AHMED et al. (2019) gaben einen Überblick über die vielfältigen Effekte, die die lokale Produktion dieser Hormone auslösen kann.

Wirkung von Steroidhormonen in Zellen

Es sind zwei prinzipielle Signalwege bekannt, wie diese Gruppe von Hormonen ihre Wirkung in den Zellen entfalten können: Einerseits eine Wirkung auf das Genom im Zellkern und andererseits nicht-genom vermittelte Wirkmechanismen. Bei den genom-vermittelten Effekten sind intrazelluläre Rezeptoren für die Steroidhormone erforderlich. Da Steroidhormone lipophile Verbindungen sind, können sie die Zellmembran durchdringen und (falls in der Zelle vorhanden) an den jeweiligen Rezeptor (ein Protein) binden. Der Hormon-Rezeptorkomplex gelangt dann in den Zellkern und wirkt als Transkriptionsfaktor, was in der Folge die Bildung von Proteinen induziert, die dann den Hormoneffekt im Organismus auslösen. Bedingt durch diese Kaskade von erforderlichen Schritten, setzt die über diesen Signalweg vermittelte Hormonwirkung um einige Stunden verzögert ein. Im Darm sind Rezeptoren für

gonadale Steroide (Androgene, Östrogene) vorhanden. So untersuchten WINBORN et al. (1987) die Rezeptoren für diese Steroide und konnten Androgenrezeptoren in den Zellkernen der *tunica muscularis* und in Zellen des Interstitiums von Leber, Pankreas und Darm nachweisen, die Östrogenrezeptoren fanden sich vor Allem in den Zellen der glatten Muskulatur. PFAFFL et al. (2003) untersuchten das Vorkommen von Messenger-RNA (mRNA) für Progesteron-, Androgen- sowie α - und β -Östrogenrezeptoren im Verdauungstrakt von Rindern. Sie konnten für alle diese Steroidrezeptoren mRNA nachweisen, wobei allerdings die Menge der für den Progesteronrezeptor codierenden RNA sehr gering war.

Es gibt aber auch Wirkungen von Steroidhormonen, die sehr rasch einsetzen. Vermittelt werden diese durch Rezeptortypen an der Zellmembran (G-Protein gekoppelte Rezeptoren, wie z.B. von WANG et al. (2014) beschrieben oder durch Modulation von Ionenkanälen). So bewirkt Progesteron (aus dem Ovar) eine Aktivierung des Kalziumkanals in den Spermien, was dazu führt, dass die Spermien in Richtung der höheren Progesteronkonzentration schwimmen und aktiviert weiters die Mechanismen zur Penetration der Eizelle (LISHKO et al., 2011).

Eine lokale Feinsteuerung der Steroidhormonwirkung kann durch Bildung von Metaboliten in den peripheren Geweben erfolgen. So ist der Testosteronmetabolit Dihydrotestosteron (DHT) stärker wirksam als Testosteron, während die Bildung von Cortison aus Cortisol zur (reversiblen) Inaktivierung des Glucocorticoids führt.

Steroidhormone werden in der Leber, aber auch in anderen Organen rasch verstoffwechselt. Dies führt meist zur Inaktivierung und zu leichter ausscheidbaren Verbindungen, um dadurch die Wirkungsdauer des Hormons zu begrenzen und eine Feinsteuerung seiner Wirkung zu ermöglichen. Dabei werden zum Beispiel Hydroxylgruppen in das Molekül eingeführt. Durch Elimination der Doppelbindung durch 5α - oder 5β -Reduktasen entstehen weitere Metaboliten der Steroidhormone, die sich aber in ihrer biologischen Wirkung deutlich unterscheiden. Verglichen mit dem Ausgangshormon bewirkt die 5α -Metabolisierung nur eine geringe Änderung der Form des Moleküls und die biologische Wirkung bleibt meist erhalten oder ist sogar stärker. So ist 5α -Dihydrotestosteron (DHT) ein stärkeres Androgen als Testosteron. Die 5β -Reduzierung hingegen hat zur Folge, dass sich die Form des Hormons deutlich verändert (Abb. 3). Dadurch kann 5β -DHT nicht an den Androgenrezeptor binden und ist somit definitionsgemäß kein Androgen. Solche Metaboliten sind aber nicht in allen Fällen wirkungslose Substanzen. So ist lange bekannt, dass Ätiocholanolon, ein 5β -Androstan, beim Menschen Fieber auslöst (WOLFF et al., 1973). Neuere Untersuchungen zeigten, dass einige Androgenmetaboliten auch antikonvulsive Eigenschaften aufweisen (ZOLKOWSKA et al., 2014) sowie Bronchodilatoren mit antiinflammatorischen

Eigenschaften sind (MONTAÑO et al., 2020). Solche Wirkungen werden nicht durch den Androgenrezeptor, sondern über nicht-genomische Signalkaskaden vermittelt.

Ausscheidung von Steroidhormonen

Die Steroidhormone und ihre Metaboliten werden zur besseren Wasserlöslichkeit an Schwefel- oder Glucuronsäure gekoppelt und über den Harn ausgeschieden oder gelangen mit der Gallenflüssigkeit in den Darm. Ob auch eine Ausscheidung von Steroidhormonmetaboliten direkt über den Darm erfolgt (ähnlich wie die transintestinale Ausscheidung von Cholesterin), ist nicht bekannt.

Im Darm kommt es durch Bakterien teilweise zur Spaltung der konjugierten Steroide, so dass wiederum das freie (nichtkonjugierte) Steroid vorliegt, und zur teilweisen Rückresorption dieser Verbindungen. Die Wiederaufnahme der Steroide durch die Zellen der Darmwand ist im Wesentlichen von der Lipidlöslichkeit des jeweiligen Steroidmoleküls abhängig. Je weniger OH-Gruppen das Molekül aufweist, umso rascher erfolgt im Allgemeinen die Wiederaufnahme. Bei Cortisol erfolgt die Resorption abhängig von der Konzentration. Je größere Mengen verabreicht werden, umso größere Mengen werden resorbiert, was für einen Diffusionsmechanismus und

gegen einen Transportmechanismus spricht (SCHEDL et al., 1963). In einigen Darmabschnitten sind in den Zellen der Darmwand Sulfotransferasen lokalisiert (ALNOUTI u. KLAASSEN, 2006; SATO et al., 2009), die die Steroide wieder in die besser wasserlöslichen konjugierten Verbindungen rückwandeln. Auch werden Steroide bereits in der Wand des Magens

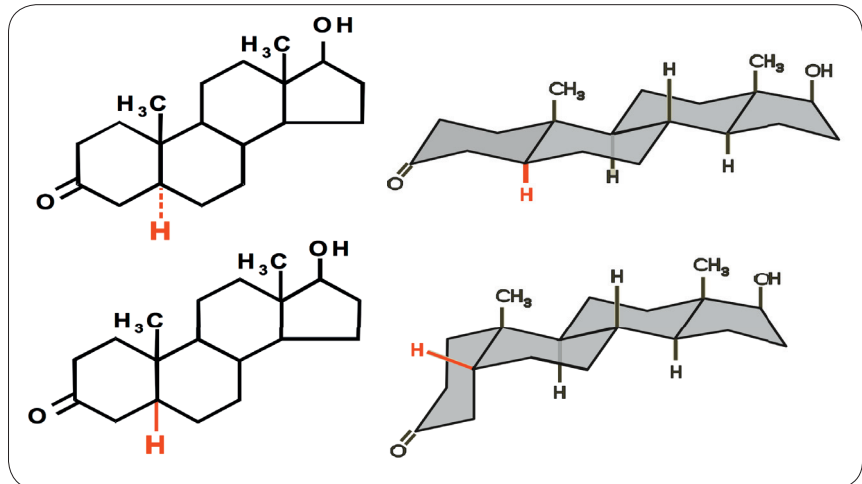


Abb. 3: Strukturformel von 5α-Dihydrotestosteron (oben links) und 5β-Dihydrotestosteron (darunter). Die 5α-Stellung des Wasserstoffatoms wird in der Formel durch eine durchbrochene Linie dargestellt, die von 5β-Stellung durch eine durchgezogene. Rechts daneben sind die ungefähren räumlichen Strukturen der beiden Verbindungen dargestellt. 5α-Dihydrotestosteron ist ein eher planes Molekül (ähnlich dem Testosteron), 5β-Dihydrotestosteron hat einen deutlichen Knick. Die Anordnung des Wasserstoffs an der Position 5 des Moleküls ist rot hervorgehoben. / Structure of 5α-dihydrotestosterone (top left) and 5β-dihydrotestosterone (below). The 5α-position of the hydrogen is symbolized by a broken line, the 5β-position by a solid line. The right part shows the spatial structures of the two molecules. 5α-reduction causes a more or less plain molecule (similar to testosterone), whereas the 5β-reduced steroid forms a kink between the first and the second ring. The position of the hydrogen at position 5 is highlighted in red.

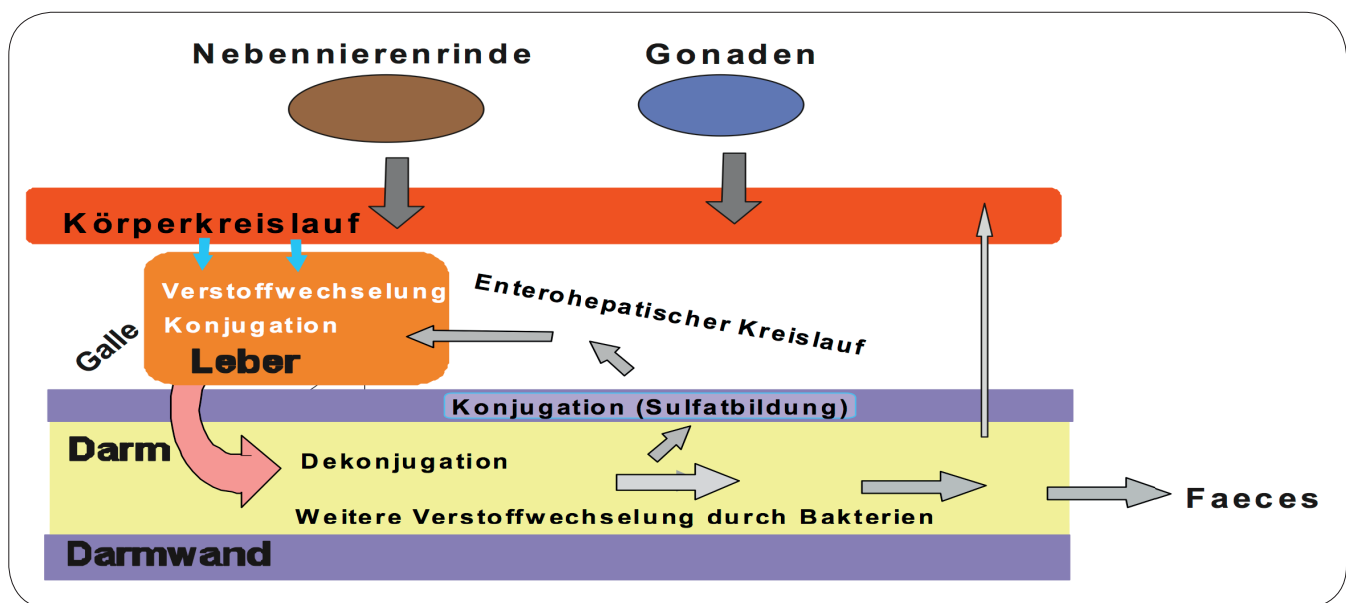


Abb. 4: Der enterohepatische Kreislauf der Steroidhormonmetaboliten. Nur Steroide aus den distalsten Abschnitten des Darms gelangen unter Umgehung der Leber direkt in den Körperkreislauf. / Enterohepatic circulation of steroid metabolites. Conjugated substances are deconjugated by the microorganisms in the intestine, metabolized and partially re-absorbed. The steroids are conjugated again by the intestinal cells and are transported by the portal vein to the liver. Steroids absorbed from the distal parts of the rectum enter the circulation, bypassing the liver.

(RUOFF u. DZIUK, 1994) und des Darmes (vor allem im Duodenum, Jejunum und Ileum) an Glucuronsäure gebunden (PETERS et al., 1991), sodass weitere, gut wasserlösliche Konjugate entstehen.

Die Steroide gelangen dann über das Pfortadersystem wiederum in die Leber. Dort werden sie neuerlich metabolisiert und gelangen teilweise wieder in den Darm (enterohepatischer Kreislauf; Abb. 4). Diese mehrmalige Umwandlung bewirkt, dass z.B. nach Infusion von radioaktivem Cortisol bei Schafen in der Anfangsphase der Ausscheidung über den Kot andere Steroidmetaboliten dominieren als in späteren Phasen der Elimination (LEXEN et al., 2008).

Das Verhältnis der Ausscheidung der Steroidhormone über Harn und Kot variiert je nach der Art der Hormone (Östrogene, Androgene, Gestagene oder Glucocorticoide) und der untersuchten Spezies. Umfangreiche Untersuchungen über die Ausscheidung von Steroidhormonen bei verschiedenen Tieren wurden von der Arbeitsgruppe um Prof. Palme publiziert (PALME et al. (1996) bei Schaf, Pony und Schwein; SCHATZ u. PALME (2001) bei Hunden und Katzen; TOUMA et al. (2003) bei Mäusen; BAHN et al. (2000) bei Primaten und TESKEY-GERSTL et al. (2000) bei Feldhasen). Schweine scheiden beispielsweise die Radioaktivität von infundiertem radioaktiven Progesteron (^{14}C) zu 34 %, Testosteron zu 15 %, Cortisol zu 7 % und Östron nur zu 4 % mit dem Kot aus. Bei Schafen hingegen betragen die entsprechenden Prozentsätze 77, 44, 28 und 89 %. Bei Katzen und Hunden differieren die Ausscheidungswege beträchtlich. So scheiden Katzen Cortisol und seine Metaboliten überwiegend (82 %) mit dem Kot aus, Hunde hingegen nur zu 23 % (SCHATZ u. PALME, 2001).

COLLDÉN et al. (2019) untersuchten den Einfluss der Mikrobiota auf die Konzentration von Androgenen im Darmtrakt von Mäusen. Sie konnten zeigen, dass die Mikroorganismen an der Spaltung von konjugierten Androgenen beteiligt sind, da die Konzentration von Testosteron im Kot deutlich höher war als bei keimfrei gehaltenen Tieren. Weiters fanden die Autoren, dass die Konzentration von Dihydrotestosteron im Enddarm der Tiere zwanzigfach höher war als die Konzentration im Plasma. Bei Untersuchungen von Faecesproben von jungen Männern konnte diese Forschungsgruppe zeigen, dass die gemessene DHT-Konzentration in den Kotproben sogar 70-fach höher war als im Serum der Probanden. Somit ist der Darm einer hohen Konzentration eines starkwirkenden Androgens ausgesetzt. Besonders die Glucocorticoide bieten aufgrund ihrer Molekülstruktur zahlreiche Angriffspunkte für ihre Metabolisierung (MÖSTL et al., 2005). Eine der offenen Fragen ist, inwieweit die mit der Galle in den Darm ausgeschiedenen Glucocorticoide sowie ihre Metaboliten zur Versorgung der Zellen der Darmmukosa mit Glucocorticoiden beitragen. McINNIS et al. (2004) untersuchten *in vitro* die Bindung verschiedener 5 α -reduzierter Glucocorticoidmetaboliten an den

Glucocorticoidrezeptor und fanden, dass 5 α -reduzierte Glucocorticoidmetaboliten an den Rezeptor binden können. Spätere Untersuchungen von YANG et al. (2011) ergaben, dass einige dieser Metaboliten sowohl *in vitro* als auch *in vivo* antiinflammatorische Eigenschaften aufwiesen. Ein Mangel an hormonwirksamen bakteriellen Metaboliten von Glucocorticoiden im Darm könnte beim Zustandekommen entzündlicher Darmerkrankungen eine gewisse Rolle spielen, da Glucocorticoide zwar rasch verstoffwechselt werden, die Hormonwirksamkeit dieser Metaboliten aber kaum untersucht ist. So konnte bei Schafen durch Untersuchungen von Kotproben nach Infusion von radioaktivem Cortisol (PALME et al., 1996) gezeigt werden, dass es im Kot nicht mehr oder nur in Spuren vorhanden ist (MÖSTL et al., 2002). Die Autoren konnten 22 verschiedene radioaktive Metaboliten nachweisen und durch Massenspektroskopie beweisen, dass bei einem Teil dieser Metaboliten die Seitenkette des Glucocorticoids abgespalten worden war. Bei diesen Ausscheidungsprodukten handelt es sich um 11,17-Dioxoandrostane, wie z.B. 11-Oxoätiocholanolon. Solche Verbindungen sind auch bei Menschen, Primaten und Feliden wichtige Ausscheidungsprodukte von Cortisol (Abb. 5).

Beim Menschen ist bekannt, dass rektal verabreichtes Cortisol vom Darmmikrobiom rasch verstoffwechselt wird. Nach der Entdeckung der antiinflammatorischen Eigenschaften dieses Hormons standen synthetische Glucocorticoide, die nicht so rasch verstoffwechselt werden, noch nicht zur Verfügung. Patienten mit entzündlichen Erkrankungen des Colons bzw. des Rektums wurden daher die Cortisollösungen in das Rektum infundiert, um eine wirksame Konzentration im Darm zu erzielen und die Verstoffwechslung von Cortisol durch die Leber zu umgehen. Untersuchungen von WADE et al. (1959) über die Ausscheidung des rektal verabreichten Cortisols ergaben, dass es im Harn zu einem signifikanten Anstieg der Konzentration von 11-Oxoandrogenen kam. Das sind Steroidmoleküle, die wie Cortisol eine funktionelle Gruppe an der Position 11 des Steroidmoleküls haben, jedoch fehlt im Vergleich zu Cortisol die Seitenkette (Abb. 5). Der Anstieg dieser Metaboliten unterblieb, wenn den Patienten vorher Neomycin peroral verabreicht worden war. Die Autoren schlossen daraus, dass die Bildung dieser Cortisolmetaboliten durch bakterielle Umsetzungsvorgänge (Seitenkettenabspaltung) im Darm erfolgt. Auch CERONE-McLERNON et al. (1981) beschrieben, dass im Kot von Menschen Mikroorganismen vorkommen, die zugegebenes Cortisol verstoffwechseln. Diese Arbeitsgruppe konnte später nachweisen, dass ein in den Faeces vorkommendes Clostridium (*Clostridium scindens*) diese Metabolisierung durchführt. LY et al. (2020) beschrieben, dass solche Enzyme auch bei einem im Harntrakt vorkommenden Bakterium (*Propionimicrobium lymphophilum*) vorkommen. Solche Androstene mit

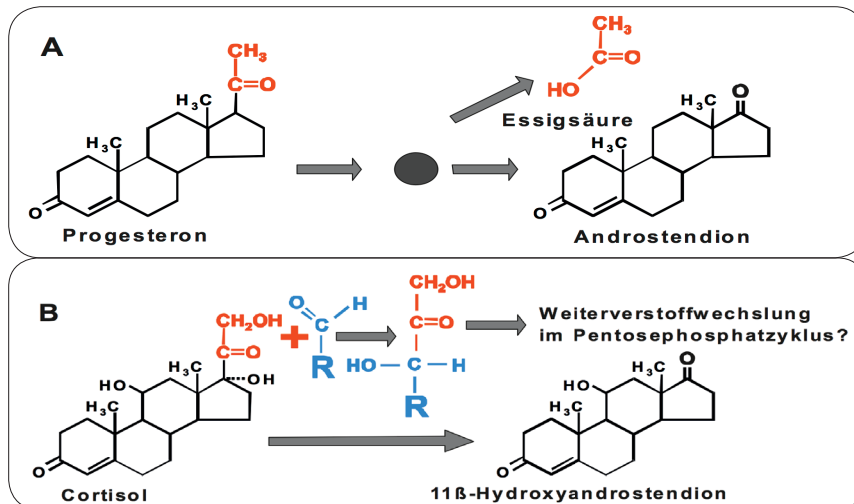


Abb. 5: A: Die Seitenkettenabspaltung von Progesteron zur Bildung von Androgenen erfolgt in den Zellen der Vertebraten durch eine 17,20-Lyase (CYP17), eine Monooxygenase, die die Seitenkette von Progesteron oder Pregnenolon als Essigsäure abspaltet (MILLER et al., 1997). (Die für die Reaktion erforderlichen Zwischenschritte sind in der Graphik nicht dargestellt.) B: Die Seitenkettenabspaltung von Cortisol durch *Clostridium scindens* erfolgt durch eine Transketolase. Die Seitenkette wird vermutlich im Pentosephosphatzyklus weiterverwertet. Progesteron ist kein Substrat für dieses Enzym. / A: The side chain cleavage from progesterone forms an androgen (androstenedione). In vertebrates, this step is catalysed in specific cells by the enzyme 17,20-lyase, a monooxygenase. (The intermediate steps of androgen synthesis are not shown.) B: The side chain cleavage from cortisol by *Clostridium scindens* is catalysed by a transketolase. The side chain is used in the pentose phosphate cycle. Progesterone is not a substrate for the enzyme.

einer funktionellen Gruppe an der Position C11 des Steroidmoleküls wurden lange Zeit als typische „Fischandrogene“ angesehen, da „11-Ketotestosteron“ das dominierende Androgen bei einigen Fischarten ist. (Eigentlich wäre nach der internationalen Nomenklaturregel „11-Oxotestosteron“ die korrekte Bezeichnung, aus historischen Gründen wird aber noch immer die Bezeichnung „11-Ketotestosteron“ verwendet.) 11-Ketotestosteron und andere Androstane mit einer 11-Oxogruppe wurden auch als Beiprodukte der Steroidsynthese in den Ovarien und der Nebenniere von Säugetieren beschrieben. Untersuchungen haben jedoch gezeigt, dass diese 11-Oxoverbindungen auch beim Menschen an den Androgenrezeptor binden und als Androgene wirken. Eine Zusammenfassung findet sich bei RIDLON et al. (2013). Die Bildung von Androgenen durch Mikroorganismen ist für die Humanmedizin von großem Interesse. Die Zellen des Prostatakarzinoms (weltweit zweithäufigste Krebsart beim Mann) werden durch Androgene zum Wachstum stimuliert. Die Therapie dieser Krebsart beruht daher unter anderem auf der Blockade des Synthesewegs der Androgene (PRETORIUS et al., 2016; TURCU et al., 2018; BARNARD et al., 2020). Wenn das Mikrobiom in der Lage ist, relevante Mengen an 11-Oxoandrogenen zu bilden, so kann die Wirkung der Blockade der körpereigenen Androgensynthese durch Pharmaka durch eine bakterielle Androgenbildung aus Glucocorticoiden möglicherweise umgangen werden. Untersuchungen von ZIMMERMANN et al. (2019) ergaben, dass das

humane Mikrobiom sogar in der Lage ist, die Seitenkette des synthetischen Glucocorticoids Dexamethason abzuspalten.

■ Wirkungen von mikrobiellen Steroidhormonmetaboliten und Anwendungen der Steroidbestimmung in Faeces

Blutdruck

Sowohl Cortisol als auch Aldosteron (das dominierende Mineralocorticoid) können an den Mineralocorticoidrezeptor binden. Im Blut ist Cortisol in wesentlich höherer Konzentration vorhanden als Aldosteron. Die aldosteronsensitiven Zellen, z.B. in Niere und Colon, müssen sich daher gegen Cortisol schützen. Diese Zellen bilden das Enzym 11β-Hydroxysteroiddehydrogenase 2 (11β-HSD2), das Cortisol in das am Aldosteron- sowie am Glucocorticoidrezeptor unwirksame Cortison umwandelt (Abb. 6).

Aldosteron hingegen wird von dem Enzym nicht inaktiviert. Fehlt dieses Enzym oder ist zu wenig Enzymaktivität vorhanden, so aktiviert Cortisol fälschlicherweise den Aldosteronrezeptor. Dies wiederum führt zur Natrium- und Wasserretention sowie zur vermehrten Ausscheidung von Kalium und Protonen. Dadurch kommt es zum Anstieg des Extrazellulärvolumens, was in weiterer Folge einen Bluthochdruck bewirkt (MORRIS u. BREM, 2019). Ein gleichartiger Mechanismus liegt auch dem Blutdruckanstieg nach Verzehr von Lakritze (einem Produkt aus der Süßholzwurzel) zugrunde (SIGURJONSDOTTIR et al., 2003), der bei dafür empfindlichen Menschen auftritt. Dieser Effekt wird durch Glycyrrhizin ausgelöst, das in Lakritze vorkommt. Im Verdauungstrakt wird daraus Glycyrrhizinsäure freigesetzt, und diese bewirkt eine Hemmung der 11β-HSD2. Dadurch wird Cortisol in den Zellen, die den Aldosteronrezeptor aufweisen, nicht mehr ausreichend inaktiviert und Cortisol bindet an den Mineralocorticoidrezeptor. Experimentell kann Bluthochdruck auch bei Ratten durch Verabreichung hoher Mengen von ACTH oder Corticosteron ausgelöst werden (HONOUR, 1982). Interessanterweise fällt aber die Blutdruckerhöhung durch Verabreichung von Neomycin (ein sehr schlecht resorbierbares Antibiotikum) an solche Ratten deutlich schwächer aus. HONOUR (1982) schloss aus

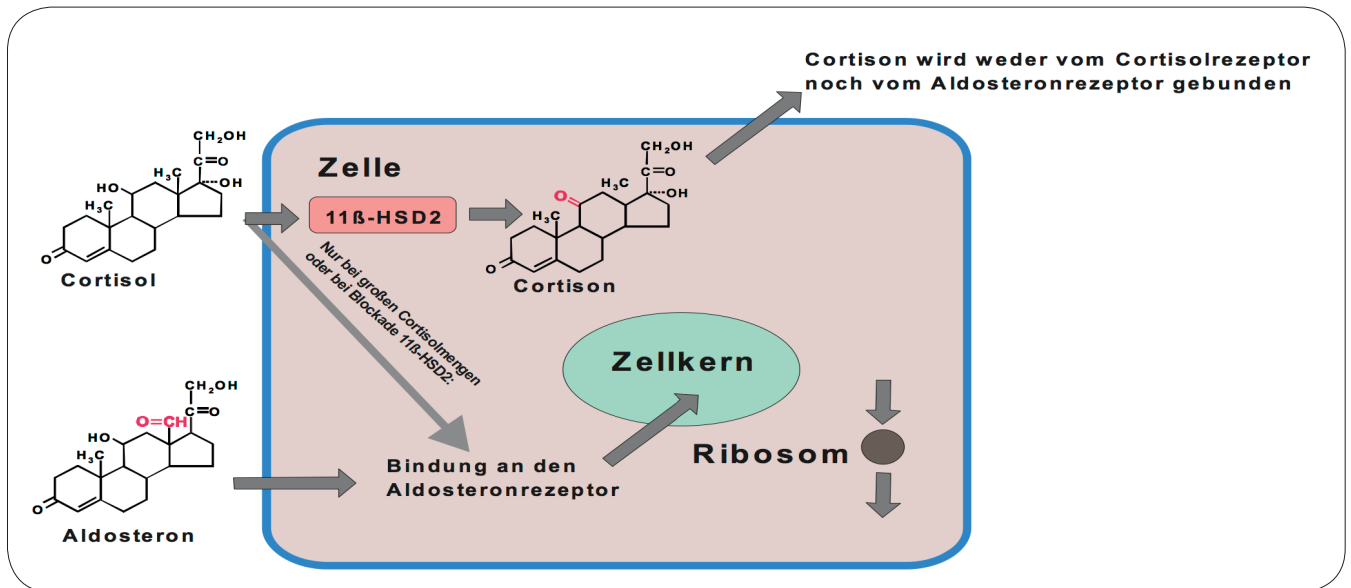


Abb. 6: Cortisol (Formel links oben) und Aldosteron (darunter) können beide in die Zelle eindringen und den Aldosteronrezeptor aktivieren. Physiologischerweise wird allerdings Cortisol in Zellen mit Aldosteronrezeptoren durch die 11 β -HSD in Cortison umgewandelt, das weder an den Glucocorticoid- noch an den Aldosteronrezeptor binden kann. Dadurch ist physiologischerweise der Aldosteronrezeptor vor einer Aktivierung durch Cortisol geschützt. / Both cortisol (top left) and aldosterone (below) can enter the cytoplasm and bind to the aldosterone receptor. In the cytoplasm of aldosterone-sensitive cells, an enzyme (11 β -hydroxysteroid dehydrogenase) converts cortisol into cortisone, which cannot bind to the glucocorticoid or to the aldosterone receptor. The aldosterone receptor is therefore protected against activation by glucocorticoids.

diesen Ergebnissen, dass bei Ratten bakterielle Umwandlungsprodukte von Corticosteron aus dem Darmtrakt beim Zustandekommen von Bluthochdruck beteiligt sind. Für den Menschen ist bekannt, dass im Harn von Patienten mit Herzinsuffizienz Substanzen vorkommen, die ähnlich wie Glycyrrhizin wirken und die Aktivität der 11 β -HSD2 und der 5 β -Steroidreduktase hemmen (WASSWA et al., 1993). Diese Autoren benannten die gefundenen Inhibitoren nach ihrer Wirkung als „glycyrrhetic acid-like factors“ (GALFs). Weiterführende Untersuchungen von SOUNESS und MORRIS (1996) zeigten, dass von Bakterien gebildete Glucocorticoidmetaboliten (z.B. 11 α - oder 11 β -Hydroxyprogesteron) Inhibitoren der 11 β -HSD sind. Neuere Untersuchungen über die Glucocorticoidmetaboliten im Darm konnten weitere GALFs finden und deren Wirkungen aufklären (MORRIS u. RIDLON, 2017) sowie den Einfluss von Antibiotikagaben oder Kottransplantationen auf den Bluthochdruck untersuchen (MORRIS u. BREM, 2019).

Bei der 11 β -HSD2 handelt es sich um ein promissches Enzym, also um ein Enzym, das zusätzlich zur Hauptreaktion noch eine Nebenreaktion katalysiert. STAUFER et al. (2002) beschrieben, dass es durch einige Gallensäuren (z.B. Chenodesoxycholsäure und Desoxycholsäure) zu einer Hemmung der 11 β -HSD Aktivität kommt, was zu einer Aktivierung des Mineralocorticoidrezeptors führt. Die Autoren postulierten, dass der Anstieg der Konzentration dieser Gallensäuren im Blut von Patienten mit Gallengangs-Obstruktionen auf diese Hemmung der 11 β -HSD zurückzuführen sein könnte. Die gleiche Arbeitsgruppe

(ODERMATT et al., 2011) zeigte, dass die 11 β -HSD auch in der Lage ist, 7-Oxolithocholsäure (eine sekundäre Gallensäure) zu Chenodesoxycholsäure umzuwandeln, die zur Hemmung der 11 β -HSD führt. Sie sehen in diesen Resultaten einen weiteren Hinweis auf die Wirkung von erhöhten Gallensäurekonzentrationen auf den Mineralocorticoidrezeptor.

Anabole Wirkungen von durch das Darmmikrobiom gebildeten Steroiden

Auf der Suche nach geeigneten Mineralstoff- und Vitaminquellen für die Hühnerfütterung untersuchten RILEY und HAMMOND (1942), ob sich getrockneter Rinderkot dafür eignen könnte. Die Autoren fanden aber, dass die Zugabe von Rinderkot zum Futter ein Wachstum des Kammes bewirkte, dass also Androgene in diesem Futterzusatzstoff vorhanden waren. Spätere Studien zeigten, dass die Seitenkettenabspaltung von Cortisol für die Bildung von Androgenen die Ursache sein kann. BOKKENHEUSER et al. (1984) zeigten, dass ein Clostridienstamm (*Clostridium scindens*), den sie aus menschlichen Faeces isolierten, Glucocorticoide zu Androgenen umwandeln kann. Da Androgene anabole Wirkungen aufweisen, wird bei fleischliefernden Tieren in vielen Staaten stichprobenartig kontrolliert, ob hormonelle Masthilfsmittel eingesetzt werden. Dabei wurden immer wieder Proben gefunden, die geringe Mengen an Boldenon (Abb. 7) aufwiesen. Boldenon hat eine ähnliche Struktur wie Testosteron und galt lange als nicht natürlich vorkommendes Androgen.

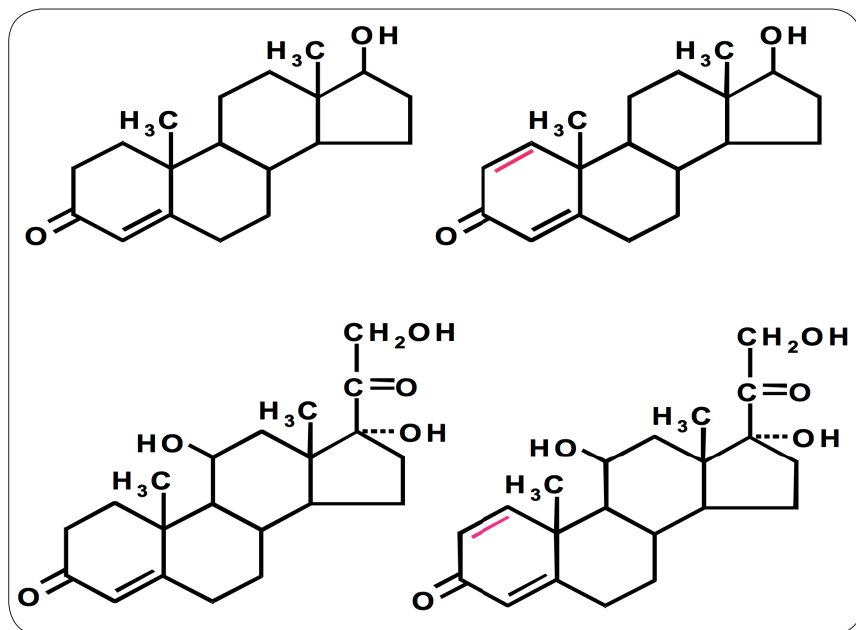


Abb. 7: Gegenüberstellung der Formeln von Testosteron (links oben) und Boldenon (rechts oben) sowie von Cortisol (links unten) und Prednisolon (rechts unten). Die Umwandlung erfolgt in beiden Fällen durch Einführung einer Doppelbindung in das Ausgangsmolekül (in rot dargestellt). / Comparison of the structures of testosterone (top left) and boldenone (top right) and cortisol (bottom left) and prednisolone (bottom right). The left and the right molecules differ by the additional double bond (highlighted in red).

Um die Ursache der positiven Nachweise bei Kälbern zu untersuchen, wurde der Kot aus dem Rektum von Kälbern, denen sicher kein Anabolikum verabreicht worden war, auf das Vorkommen verschiedener Androgene untersucht. Zusätzlich wurden Kotproben vom Stallboden untersucht. In den aus dem Rektum genommenen Proben waren geringe Mengen von Boldenon nachweisbar, bei den Proben vom Stallboden war die Konzentration von Boldenon deutlich höher, was zeigt, dass bakterielle Umsetzungen an der Boldenonsynthese beteiligt sind (POMPA et al., 2006).

In der Rindermast führen weiters auch niedrige Dosen von synthetischen Glucocorticoiden zu einer Verbesserung der Gewichtszunahme (GOTTARDO et al., 2008). Beim Einsatz hochempfindlicher Nachweisverfahren wurden immer wieder einzelne Tiere positiv auf Prednisolon (Abb. 7) getestet. Da geringe Mengen an Glucocorticoiden bei Rindern anabol wirken wurde untersucht, ob eine endogene Bildung dieses Glucocorticoids möglich ist oder ein unerlaubtes Masthilfsmittel verabreicht wurde. Durch Inkubation von Cortisol mit Rinderkot konnten ARIOLI et al. (2010) nachweisen, dass Bakterien im Kot in der Lage sind Prednisolon zu bilden. Diese Befunde stehen möglicherweise auch im Zusammenhang mit den Ergebnissen einer Studie von MONTANHOLI et al. (2013), in der die Futterverwertung und die Ausscheidung von Cortisolmetaboliten im Kot von Maststieren untersucht wurden, wobei als Cortisolmetaboliten die Konzentration von 11,17-Androstanen gemessen wurde. Stiere mit

einer besseren Futterverwertung schieden signifikant mehr von diesen Cortisolmetaboliten aus als Tiere mit einer schlechteren Futterverwertung.

Androgene und Tumorfrequenz im Darmtrakt

Androgene können auch die Entstehung von Tumoren im Darm beeinflussen. So ist bekannt, dass Männer ein höheres Risiko für Adenome oder Karzinome des Colons aufweisen als Frauen, und AMOSLANDGRAF et al. (2014) konnten anhand eines Rattenmodells zeigen, dass Androgene bei der Entwicklung dieser Tumoren einen Einfluss haben.

Anwendungsmöglichkeiten der Messung von Steroidhormonmetaboliten im Kot

Die Quantifizierung von Steroidhormonen kann wichtige Einblicke in die endokrinen Vorgänge bieten (Reproduktionsstatus, Belastungen). Die Sammlung von Blut- oder Harnproben mit Fixierung der Tiere stellt aber eine erhebliche Beunruhigung der Tiere dar, was sehr rasch zu einem Anstieg der Glucocorticoide im Blut führt.

Die Messung von Glucocorticoidmetaboliten im Kot umgeht das Problem des Einflusses der Probenahme, weil die Steroidhormonmetaboliten, die im Kot gemessen werden ja aus einer Zeit resultieren, die vor der Probenahme liegt, da es eine gewisse Zeit dauert, bis der Nahrungsbrei von der Einmündung des Gallenganges bis zum Rektum wandert (Darmpassagezeit). Nicht-invasive Methoden eröffnen die Möglichkeit mehrmaliger Probenahmen auch bei kleinen Spezies, wie z.B. Labornagern (TOUMA et al., 2003; KOLBE et al., 2012). Anwendungen finden diese Methoden bei Untersuchungen in der Verhaltens-, Stress- und Reproduktionsforschung, aber auch bei Untersuchungen über Haltungsbedingungen und Monitoring von Schmerzen (MERL et al., 2000). Aufgrund der speziesspezifischen Unterschiede der Glucocorticoidmetaboliten im Kot ist für die Analyse eine sorgfältige Auswahl der verwendeten Nachweisverfahren erforderlich (PALME, 2019). Solche nicht-invasiven Verfahren können auch für Untersuchungen über Vergleiche von Haltungsbedingungen bei Nutztieren verwendet werden.

Diese Möglichkeiten der nicht-invasiven Analyse von endokrinen Vorgängen sind auch in der Zoo- und Wildtierforschung ein nützliches Werkzeug (SCHWARZENBERGER et al., 1997) und führten zum

Begriff der „field endocrinology“ (WALKER et al., 2005). Auch bei Vögeln können nicht-invasiv Messungen in den Ausscheidungsprodukten durchgeführt werden (RETTENBACHER et al., 2004), wobei zu berücksichtigen ist, dass es sich beim Vogelkot bei den meisten Spezies um ein Gemisch von Kot und Harn handelt.

■ Bakterien, Steroide und die Umwelt

Ausbringung von Steroiden

Im Jahr 2014 betrug die geschätzte Menge an Faeces $3,9 \times 10^{12}$ kg weltweit (BERENDES et al., 2018), wobei der Großteil der Kotmenge durch die Nutztierhaltung entstand. Über die Ausscheidungsprodukte (Harn und Kot) gelangen Steroidhormone, ihre Metaboliten sowie synthetische Steroide (z.B. Ethinylöstradiol, synthetische Gestagene oder Glucocorticoide sowie deren Metaboliten) in die Umwelt.

Während die Ausscheidungsprodukte von Menschen in Kläranlagen eine Kaskade von aeroben/anaeroben Stufen durchlaufen, kommen tierische Ausscheidungsprodukte nach unterschiedlicher Lagerungsdauer wieder auf die Felder. Dabei gibt es Regelungen über die Menge und die Zeit der Ausbringung von Düngemitteln und auf wassergesättigten oder gefrorenen Böden darf kein Dünger ausgebracht werden, um die Abschwemmung in Oberflächengewässer zu verhindern. Anders stellt sich die Situation bei der Mast von Tieren in Feedlot-Systemen dar, wie sie beispielsweise in den USA betrieben werden. Bei diesem System der Tiermast gelangen große Mengen an Fäkalien auf einen sehr begrenzten Raum.

Für das Jahr 2000 schätzten LANGE et al. (2002), dass im damaligen Gebiet der Europäischen Union durch die Nutztierhaltung (Rinder, Schweine, Schafe und Hühner) 33 t Östrogene, 7,1 t Androgene und 312 t Gestagene ausgeschieden wurden. Für das Gebiet der USA wurden von diesen Autoren Ausscheidungsmengen von 49 t Östrogenen, 4,4 t Androgenen und 279 t Gestagenen errechnet. Diese Berechnungen beruhen teilweise auf Kalkulationen über die pro Tier täglich gebildeten Steroidhormonmengen sowie auf Messungen in den Ausscheidungen.

Stabilität der Steroide nach dem Kotabsatz

Da nach dem Kotabsatz ein Sauerstoffzutritt zum Kot erfolgen kann, ändert sich die Zusammensetzung der in den Kotproben lebenden Mikroorganismen. Die Geschwindigkeit der Metabolisierung ist von der Spezies, dem Hormon und der Umgebungstemperatur abhängig. So berichteten MACKICHAN und JUSKO (1979), dass in den Faeces von Menschen innerhalb eines Tages nur ein langsamer Abbau von

zugegebenem Cortisol stattfindet, während EL-BAHR und ALBOKHADAIM (2015) im Rinderkot einen raschen Abbau von zugegebenem Cortisol fanden. Auch Corticosteron wird im Rinderkot metabolisiert, allerdings langsamer als Cortisol. Wird die Messung von Glucocorticoiden oder deren Metaboliten im Kot als Parameter für die Neubildung dieser Hormone verwendet, so ist es wichtig, Informationen über die Stabilität dieser Verbindungen zu haben. PALME (2019) listet in seiner Übersichtsarbeit über die Glucocorticoidmessungen im Kot von Vertebraten auf, welche Arbeitsgruppen die Stabilität der Steroide mit den von ihnen verwendeten Assays untersucht hatten. Da Immunoassays oft mehrere immunreaktive Verbindungen im Kot nachweisen, kann es sein, dass unterschiedliche Assays unterschiedliche Resultate bezüglich der Stabilität von Steroiden ergeben (MÖSTL et al., 2002). HORAK und MÖSTL (2013) untersuchten die Konzentration von immunreaktiven Androgen- und Glucocorticoidmetaboliten im Kot und Harn während der Lagerung (Dauer 1 bis 61 Tage) mittels verschiedener Enzymimmunoassays und fanden, dass die Konzentration der immunreaktiven Verbindungen sowohl im Harn als auch im Kot in den ersten Tagen signifikant zunahm, was sie auf bakterielle Umsetzungsvorgänge zurückführten. Östrogene in Kotproben sind, verglichen mit anderen Steroidhormonen, in geringerem Ausmaß von bakteriellen Umsetzungsvorgängen betroffen (MÖSTL et al., 1983).

Im Boden kann es zu mikrobiell bedingten Veränderungen einiger Steroide kommen und auch ein vollständiger Abbau des Steroidgerüsts ist sowohl auf aerobem als auch auf anaerobem Weg möglich (CHIANG et al., 2010; CHEN et al., 2017; OLIVERA u. LUENGO, 2019).

Interessanterweise sind einige Steroide in manchen Böden erstaunlich beständig und können sich dort anreichern. So ist der Cholesterinmetabolit Coprostanol in der Umwelt sehr stabil und reichert sich durch die Kompostierung der Faeces im Boden an. Die Messung dieser Verbindung wird genutzt, um z.B. alte Siedlungsaktivitäten nachzuweisen (BETHELL et al., 1994). PROST et al. (2017) beschrieben, dass es sogar möglich ist, in diesen Siedlungsräumen durch Bodenanalysen nachzuweisen, welche Haustierarten gehalten wurden. Die Autoren bestimmten das Verhältnis verschiedener Phytosteroide, von Coprostanol und von Gallensäuren zueinander und verglichen diese Werte mit der Literatur über die Haustierhaltung im Besiedlungszeitraum. Nur die Unterscheidung von Rinder- und Schafhaltung war aufgrund der Steroidsignatur aus den Bodenproben nicht möglich.

Biologische Wirksamkeit in der Umwelt

Bei der Einschätzung der Umweltbelastung ist zu berücksichtigen, dass Steroidhormone und ihre Metaboliten oft deutlich unterschiedliche Wirkungs-

stärke aufweisen. So scheiden Wiederkäuer die Östrogene überwiegend in Form von Östradiol 17 α aus, welches ein schwach wirkendes Östrogen ist.

Das unsachgemäße Ausbringen von Harn oder Faeces auf die Felder kann zur Verunreinigung des Wassers führen. CASEY et al. (2020) untersuchten daher die Konzentration von Östrogenen in Wasserproben aus Entwässerungskanälen und wasserhaltigen Vertiefungen von Feldern, die mit den Ausscheidungen von Schweinen gedüngt worden waren. In diesen Proben wurden geringe Mengen von konjugierten (also gut wasserlöslichen) Östrogenen gefunden. Es gibt auch Untersuchungen über die Ausbreitung von hormonaktiven Steroiden, die als Masthilfsmittel eingesetzt werden, in der Umwelt (SCHIFFER et al., 2001; SEDLAK et al., 2012). Die Untersuchungen ergaben, dass die Steroide im Boden fixiert blieben und nur ein geringer Teil über das Oberflächenwasser abgespült wurde.

Ein Überblick über die Ausscheidung der verschiedenen Östrogene bei Nutztierspezies im Hinblick auf eine mögliche Umweltkontamination findet sich bei HANSELMAN et al. (2003). MÖSTL et al. (1997) untersuchten bei Rindern die Östrogenkonzentration im Stallmist in Abhängigkeit von der Lagerungsdauer (Schichttiefe im Misthaufen) und fanden, dass mit zunehmender Lagerungsdauer die Konzentration immunreaktiver Östrogene geringer wird, was die Autoren auf mikrobielle Abbauprozesse zurückführten.

Östrogenwirksame Verbindungen stammen aber nicht nur aus dem tierischen oder menschlichen Stoffwechsel oder aus der Einnahme von Medikamenten (z.B. Antibabypillen). Es gibt zahlreiche chemische Verbindungen mit einer nicht-steroidalen Grundstruktur, wie z.B. Stilbene, die Mykoöstrogene (Zeranol), aber auch Phthalsäureester und andere Industriechemikalien, die wie Östrogene wirken. Es wurde daher das Vorkommen von östrogenwirksamen Substanzen in verschiedenen Gebieten mittels Testverfahren untersucht, die östrogenwirksame Substanzen nachweisen, unabhängig von der chemischen Struktur dieser Verbindungen (Biotests). Ausgelöst wurde die Entwicklung dieser Analysen durch Hinweise, dass Östrogene in der Umwelt die Entstehung oder das Wachstum von Tumoren bei Säugetieren fördern und Fehlbildungen bewirken können (ADEEL et al., 2017). Fische reagieren auf fettlösliche (unkonjugierte) Steroidhormone im Wasser sehr empfindlich, weil große Mengen Wasser durch die Kiemen fließen und diese Hormone gleichsam aus dem Wasser extrahiert werden und sich im Fisch anreichern. Erhöhte Konzentrationen östrogenwirksamer Substanzen im Wasser führen rasch zur Verweiblichung männlicher Fische. Sie sind daher empfindliche Indikatoren für lipophile östrogenaktive Substanzen. Männliche juvenile Fische beginnen unter dem Einfluss von östrogenaktiven Substanzen, Dotterproteine (Vitellogenin) zu bilden, und der Nachweis dieses Proteins kann als Parameter für die Östro-

genbelastung dieser Tiere dienen. Die Messung der Vitellogenin-Expression in Leberzellen juveniler oder männlicher Fische ist ein sehr sensitives Nachweissystem für östrogenaktive Substanzen (HULTMAN et al., 2015). Untersuchungen in österreichischen Gewässern mit Hilfe eines Vitellogenintests wurden im Rahmen des Projekts ARCEM unter Beteiligung der Veterinärmedizinischen Universität Wien durchgeführt und 2003 publiziert (ARCEM, 2003). Dabei zeigte sich, dass in Österreich die Mengen an natürlich vorkommenden Östrogenen in den untersuchten Gewässern unbedenklich waren. In einigen Gewässern wurden aber leicht erhöhte Konzentrationen von Ethinylöstradiol gefunden. Ethinylöstradiol ist ein synthetisches Derivat von Östradiol und wird zur Empfängnisverhütung verwendet.

Von Östrogenen in der Umwelt sind aber nicht nur Vertebraten betroffen, sondern auch Invertebraten. So konnten KEAY u. THORNTON (2009) zeigen, dass auch bei Ringelwürmern (*Platynereis dumerilii* und *Capitella capitata*) ein aktivierbarer Östrogenrezeptor vorhanden ist. Endokrine Disruptoren sind also vermutlich in der Lage, große Teile einer Nahrungskette zu beeinflussen.

Es gibt aber auch Umweltbelastungen durch Androgene, Antiandrogene, Gestagene und (synthetische) Glucocorticoide (GRAY et al., 2006; SHEN et al., 2020). Mit zunehmender Intensivierung in der Nutztierproduktion steigt auch die Menge an Ausscheidungsprodukten, die pro Flächeneinheit in die Umwelt gelangen (LANGE et al., 2002; LIU et al., 2012). Es wurden daher Messungen der Umweltbelastungen durch Androgene, Gestagene und Glucocorticoide bedingt durch die Nutztierhaltung durchgeführt. Auch die kommunalen Abwässer von Städten wurden untersucht mit dem Ziel, die Umweltbelastung durch hormonaktive Substanzen bestmöglich zu vermeiden (FAN et al., 2011; ORLANDO u. ELLESTAD, 2014). Dabei konzentrieren sich die meisten Untersuchungen auf die eigentlichen Steroidhormone und deren Ester und kaum auf die Metaboliten. Die Annahme, dass Ausscheidungsmetaboliten von Steroidhormonen nicht hormonell aktiv sind, ist aber unrichtig. So konnten GRILLITSCH et al. (2010) zeigen, dass ein 5 α -reduziertes 11-Oxoandrostan (also ein Metabolit, der durch die Seitenkettenabspaltung von Cortisol entsteht) bei Reisfischen (*Oryzias latipes*) ein stark wirkendes Androgen ist.

Hormonell wirksame Steroide in Oberflächengewässern sind nicht nur Ausscheidungsprodukte von Tieren und Menschen, sie können auch durch mikrobielle Umwandlung von Phytosteroiden entstehen. JENKINS et al. (2003) beschrieben, dass in einem Fluss, in den Abwässer einer Papiermühle eingeleitet wurden, viele vermännlichte Kobold-Kärpflinge (*Gambusia holbrooki*, eine Fischart aus der Familie der Zahnkärpflinge) gefunden wurden. Untersuchungen des Wassers und der Flusssedimente ergaben, dass in den Sedimenten höhere Konzentrationen von Androstendion (ein Androgen und Vorstufe von Testosteron) und Progesteron vorkamen als im Wasser.

Die Autoren führten das darauf zurück, dass die Phytosteroide aus der Holzverarbeitung im Flusssediment akkumulierten und dort von Mikroorganismen in Androstendion und Progesteron umgewandelt wurden. Ähnliche Beobachtungen beschrieben auch BROCKMEIER et al. (2014).

Es bestehen vermutlich auch Interaktionen von Steroidhormonmetaboliten einer Spezies mit denen anderer Spezies. So wirken bei der Schwarzmundgrundel (*Neogobius melanostomus*) 11-Oxoätiocholanolon (ein 5 β -reduzierter Metabolit, der im Kot von Wiederkäuern vorkommt) sowie ähnliche Substanzen vermutlich als

Sexualpheromon (KATARE et al., 2011). Menschen und Rinder scheiden solche Verbindungen als Metaboliten von Cortisol aus.

Danksagung

Ich danke meiner Frau sowie Herrn Prof. Palme für die Diskussionen und Anregungen in der Entstehungsphase der Arbeit, meiner Frau auch für das kritische Lesen der Endfassung. Zwei Gutachtern habe ich unbekannterweise ebenfalls für Anregungen und Hinweise zu danken.

Fazit für die Praxis:

Das Darmmikrobiom ist ein (virtuelles) Organ, das über einen eigenen, teilweise individuell unterschiedlichen Steroidstoffwechsel verfügt und in der Lage ist, Substanzen zu bilden, die den Wirtsorganismus und sein Endokriniem aber auch die Umwelt erheblich beeinflussen können. Die bisherigen Untersuchungen über die teilweise überraschenden Wirkungen von Steroiden und ihrer mikrobiellen Metaboliten eröffnen Perspektiven für neuartige, individualisierte Therapieansätze durch Modifikationen der mikrobiellen Prozesse der Verstoffwechslung von Steroiden im Darm. Die Wirkung von ausgeschiedenen Steroidmetaboliten einer Spezies auf eine andere Spezies ist noch ein wenig bearbeitetes Gebiet der Umweltforschung, das aber in Zukunft durch die höhere Dichte von Individuen pro Flächeneinheit von zunehmender Bedeutung sein wird.

Literatur

- ABOBUCKER, S.I., SUZA, W.P. (2019): Why do plants convert sitosterol to stigmasterol? *Front Plant Sci* **10**, 354.
- ABUBUCKER, S., SEGATA, N., GOLL, J., SCHUBERT, A., IZARD, J., CANTAREL, B.L., RODRIGUEZ-MUELLER, B., ZUCKER, J., THIAGARAJAN, M., HENRISSAT, B., WHITE, O., KELLEY, S.T., METHE, B., SCHLOSS, P.D., GEVERS, D., MITREVA, M., HUTTENHOWER, C. (2012): Metabolic reconstruction for metagenomic data and its application to the human microbiome. *PLOS Comput Biol* **8**, e1002358.
- ADEEL, M., SONG, X., WANG, Y., FRANCIS, D., YANG, Y. (2017): Environmental impact of estrogens on human, animal and plant life: A critical review. *Environ Int* **99**, 107–119.
- AHMED, A., SCHMIDT, C., BRUNNER, T. (2019): Extra-adrenal glucocorticoid synthesis in the intestinal mucosa: Between immune homeostasis and immune escape. *Front Immunol* **10**, 1438.
- ALNOUTI, Y., KLAASSEN, C.D. (2006): Tissue distribution and ontogeny of sulfotransferase enzymes in mice. *Toxicol Sci* **93**, 242–255.
- AMOS-LANDGRAF, J.M., HEIJMANS, J., WIELENGA, M.C., DUNKIN, E., KRENTZ, K.J., CLIPSON, L., EDERVEEN, A.G., GROOTHUIS, P.G., MOSSELMAN, S., MUNCAN, V., HOMMES, D.W., SHEDLOVSKY, A., DOVE, W.F., van den BRINK, G.R. (2014): Sex disparity in colonic adenomagenesis involves promotion by male hormones, not protection by female hormones. *PNAS* **111**, 16514–16519.
- ARCEM - AUSTRIAN RESEARCH CO-OPERATION ON ENDOCRINE MODULATORS (2003): <https://www.umweltbundesamt.at/arcem/>; accessed May 14, 2020.
- ARIOLI, F., FIDANI, M., CASATI, A., FRACCHIOLA, M.L., POMPA, G. (2010): Investigation on possible transformations of cortisol, cortisone and cortisol glucuronide in bovine faecal matter using liquid chromatography-mass spectrometry. *Steroids* **75**, 350–354.
- BAHR, N., PALME, R., MÖHLE, U., HODGES, K., HEISTERMANN, M. (2000): Comparative aspects of the metabolism and excretion of cortisol in three individual nonhuman primates. *Gen Comp Endocrinol* **117**, 427–438.
- BARNARD, M., MOSTAGHEL, E.A., AUCHUS, R.J., STORBECK, K.H. (2020): The role of adrenal derived androgens in castration resistant prostate cancer. *J Steroid Biochem Mol Biol* **197**, 105506.
- BEHMER, S.T., OLSZEWSKI, N., SEBASTIANI, J., PALKA, S., SPARACINO, G., SCIARRINO, E., GREBENOL, R.J. (2013): Plant phloem sterol content: forms, putative functions, and implications for phloem-feeding insects. *Front Plant Sci* **4**, 370.
- BERENDES, D., YANG, P., LAI, A., HU, D., BROWN, J. (2018): Estimation of global recoverable human and animal faecal biomass. *Nature Sustainability* **1**, 679–685.
- BETERIUHNLETT, C. (2003): Der Begriff Biodiversität. *Nova Acta Leopoldina* **328**, 51–71.
- BETHELL, P.H., GOAD, R.P., EVERSHED, R.P., OTTAWAY, J. (1994): The study of molecular markers of human activity: the use of coprostanol in the soil as an indicator of human faecal material. *J Archaeol Sci* **21**, 619–632.
- BOKKENHEUSER, V.D., MORRIS, G.N., RITCBIE, A.E., HOLDEMAN, L.V., WINTER, J. (1984): Biosynthesis of androgen from cortisol by a species of clostridium recovered from human fecal flora. *J Infect Dis* **149**, 489–494.
- BROCKMEIER, E.K., JAYASINGHE, B.S., PINE, W.E., WILKINSON, K.A., DENSON, N.D. (2014): Exposure to paper mill effluent at a site in north central florida elicits molecular-level changes in gene expression indicative of progesterone and androgen exposure. *PLOS ONE* **9**, e106644.

- BUSNELLI, M., MANZINI, S., CHIESA, G. (2020): The gut microbiota affects host pathophysiology as an endocrine organ: A focus on cardiovascular disease. *Nutrients* **12**, 79.
- CANI, P.D. (2018): Human gut microbiome: hopes, threats and promises. *Gut* **67**, 1716–1725.
- CAPORASO, J.G., LAUBER, C.L., WALTERS, W.A., BERG-LYONS, D., LOZUPONE, C.A., TURNBAUGH, P.A., FIERER, N., KNIGHT, R. (2011): Global patterns of 16S rRNA diversity at a depth of millions of sequences per sample. *PNAS* **108**, 4516–4522.
- CARABOTTI, M., SCIROCCO, A., MASELLI, M.A., SEVERI, C. (2015): The gut-brain axis: interactions between enteric microbiota, central and enteric nervous systems. *Ann Gastroenterol* **28**, 203–209.
- CASEY, F.X.M., HAKK, H., DeSUTTER, T.M. (2020): Free and conjugated estrogens detections in drainage tiles and wells beneath fields receiving swine manure slurry. *Environ Pollut* **256**, 113384.
- CERONE-McLERNON, A.M., WINTER, J., MOSBACH, E.H., BOCKENHEUSER, V.D. (1981): Side-chain cleavage of cortisol by fecal flora. *Biochem Biophys Acta* **666**, 341–347.
- CHEN, Y.-L., YU, C.-P., LEE, T.-H., GOH, K.-S., CHU, K.-H., WANG, P.-H., ISMAEL, W., SHIH, C.-H., CHIANG, Y.-R. (2017): Biochemical mechanisms and catabolic enzymes involved in bacterial estrogen degradation pathways. *Cell Chem Biol* **24**, 712–724.
- CHIANG, Y.R., FANG, J.Y., ISMAEL, W., WANG, P.H. (2010): Initial steps in anoxic testosterone degradation by *Steroidobacter denitrificans*. *Microbiology* **156**, 2253–2259.
- CIMA, I., CORAZZA, N., DICK, B., FUHRER, A., HERREN, S., JAKOB, S., AYUNI, E., MUELLER, C., BRUNNER, T. (2004): Intestinal Epithelial Cells Synthesize Glucocorticoids and Regulate T Cell Activation. *J Exp Med* **200**, 1635–1646.
- CLAYTON, R.B. (1964): The utilisation of sterols by insects. *J Lipid Res* **5**, 3–19.
- COLLDÉN, H., LANDIN, A., WALLENIUS, V., ELEBRING, E., FÄNDRIKS, L., NILSON, M.E., RYBERG, H., POUTANEN, M., SJÖRGEN, K., VANDENPUT, L., OHLSON, C. (2019): The gut microbiota is a major regulator of androgen metabolism in intestinal contents. *Am J Physiol Endocrinol Metab* **317**, E1182–E1192.
- DERRIEN, M., ALVAREZ, A.-S., de VOS, W.M. (2019): The gut microbiota in the first decade of life. *Trends Microbiol* **27**, 997–1010.
- De SORDI, L., LOURENCO, M., DEBARBIEUX, L. (2019): “I will survive”: A tale of bacteriophage-bacteria coevolution in the gut. *Gut Microbes* **10**, 92–99.
- De WEERTH, C. (2017): Do bacteria shape our development? Crosstalk between intestinal microbiota and HPA axis. *Neurosci Biobehav Rev* **83**, 458–471.
- DUSZKA, K., WAHLI, W. (2018): Enteric Microbiota–Gut–Brain Axis from the Perspective of Nuclear Receptors. *Int J Mol Sci* **19**, 2210.
- EL-BAHR, S.M., ALBOKHADAIM, I.F. (2015): In vitro metabolic changes of glucocorticoids added to the faeces of ruminants. *Int J Biol Chem* **9**, 30–37.
- EVANS, J.M., MORRIS, L.S., MARCHESI, J.R. (2013): The gut microbiome: The role of a virtual organ in the endocrinology of the host. *J Endocrinol* **218**, R37–R47.
- EVRENSEL, A., CEYLAN, M.E. (2015): The gut-brain axis: The missing link in depression. *Clin Psychopharm Neu* **13**, 239–244.
- FAN, Z., WU, S., CHANG, H., HU, J. (2011): Behaviors of glucocorticoids, androgens and progesterones in a municipal sewage treatment plant: Comparison to estrogens. *Environ Sci Technol* **45**, 2725–2733.
- GARDINER, G.E., METZLER-ZEBELI, B.U., LAWLOR, P.G. (2020): Impact of intestinal microbiota on growth and feed efficiency in pigs: A review. *Microorganisms* **8**, 1886.
- GILL, S.R., POP, M., DEBOY, R.T., ECKBURG, P.B., TURNBAUGH, P.J., SAMUEL, B.S., GORDON, J.I., RELMAN, D.A., FRASER-LIGETT, C.M., NELSON, K.E. (2006): Metagenomic analysis of the human distal gut microbiome. *Science* **312**, 1355–1359.
- GODON, J.-J., ARULAZHAGAN, P., STEYER, J.-P., HAMELIN, J. (2016): Vertebrate bacterial gut diversity: size also matters. *BMC Ecol* **16**, 2.
- GOTTARDO, F., BRSCIC, M., POZZA, G., OSSENSI, C., CONTIERO, B., MARIN, A., COZZI, G. (2008): Administration of dexamethasone per os in finishing bulls. I. Effects on productive traits, meat quality and cattle behaviour as indicator of welfare. *Animal* **2**, 1073–1079.
- GRAY Jr., L.E., WILSON, V.S., STOKER, T., LAMBRIGHT, C., FURR, J., NORIEGA, N., HOWDESHHELL, K., ANKLEY, G.T., GUILLETTE, L. (2006): Adverse effects of environmental antiandrogens and androgens on reproductive development in mammals. *Internat J Androl* **29**, 96–104.
- GRILLITSCH, B., ALTMANN, D., SCHABUSS, M., ZORNIG, H., SOMMERFELD-STUR, I., MÖSTL, E. (2010): Mammalian glucocorticoid metabolites act as androgenic endocrine disruptors in the medaka (*Oryzias latipes*). *Environ Toxicol Chem* **29**, 1613–1620.
- HANSELMAN, T.A., GRAETZ, D.A., WILKIE, A.C. (2003): Manure-borne estrogens as potential environmental contaminants: a review. *Environ Sci Technol* **37**, 5471–5478.
- HOFER, U. (2019): Microbiome analyses in large human populations. *Nature Milestones, Human Microbiota Research, Milestone 17*, June 2019, S21.
- HONOUR, J. (1982): The possible involvement of intestinal bacteria in steroidal hypertension. *Endocrinology* **110**, 285–287.
- HORAK, K., MÖSTL, E. (2013): Increased androgen concentrations in cow faeces and urine during storage. *Wien Tierärztl Monat – Vet Med Austria* **100**, 24–33.
- HULTMAN, M.T., RUNDBERGER, J.T., TOLLEFSEN, K.E. (2015): Evaluation of the sensitivity, responsiveness and reproducibility of primary rainbow trout hepatocyte vitellogenin expression as a screening assay for estrogen mimics. *Aquat Toxicol* **159**, 233–244.
- JANECZKO, A., SKOCZOWSKI, A. (2005): Mammalian sex hormones in plants. *Folia Histochem Cytochem* **43**, 71–79.
- JENKINS, R.L., WILSON, E.M., ANGUS, R.A., HOWELL, M., KIRK, M. (2003): Androstenedione and progesterone in the sediment of a river receiving paper mill effluent. *Toxicol Sci* **73**, 53–59.
- JING, X., GREBENOK, R.J., BEHMER, S.T. (2012): Plant sterols and host plant suitability for generalist and specialist caterpillars. *J Insect Physiol* **58**, 235–244.
- KATARE, Y.K., SCOTT, A.P., LAFRAMBOISE, A.L., LI, W., ALYASHA, E., CAPUTO, C.B., LOEB, S.J., ZIELINSKI, B. (2011): Release of Free and Conjugated Forms of the Putative Pheromonal Steroid 11-oxo-etiocholanolone by Reproductively Mature Male Round Goby (*Neogobius Melanostomus* Pallas, 1814). *Biol Reprod* **84**, 288–298.
- KEAY, J., THORNTON, J.W. (2009): Hormone-activated estrogen receptors in anelid invertebrates: Implication for evolution and endocrine disruption. *Endocrinology* **150**, 1731–1738.
- KIM, K.O., GLUCK, M. (2019): Fecal microbiota transplantation: An update on clinical practice. *Clin Endosc* **52**, 137–143.
- KLEIN-JÖBSTL, D., QUIJADA, N.M., DZIECIOL, M., FELDBACHER, B., WAGNER, M., DRILLICH, M., SCHMITZ-ESSER, S., MANN, E.

- (2019): Microbiota of newborn calves and their mothers reveals possible transfer routes for newborn calves' gastrointestinal microbiota. *PLoS One* **14**, e0220554.
- KOCH, J., FLEKNA, G., IBEN, Ch., SMULDERS, F.J.M., PAULSEN, P. (2020): Mikrobiologische Qualität von Muskelgewebe vom Rind zur Rohverfütterung an Hunde. *Wien Tierärztl Monat – Vet Med Austria* **107**, 91–98.
- KOLBE, T., PALME, R., TOUMA, C., RÜLICHE, T. (2012): Repeated use of surrogate mothers for embryo transfer in the mouse. *Biol Reprod* **86**, 19.
- KOSKELLA, B., BROCKHURST, M.A. (2014): Bacteria–phage coevolution as a driver of ecological and evolutionary processes in microbial communities. *Microbiol Rev* **38**, 916–931.
- KRIAA, A., BOURGIN, M., POTIRON, A., MKAOAR, H., JABAOU, A., GÉRARD, P., MAGUIN, E., RHIMI, M. (2019): Microbial impact on cholesterol and bile acid metabolism: current status and future prospects. *J Lipid Res* **60**, 323–332.
- LANGE, I.G., DAXENBERGER, A., SCHIFFER, B., WITTERS, H., IBARRETAC, D., MEYER, H.H.D. (2002): Sex hormones originating from different livestock production systems: fate and potential disrupting activity in the environment. *Anal Chim Acta* **473**, 27–37.
- LE MAY, C., BERGER, J.M., LESPINE, A., PILLOT, B., PRIEUR, X., LETESSIER, E., HUSSAIN, M.M., COLLET, X., CARIOU, B., COSTET, P. (2013): Transintestinal cholesterol excretion is an active metabolic process modulated by PCSK9 and statin involving ABCB1. *Arterioscl Throm Vas* **33**, 1484–1493.
- LEXEN, E., EL-BAHR, S.M., SOMMERFELD-STUR, I., PALME, R., MÖSTL, E. (2008): Monitoring the adrenocortical response to disturbances in sheep by measuring glucocorticoid metabolites in the faeces. *Wien Tierärztl Monat - Vet Med Austria* **95**, 64–71.
- LING, W.H., JONES, P.J.H. (1995): Dietary phytosterols: A review of metabolism, benefits and side effects. *Life Sci* **57**, 195–206.
- LISHKO, P.V., BOTCHKINA, I.L., KIRICHOK, Y. (2011): Progesterone activates the principal Ca²⁺ channel of human sperm. *Nature* **471**, 387–391.
- LIU, S., YING, G.-G., ZHOU, L.-J., ZHANG, R.-QU., CHEN, Z.-F., LAI, H.-J. (2012): Steroids in a typical swine farm and their release into the environment. *Water Res* **46**, 3754–3768.
- LIU, T., SONG, X., KHAN, S., LI, Y., GUO, Z., LI, C., WANG, S., DONG, W., LIU, W., WANG, B., CAO, H. (2020): The gut microbiota at the intersection of bile acids and intestinal carcinogenesis: An old story, yet mesmerizing. *Int J Cancer* **146**, 1780–1790.
- LUO, Y., ZENG, B., ZENG, L., DU, X., LI, B., HUO, R., LIU, L., WANG, H., DONG, M., PAN, J., ZHENG, P., ZHOU, C., WEI, H., XIE, P. (2018): Gut microbiota regulates mouse behaviors through glucocorticoid receptor pathway genes in the hippocampus. *Transl Psychiatry* **8**, 187.
- LUSIS, A.J. (2000): Atherosclerosis. *Nature* **407**, 233–241.
- LY, L., ROWLES III, J.L., MÜLLER-PAUL, H., ALVES, J.M.P., YEMM, C., WOLF, P.M., DEVANDRAN, S., HUDSON, M.E., MORRIS, D.J., ERDMANN, J.W., RIDLON, J.R. (2020): Bacterial steroid-17,20-desmolase is a taxonomically rare enzymatic pathway that converts prednisone to 1,4-androstenediene-3,11,17-trione, a metabolite that causes proliferation of prostate cancer cells. *J Steroid Biochem Mol Biol* **199**, 105567.
- MacKICHAN, J., JUSKO, W.J. (1979): Hydrocortisone Stability in Human Feces. *J Pharm Sci* **68**, 623–625.
- MARKLE, J.G.M., FRANK, D.N., MORTIN-TOTH, S. ROBERTSON, C.E., FEAZEL, L.M., ROLLE-KAMPCZYK, U., von BERGEN, M., McCOY, K.D., MACPHERSON, A.J., DANSKA, J.S. (2013): Sex differences in the gut microbiome drive hormone-dependent regulation of autoimmunity. *Science* **339**, 1084–1088.
- MAZZOLI, R., PESSIONE, E. (2016): The neuro-endocrinological role of microbial glutamate and GABA signaling. *Front Microbiol* **7**, 1934.
- McINNES, K.J., KENYON, C.J., CHAPMAN, K.E., LIVINSTONE, D.E.W., MACDONALD, L.J., WALKER, B.R., ANDREW, R. (2004): 5 α -reduced glucocorticoids, novel endogenous activators of the glucocorticoid receptor. *J Biol Chem* **279**, 22908–22912.
- MERL, S., SCHERZER, S., PALME, R., MÖSTL, E. (2000): Pain causes increased concentrations of glucocorticoid metabolites in horse feces. *J Equine Vet Sci* **20**, 586–590.
- MetaHIT Metagenomes of the Human Intestinal Tract, Gut Microbiota for Health, <https://www.gutmicrobiotaforhealth.com/metahit/>; accessed March 27, 2020.
- METCALF, J., SONG, S.J., MORTON, J.T., WEISS, S., ORLANDO, A.S., JOLY, F., FEH, C., TABERLET, P., COISSAC, E., AMIR, A., WILLERSLEV, E., KNIGHT, R., MCKENZIE, V., ORLANDO, L. (2017): Evaluating the impact of domestication and captivity on the horse gut microbiome. *Sci Rep* **7**, 15497.
- MIDTVEDT, T., LINGAAS, E., CARLSTEDT-DUKE, B., HÖVERSTAD, T. (2009): Intestinal microbial conversion of cholesterol to coprostanol in man. *Apmis* **98**, 839–844.
- MILLER, W.L., AUCHUS, R.J., GELLER, D.H. (1997): The regulation of 17,20 lyase activity. *Steroids* **62**, 133–142.
- MÖSTL, E., NÖBAUER, H., CHOI, H.S., WURM, W., BAMBERG, E. (1983): Trächtigkeitsdiagnose bei der Stute mittels Östrogenbestimmung im Kot. *Prakt Tierarzt* **64**, 491–492.
- MÖSTL, E., DOBRETSBERGER, A., PALME, R. (1997): Östrogenkonzentration im Stallmist trächtiger Rinder. *Wien Tierärztl Monat – Vet Med Austria* **84**, 140–143.
- MÖSTL, E., MAGGS, J.L., SCHRÖTTER, G., BESENFELDER, U., PALME, R. (2002): Measurement of cortisol metabolites in faeces of ruminants. *Vet Res Commun* **26**, 127–139.
- MÖSTL, E., RETTENBACHER, S., PALME, R. (2005): Measurement of corticosterone metabolites in birds' droppings: An analytical approach. *Annals New York Acad Sci* **1046**, 17–34.
- MOLINERO, N., RUIZ, L., SANCHEZ, B., MARGOLLES, A., DELGADO, S. (2019): Intestinal bacteria interplay with bile and cholesterol metabolism. *Front Physiol* **10**, 185.
- MONTANHOLI, Y.R., PALME, R., HAAS, L.S., Van der VOORT, G., MILLER, S.P. (2013): On the relationship between glucocorticoids and feed efficiency in beef cattle. *Livestock Sci* **155**, 130–136.
- MONTAÑO, L.M., FLORES-SOTO, E., SOMMER, B., SOLÍS-CHAGOYÁN, H., PERUSQUÍA, M. (2020): Androgens are effective bronchodilators with anti-inflammatory properties: A potential alternative for asthma therapy. *Steroids* **153**, 108509.
- MORRIS, D.J., RIDLON, J.M. (2017): Glucocorticoids and gut bacteria: “The GALF Hypothesis” in the metagenomic era. *Steroids* **125**, 1–13.
- MORRIS, D.J., BREM, A.S. (2019): Role of gut metabolism of adrenal corticosteroids and hypertension: clues gut-cleansing antibiotics give us. *Physiol Genomics* **51**, 83–89.
- MORRISON, P.K., NEWBOLD, C.J., JONES, E., WORGAN, H.J., GROVE-WHITE, D.H., DUGDALE, A.H., BARFOOT, C., HARRIS, P.A., MCGARGO, C. (2018): The equine gastrointestinal microbiome: Impacts of age and obesity. *Front Microbiol* **9**, 3017.

- NEUMAN, H., DEBELIUS, J.W., KNIGHT, R., KOREN, O. (2015): Microbial endocrinology: the interplay between the microbiota and the endocrine system. *FEMS Microbiol Rev* **39**, 509–521.
- O'CALLAGHAN, T.F., ROSS, R.P., STANTON, C., CLARKE, G. (2016): The gut microbiome as a virtual endocrine organ with implications for farm and domestic animal endocrinology. *Domest Anim Endocrinol* **56**, 44–55.
- ODERMATT, A., Da CUNHA, T., PENNO, C.A., CHANDSAWANGBHUWANA, C., REICHERT, C., WOLF, A., DONG, M., BAKER, M.E. (2011): Hepatic reduction of the secondary bile acid 7-oxolithocholic acid is mediated by 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase 1. *Biochem J* **436**, 621–629.
- OLIVERA, E.R., LUENGO, J.M. (2019): Steroids as environmental compounds recalcitrant to degradation: Genetic mechanisms of bacterial biodegradation pathways. *Genes* **10**, 512.
- ORLANDO, E.F., ELLESTAD, L.E. (2014): Sources, concentrations, and exposure effects of environmental gestagens on fish and other aquatic wildlife, with an emphasis on reproduction. *Gen Comp Endocrinol* **203**, 241–249.
- PALME, R., FISCHER, P., SCHILDORFER, H., ISMAIL, M.N. (1996): Excretion of infused ¹⁴C steroid hormones via faeces and urine in domestic livestock. *Anim Reprod Sci* **43**, 43–63.
- PALME, R. (2019): Non-invasive measurement of glucocorticoids: advances and problems. *Physiol Behav* **199**, 229–243.
- PARIENTE, N. (2019): A field is born. *Nature Milestones, Human Microbiota Research, Foreword*, June 2019, S3-S4, www.nature.com/collections/microbiota-milestone; accessed March 27, 2020.
- PASCALE, A., MARCHESI, N., GOVONI, S., COPPOLA, A., GAZZARUSO, C. (2019): The role of gut microbiota in obesity, diabetes mellitus, and effect of metformin: new insights into old diseases. *Curr Opin Pharmacol* **49**, 1–5.
- PETERS, W.H.M., KOCK, L., NAGENGAST, F.M., KREMERS, P.G. (1991): Biotransformation enzymes in human intestine: critical low levels in the colon? *Gut* **32**, 408–412.
- PFAFFL, M.W., LANGE, I.G., MEYER, H.H.D. (2003): The gastrointestinal tract as a target of steroid hormone action: Quantification of steroid receptor mRNA expression (AR, ER α , ER β and PR) in 10 bovine gastrointestinal compartments by kinetic RT-PCR. *J Steroid Biochem Mol Biol* **84**, 159–166.
- POMPA, G., ARIOLI, F., FRACCHIOLLA, M.L., SGOIFO ROSSI, C.A., BASSINI, A.L., STELLA, S., BIONDI, P.A. (2006): Neoformation of boldenone and related steroids in faeces of veal calves. *Food Addit Contam* **23**, 126–132.
- PRETORIUS, E., AFRICANDER, D.J., VLOK, M., PERKINS, M.S., QUASON, J., STORBECK, K.-H. (2016): 11-Ketotestosterone and 11-Ketodihydrotestosterone in castration resistant prostate cancer: Potent androgens which can no longer be ignored. *PLoS ONE* **11**, e0159867.
- PROST, K., BIRK, J.J., LEHNDORFF, E., GERLACH, R., AMELUNG, W. (2017): Steroid Biomarkers Revisited – Improved Source Identification of Faecal Remains in Archaeological Soil Material. *PLoS ONE* **12**, e0164882.
- PUTIGNANI, L., DEL CHIERICO, F., PETRUCCA, A., VERNOCCHI, P., DALLAPICCOLA, B. (2014): The human gut microbiota: a dynamic interplay with the host from birth to senescence settled during childhood. *Pediatr Res* **76**, 2–10.
- RAMPELLI, S., SCHNOR, S.L., CONSOLANI, C., TURRONI, S., SEVERGNINI, M., PEANO, C., BRIGIDI, P., CRITTENDEN, A., HENRY, A.G., CANDELA, M. (2015): Metagenome sequencing of the Hadza hunter-gatherer gut microbiota. *Curr Biol* **25**, 1682–1693.
- RETTENBACHER, S., MÖSTL, E., HACKL, R., GHAREEB, K., PALME, R. (2004): Measurement of corticosterone metabolites in chicken droppings. *Br Poult Sci* **45**, 704–711.
- RIDLON, J.M., IKEGAWA, S., ALVES, J.M.P., ZHU, B., KOBAYASHI, A., IIDA, T., MITAMURA, K., TANABE, G., SERRANO, M., De GUZMAN, A., COOPER, P., BUCK, G.A., HYLEM ON, P.B. (2013): *Clostridium scindens*: a human gut microbe with a high potential to convert glucocorticoids into androgens. *J Lipid Res* **54**, 2437–2449.
- RIDLON, J.M. (2020): Conceptualizing the vertebrate sterolbiom. *Appl Environ Microb* **86**, e00641-20.
- RILEY, G.M., HAMMOND, J.C. (1942): An androgenic substance in feces from cattle as demonstrated by tests on the chick. *Endocrinology* **31**, 653–658.
- RUOFF, W.I., DZIUK, P.J. (1994): Absorption and metabolism of estrogens from the stomach and duodenum of pigs. *Domest Anim Endocrinol* **11**, 197–208.
- SADANAND, S. (2019): Beyond bacteria: studies of other host-associated microorganisms. *Nature Milestones, Human Microbiota Research, Milestone 8*, June 2019, S12, www.nature.com/collections/microbiota-milestone; accessed May 16, 2020.
- SÄENZ, J.P., GROSSER, D., BRADLEY, A.S., LAGNY, T.J., LAVRYNENKO, O., BRODA, M., SIMSON, K. (2015): Hopanoids as functional analogues of cholesterol in bacterial membranes. *PNAS* **112**, 11971–11976.
- SALEN, G., AHRENS, E.H., GRUNDY, S.M. (1970): Metabolism of β -Sitosterol in Man. *J Clinical Invest* **49**, 952–967.
- SARKAR, A., HARTY, S., JOHNSON, K.V.A., MOELLER, A.H., CARMODY, R.N., LETHO, S.M., ERDMANN, S.E., DUNBAR, R.I.M., BURNET, P.W.J. (2020): The role of the microbiome in the neurobiology of social behavior. *Biol Rev* **95**, 1131–1166.
- SATO, R., SUZUKI, T., KATAYOSE, Y., MIURA, K., SHIIBA, K., TATENO, H., MIKI, Y., AKAHIRA, J., KAMOGAWA, Y., NAGASAKI, S., YAMAMOTO, K., II, T., EGAWA, S., EVANS, D.B., UNNO, M., SASANO, H. (2009): Steroid sulfatase and estrogen sulfotransferase in colon carcinoma: Regulators of intratumoral estrogen concentrations and potent prognostic factors. *Cancer Res* **69**, 914–922.
- SCHATZ, S., PALME, R. (2001): Measurement of faecal cortisol metabolites in cats and dogs: A non-invasive method for evaluating adrenocortical function. *Vet Res Commun* **25**, 271–287.
- SCHEDL, H.P., CLIFTON, J.A., MILLER, D., NUKES, G., WHITE, D. (1963): Cortisol absorption in man. *Gastroenterology* **44**, 134–145.
- SCHIFFER, B., DAXENBERGER, A., MEYER, K., MEYER, H.H.D. (2001): The fate of trenbolone acetate and melengestrol acetate after application as growth promoters in cattle: Environmental studies. *Environ Health Persp* **109**, 1145–1151.
- SCHMIDT, M., UNTERER, S., SUCHODOLSKI, J.S., HONNEFFER, J., GUARD, B.C., LIDBURY, J.A., STEINER, J., FRITZ, J., KÖLLE, P. (2018): The fecal microbiome and metabolome differs between dogs fed Bones and Raw Food (BARF) diets and dogs fed commercial diets. *PLoS ONE* **13**, e0201279.
- SCHWARZENBERGER, F., PALME, R., BAMBERG, E., MÖSTL, E. (1997): A review of faecal progesterone metabolite analysis for non-invasive monitoring of reproductive function in mammals. *Zeitschr Säugetierk - Int J Mammal Biol* **62**, Suppl. II, 214–221.
- SEDLAK, D., KOŁODZIEJ, E.P., HARTER, T. (2012): Final report: Transport and transformation of natural and synthetic steroid hor-

- mones at beef cattle and dairy concentrated animal feeding operations (CAFOs): <https://cfpub.epa.gov/ncer/abstracts/index.cfm/fuseaction/display.abstractDetail/abstract/8425/report/F>; accessed March 30, 2020.
- SENDER, R., FUCHS, S., MILO, R. (2016): Are we really vastly outnumbered? Revisiting the ratio of bacterial to host cells in humans. *Cell* **164**, 337–340.
- SHADE, A., HANDELSMAN, J. (2012): Beyond the Venn diagram: the hunt for a core microbiome. *Environ Microbiol* **14**, 4–12.
- SHEN, X., CHANG, H., SUN, Y., WAN, Y. (2020): Determination and occurrence of natural and synthetic glucocorticoids in surface waters. *Environ Int* **134**, 105278.
- SIGURJONSDOTTIR, H.A., MANMEM, K., AXELSON, M., WALLERSTEDT, S. (2003): Subjects with essential hypertension are more sensitive to the inhibition of 11 β -HSD by liquorice. *J Human Hypertension* **17**, 125–131.
- SINGH, J., METRANI, R., SHIVANAGOUDRA, S.R., JAYAPRAKASHA, G.K., PATIL, B.S. (2019): Review on bile acids: Effects of the gut microbiome, interactions with dietary fiber, and alterations in the bioaccessibility of bioactive compounds. *J Agr Food Chem* **67**, 9124–9138.
- SMALL, D.M. (2003): Role of ABC transporters in secretion of cholesterol from liver into bile. *Proc Natl Acad Sci USA* **100**, 4–6.
- SOUNESS, G.W., MORRIS, D.J. (1996): 11 α - and 11 β -hydroxyprogesterone, potent inhibitors of 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase, possess hypertensinogenic activity in the rat. *Hypertension* **27**, 421–425.
- SPERANZA, A. (2010): Into the world of steroids: A biochemical “keep in touch” in plants and animals. *Plant Sig Behav* **5**, 940–943.
- STALDER, G.L., PINIOR, B., ZWIRZITZ, B., LONCARIC, I., JAKUPOVIĆ, D., VETTER, G., SMITH, S., POSAUTZ, A., HOELZL, F., WAGNER, M., HOFFMANN, D., KÜBBER-HEISS, A., MANN, E. (2019): Gut microbiota of the European Brown Hare (*Lepus europaeus*). *Sci Rep* **9**, 2738.
- STAUFER, A., ROCHAT, M.K., DICK, B., FREY, F.J., ODERMATT, A. (2002): Chenodeoxycholic acid and deoxycholic acid inhibit 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 2 and cause cortisol-induced transcriptional activation of the mineralocorticoid receptor. *J Biol Chem* **277**, 26286–26292.
- TAVES, M.D., GOMEZ-SANCHEZ, C.E., SOMA, K.K. (2011): Extra-adrenal glucocorticoids and mineralocorticoids: evidence for local synthesis, regulation, and function. *Am J Physiol Endocrinol Metab* **301**, E11–E24.
- TESKEY-GERSTL, A., BAMBERG, E., STEINECK, Th., PALME, R. (2000): Excretion of corticosteroids in urine and faeces of hares (*Lepus europaeus*). *J Comp Physiol B* **170**, 163–168.
- TETEL, M.J., De VRIES, G.J., MELCANGI, R.C., PANZICA, G., O'MAHONY, S.M. (2018): Steroids, stress and the gut microbiome-brain axis. *J Endocrinol* **30**, Special Issue:e12548.
- THE HUMAN MICROBIOME PROJECT CONSORTIUM (2012): Structure, function and diversity of the healthy human microbiome. *Nature* **486**, 207–214.
- THURSBY, N., JUGÉ, N. (2017): Introduction to the human gut microbiota. *Biochem J* **474**, 1823–1836.
- TOUMA, C., MÖSTL, E., SACHSER, N., PALME, R. (2003): Effect of sex and time of day on metabolism and excretion of corticosterone in urine and feces of mice. *Gen Comp Endocrinol* **130**, 267–278.
- TUDDENHAM, S., SEARS, C.L. (2015): The intestinal microbiome and health. *Curr Opin Infect Dis* **28**, 464–470.
- TURCU, A., NANBA, A.T., AUCHUS, R.J. (2018): The Rise, Fall, and Resurrection of 11-Oxygenated Androgens in Human Physiology and Disease. *Horm Res Paediatr* **89**, 284–291.
- WADE, A.P., SLATER, J.D.H., KELLIE, A.E., HOLLIDAY, M.E. (1959): Urinary excretion of 17-ketosteroids following rectal infusion of cortisol. *J Clin Endocrinol Metab* **19**, 444–453.
- WALKER, B.G., DEE BOERSMA, P., WINGFIELD, J.C. (2005): Field Endocrinology and Conservation Biology. *Integr Comp Biol* **45**, 12–18.
- WANG, C., LIU, Y., CAO, J.M. (2014): G protein-coupled receptors: extranuclear mediators for the non-genomic action of steroids. *Int J Mol Sci* **15**, 15412–15425.
- WANG, S., DONG, W., LIU, L., XU, M., WANG, Y., LIU, T., ZHANG, Y., WANG, B., CAO, H. (2019): Interplay between bile acids and the gut microbiota promotes intestinal carcinogenesis. *Mol Carcinogenesis* **58**, 1155–1167.
- WASSWA, E., SEMAFUKO, B., SHEFF, M.F., GRIMES, C.A., LATIF, S.A., SADANIANTZ, A., LEVINSON, P., DAVID, J., MORRIS, D.J. (1993): Inhibitors of 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase and 5 β -steroid reductase in urine from patients with congestive heart failure. *Ann Clin Lab Sci* **23**, 456–461.
- WEETE, J., ABRIL, M., BLACKWELL, M. (2010): Phylogenetic distribution of fungal sterols. *PLoS ONE* **5**, e10899.
- WINBORN, W.B., SHERIDAN, P.J., MCGILL, H.C. (1987): Steroid receptors in the stomach, liver, pancreas, and the gastrointestinal tract of the baboon. *Gastroenterology* **92**, 23–32.
- WOLFF, S.M., KIMBAL, H.R., MARSHALL, J.R. (1973): The effects of hydrocortisone and estrogen on experimental fever induced by etiocholanolone. *J Infect Dis* **128**, 243–247.
- YANG, C., NIXON, M., KENYON, C.J., LIVINGSTONE, D.E.W., DUFFIN, R., ROSSI, A.G., WALKER, B.R., ANDREW, R. (2011): 5 α -reduced glucocorticoids exhibit dissociated anti-inflammatory and metabolic effects. *Brit J Pharmacol* **164**, 1661–1671.
- YANO, J.M., YU, K., DONALDSON, G.P., SHASTRI, G.G., ANN, P., MA, L., NAGLER, C.R., ISMAGILOV, R.F., MAZMANIAN, S.K., HSIAO, E.Y. (2015): Indigenous bacteria from the gut microbiota regulate host serotonin biosynthesis. *Cell* **161**, 264–276.
- ZHENG, J.-C., SUN, S.-L., YUE, X.-R., LIU, T.-X., JING, X. (2018): Phylogeny and evolution of the cholesterol transporter NPC1 in insects. *J Insect Physiol* **107**, 157–166.
- ZHU, B., WANG, X., LI, L. (2010): Human gut microbiome: the second genome of human body. *Protein Cell* **1**, 718–725.
- ZIMMERMANN, M., ZIMMERMANN-KOGADEEVA, M., WEGMANN, R., GOODMAN, A. (2019): Mapping human microbiome drug metabolism by gut bacteria and their genes. *Nature* **570**, 462–467.
- ZOETENDAL, E.G., AKKERMANS, A., DE VOS, W. (1998): Temperature gradient gel electrophoresis analysis of 16S rRNA from human fecal samples reveals stable and host-specific communities of active bacteria. *Appl Environ Microbiol* **64**, 3854–3859.
- ZOLKOWSKA, D., DHIR, A., KRISHNAN, K., COVEY, D.F., ROGAWSKI, M.A. (2014): Anticonvulsant potencies of the enantiomers of the neurosteroids androsterone and etiocholanolone exceed those of the natural forms. *Psychopharmacology (Berl)* **231**, 3325–3332.