

Aus dem Ludwig Boltzmann-Institut für Veterinärmedizinische Endokrinologie und dem Institut für Biochemie (Leiter bzw. Vorstand: O. Univ. Prof. Dr. Dr. h. c. E. Bamberg) der Veterinärmedizinischen Universität Wien

Östrogenkonzentration im Stallmist trächtiger Rinder

E. MÖSTL, A. DOBRETSBERGER und R. PALME

eingelangt am 20. 1. 1997

Schlüsselwörter: Östrogene, Trächtigkeit, Rind, Umwelt.

Keywords: oestrogens, pregnancy, cow, environment.

Zusammenfassung

Bei 17 Kühen wurden von der ersten Woche nach der Konzeption bis ca. 2 Wochen vor dem errechneten Geburts-termin wöchentlich, anschließend bis 7 Tage p. p. täglich, Kotproben gesammelt. Der Mist aus dem Abkalbestall wurde im Herbst und Winter getrennt gelagert, und im Frühjahr wurden Proben aus verschiedenen Schichten des Misthaufens gezogen. Die Quantifizierung der Östrogene erfolgte mittels Enzymimmunoassay. Die Östrogenausscheidung der Tiere stieg ab der 24. Woche a. p. an und erreichte am Tag vor der Geburt Maximalwerte von 2,8 $\mu\text{mol/kg}$ Faeces (Median). Die berechnete Exkretion dieser Steroide während der gesamten Gravidität betrug 3,8 mmol (0,76 g) pro Kuh. Nur in den äußeren Schichten des Misthaufens wurden vereinzelt hohe Konzentrationen (bis 3,9 $\mu\text{mol/kg}$) gemessen. Im Inneren des Misthaufens wurden die Östrogene vermutlich durch bakterielle Vorgänge in nicht immunreaktive Substanzen umgewandelt.

Summary

Oestrogen concentration in dung of pregnant cows

Faecal samples from 17 cows were collected once a week from the week after conception till 2 weeks before term, then daily till 7 days p. p. A dung hill containing only faeces from cows 7 days before till 2 days after parturition was built up during autumn and winter. Dung samples were collected during springtime from different layers of the hill. The oestrogen concentration was measured using enzyme immunoassay.

Oestrogen excretion via faeces increased from the 24th week a. p. onwards, reaching maximum levels (median: 2.8 $\mu\text{mol/kg}$ faeces) at the day before parturition. During one pregnancy the calculated excretion was 3.8 mmol (0.76 g) per cow. In the dung hill only at the surface layer significant amounts of oestrogens were measured (maximum value 3.9 $\mu\text{mol/kg}$), whereas inside the hill the oestrogen concentrations were at the limit of detection. Therefore we conclude, that oestrogens are converted by bacteria into non immunoreactive substances.

Abkürzungen: a. p. = ante partum; p. p. = post partum

Einleitung

In der Rinderplazenta werden Östrogene gebildet (SCHULER et al., 1994), die überwiegend in konjugierter Form in das Blut des Muttertiers gelangen (HOFFMANN, 1994). Zahlreiche Arbeiten beschreiben den Verlauf der Konzentration der verschiedenen Östrogenmetaboliten im Blut trächtiger Rinder (u. a. EISSA u. BELELY, 1990; HOFFMANN, 1977; MÖSTL et al., 1981). Östron ist das mengenmäßig dominierende Östrogen, gefolgt von Östradiol-17 α und Östradiol-17 β , wobei die Konzentrationen der konjugierten Verbindungen jeweils um den Faktor 10 - 100 höher sind als die der nichtkonjugierten Steroide.

HOFFMANN (1994) gibt einen Überblick über den Verlauf der Östrogenkonzentrationen im Blut gravider Rinder: Östronsulfat steigt ab dem dritten Graviditätsmonat kontinuierlich an und erreicht am Tag der Geburt das Maximum. Im Gegensatz dazu erhöht sich die Menge an unkonjugierten Östrogenen erst in den letzten Graviditätswochen deutlich und erreicht unmittelbar präpartal ähnlich wie Östronsulfat die Maximalwerte. Nach GRUNERT et al. (1989) spielen die Östrogene u. a. eine Rolle bei der Vorbereitung des weiblichen Genitaltrakts auf die Geburt sowie bei den Vorgängen, die zur Lösung der Plazenta führen.

Östrogene werden über Kot, Harn und Milch ausgeschieden, wobei bei den Wiederkäuern der Kot der Hauptausscheidungsweg ist (PALME et al., 1996). Die Steroide werden dabei in der Leber metabolisiert, konjugiert und über die Galle in den Darm ausgeschieden. Durch Bakte-

rien werden die Östrogene dekonjugiert und teilweise rückresorbiert (TAYLOR, 1971). Von den Östrogenen kommt in den Faeces von Rindern überwiegend nichtkonjugiertes Östradiol-17 α vor (CHOI, 1987). Der Anstieg der Östrogene im Kot der Rinder ist ähnlich dem Verlauf der Östronsulfatkonzentration im Blut (MÖSTL et al., 1984).

Vom Frischmist trächtiger Tiere ist bekannt, daß er biologisch aktive Östrogene enthält. Diese Östrogene können auch über die Haut resorbiert werden. So berichtet WATKINS (1995), daß in einer Gruppe von 20 nicht-trächtigen Kalbinnen alle eine Euteranbildung aufwiesen. Der Palpationsbefund der Eierstöcke ergab kleine, azyklische Ovarien ohne Funktionskörper. Auslösend für diese Zyklusstörungen war, daß bei diesen Rindern Einstreu aus einem Stall mit trächtigen Stuten verwendet wurde (gravide Stuten scheiden insbesondere mit dem Harn sehr hohe Östrogenmengen aus). Durch Verwendung einer anderen Einstreu konnte 4 Wochen später bei 17 Tieren ein Gelbkörper palpirt werden.

Neben endogen gebildeten Östrogenen wurden in den letzten Jahren zahlreiche Stoffe mit östrogenen Wirksamkeit beschrieben. Diese Xenoöstrogene wirkten ähnlich wie die vom Körper gebildeten Hormone speziell im Reproduktionstrakt, wobei sie chemisch gesehen oft ganz anderen Stoffklassen angehören als die Steroidhormone. So können zum Beispiel auch Pflanzen und Pilze östrogenwirksame Verbindungen bilden. Weiters enthalten auch einige Pestizide sowie Kunststoffe solche Substanzen. Im Vergleich zu den im Körper gebildeten Östrogenen haben die Xenoöstrogene zum Teil eine deutlich geringere Wirk-

samkeit, sie werden in der Umwelt und im Körper aber nur langsam abgebaut und akkumulieren daher. Die Auswirkungen der Umweltkontamination mit solchen Chemikalien wurden bei Reptilien, Fischen und Vögeln genauer untersucht. So berichtete RALOFF (1994) über die Feminisierung von Alligatoren in Florida durch Dicofol, einem Pestizid ähnlich dem DDT. Bei Fischen beschrieben GIMENO et al. (1996), daß 4-tert-Pentylphenol (TPP) zu einer Feminisierung von Fischen führt, wobei Tiere in den Phasen der sexuellen Differenzierung besonders empfindlich gegenüber den Einwirkungen von östrogenwirksamen Substanzen sind.

Auch für den Mann wurde postuliert, daß die Zunahme der Fertilitätsprobleme in den letzten Jahrzehnten auf die zunehmende Kontamination der Umwelt des Menschen mit hormonaktiven Verbindungen zurückzuführen sei (u. a. JENSEN et al., 1995). Ziel unserer Untersuchungen war es, die Ausscheidung von Östrogenen während der Gravidität bei Rindern zu messen und zu untersuchen, in welchem Ausmaß die während der Trächtigkeit gebildeten Östrogene während einer landwirtschaftsüblichen Lagerung des Mistes abgebaut werden.

Material und Methode

Die Quantifizierung der Östrogenausscheidung wurde bei 17 Kühen des Lehr- und Forschungsgutes der Veterinärmedizinischen Universität Wien durchgeführt. Ab der Woche der Besamung erfolgte einmal wöchentlich bei jedem dieser Tiere eine Probennahme. Zwei Wochen vor bis eine Woche nach der Geburt wurden dann von jedem Tier täglich Kotproben gesammelt. Nach der Entnahme wurden die Faeces in Plastikröhrchen gefüllt und bis zur Analyse bei -20° C eingefroren. Zur Untersuchung der Veränderung der Östrogenkonzentration während der Lagerung im Misthaufen wurde von August bis November der im Abkalbestall anfallende Mist (mit hohem Östrogengehalt) getrennt vom übrigen Mist gelagert. Der so entstandene Misthaufen

wurde auf betoniertem Untergrund errichtet und hatte eine Höhe von 2,5 m, eine Länge von 4 und eine Breite von 3 m. Bei der ersten Probenziehung am 29. 3. 1996 war der Misthaufen durch die Verrottungsvorgänge auf eine Höhe von 1,8 m zusammengesunken. Mit einem Frontlader wurde ein Teil des Misthaufens in einer Höhe von 50, 100 und 150 cm angehoben. Aus dem entstandenen Spalt wurde in einer Tiefe von 80 und 50 cm sowie nahe der Oberfläche (in ca. 5 cm Tiefe) eine Probe entnommen. Die mit dem Frontlader aufgehobene Schicht wurde nach der Probenahme wieder abgesenkt, sodaß das Gefüge des Misthaufens weitgehend erhalten blieb. Weitere Probenziehungen erfolgten am 11. 5. und 28. 6. 1996. An jedem Probenahmetag wurden jeweils zusätzlich von der Oberfläche des Misthaufens 3 Proben gezogen, sodaß von jedem Tag 12 Proben zur Verfügung standen.

Die Analyse der Östrogene erfolgte mittels Enzymimmunoassay, wobei, in Abänderung der von PALME u. MÖSTL (1994) beschriebenen Methode, ein in Kaninchen erzeugter Antikörper gegen unkonjugierte Östrogene verwendet wurde (Antigen: Östradiol-17 β , 17 Hemisuccinat: Rinder Serumalbumin). Der Assay wies Kreuzreaktionen mit Östron (100%), Östradiol-17 β (350%), Östradiol-17 α (145%), Dihydroequilenin-17 β (14,2%) und Östriol (14%) auf. Die Kreuzreaktionen mit anderen Steroiden (Androgenen und Gestagenen) waren unter 1%. Als Standard wurde Östron verwendet. Da der Enzymimmunoassay mit allen beim Rind vorkommenden Östrogenen reagiert, sind die gemessenen Werte als Östronäquivalente anzusehen.

Die Östrogenwerte wurden in bezug auf den Abkalbetermin gruppiert, und die Datenauswertung erfolgte mittels des SPSS-Programmpaketes für Windows. Für die Berechnung der Östrogenmenge, die ein Rind während der Gravidität ausscheidet, wurde von einer durchschnittlichen Kotmenge von 40 kg pro Tag ausgegangen (DIRKSEN, 1990). Es wurde daher jedes Analysenresultat mit dem Faktor 40 multipliziert, die Werte der wöchentlichen Probenziehung zusätzlich mit dem Faktor 7. Durch Addition dieser Zahlen ergab sich die Menge an Östrogenen, die von einem Rind während einer Gravidität ausgeschieden wurde.

Ergebnisse

Östrogenkonzentration im Kot

Da die Östrogenwerte in den Proben keine Normalverteilung aufwiesen, erfolgte die Darstellung des Hormonverlaufes der Kühe in Form einer „Box-plot“-Graphik (Abb. 1). Bis zur 27. Woche a. p. war die Östrogenkonzentration bei allen Tieren unter 15 nmol/kg Faeces. Dann kam es zu einem kontinuierlichen Anstieg der Konzentration im Kot, wobei jedoch große individuelle Variationen bestanden. 3 Wochen vor der Geburt wurden Werte zwischen 793 und 1534 nmol/kg erreicht (Median: 929 nmol/kg). Nach der Geburt kam es zum raschen Absinken der Östrogenkonzentrationen in den Faeces. Die Berechnung der während einer Gravidität über den Kot ausgeschiedenen Östrogenmenge ergab Durchschnittswerte von 3,8 mmol/

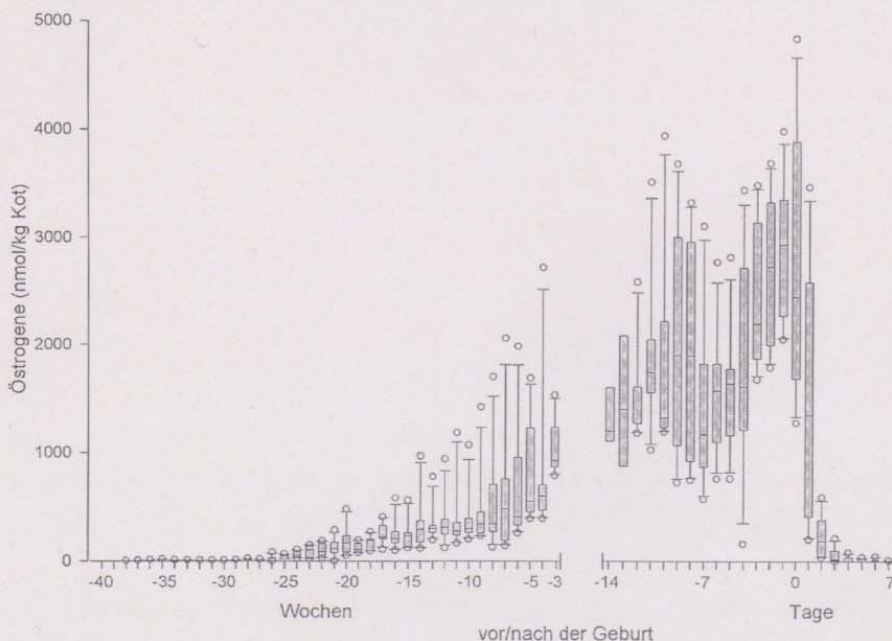


Abb. 1: Verlauf der Östrogenkonzentration im Rinderkot während der Trächtigkeit