



**WETENSCHAPPELIJK COMITE
VAN HET FEDERAAL AGENTSCHAP VOOR DE VEILIGHEID
VAN DE VOEDSELKETEN**

ADVIES 29-2009

Betreft : Opkomende chemische risico's - Gevalsstudie: Hormoonverstorende stoffen (dossier Sci Com 2007/07bis : eigen initiatief).

Advies gevalideerd door het Wetenschappelijk Comité op 9 oktober 2009.

Samenvatting

Dit advies betreft een gevalsstudie over hormoonverstorende stoffen in de voedselketen met als doel een synthese te geven van de huidige kennis over dit onderwerp en aanbevelingen te doen voor het controleprogramma van het Federaal Agentschap voor de Veiligheid van de Voedselketen (FAVV) en voor het wetenschappelijk onderzoek. Er wordt aandacht besteed aan fyto-oestrogenen (natuurlijke stoffen), chemische contaminanten (persistente chemische polluenten zoals organochloor-bestrijdingsmiddelen en hun metabolieten), industriële producten (zoals bisfenol A) en farmaceutische producten.

Het Wetenschappelijk Comité raadt in het bijzonder aan om controles uit te voeren op aanwezigheid van fyto-oestrogenen in levensmiddelen (novel food, voedingssupplementen).

Summary

Advice 29-2009 of the Scientific Committee of the FASFC on endocrine disruptors

This advice concerns a case study on endocrine disruptors in the food chain aimed at presenting a synthesis of current knowledge on the subject and to make recommendations for the control program of the Federal Agency for the Safety of the Food Chain (FASFC) and for scientific research. Phytoestrogens (natural), chemical contaminants (persistent organic pollutants such as organochlorine pesticides and their metabolites), industrial products (such as bisphenol A) and pharmaceuticals are considered.

The Scientific Committee particularly recommends to control the presence of phytoestrogens in food (novel food, food supplements).

Sleutelwoorden

Hormoonverstorende stoffen, fyto-oestrogenen, chemische contaminanten, farmaceutische producten

1. Referentietermen

1.1. Doelstellingen

Het Wetenschappelijk Comité bracht reeds eerder een advies uit (advies 35-2007) over opkomende chemische risico's. Dat advies bestond uit twee delen. In het eerste deel werd het begrip « opkomende chemische risico's (OCR)» gedefinieerd, werd de studie van OCR gesitueerd in de nationale en de internationale context en werd een systeem voor de indeling van opkomende chemische risico's voorgesteld. Het tweede deel behandelde een grondige gevalstudie over « opkomende mycotoxinen ».

Het doel van het huidig advies bestaat erin, onder de vorm van gevalsstudies, de hormoonverstorende stoffen te bestuderen om een synthese te geven van de huidige kennis en aanbevelingen te doen voor het controleprogramma van het FAVV en voor het wetenschappelijk onderzoek.

Overwegende de besprekingen tijdens de vergaderingen van de werkgroep van 19 februari 2008, 27 mei 2008, 5 september 2008, 12 februari 2009, 3 april 2009 en de plenaire zitting van 9 oktober 2009,

geeft het Wetenschappelijk Comité het volgende advies :

2. Hormoonverstorende stoffen – Algemene inleiding

Met de term «hormoonverstorende stoffen» wordt een groep van stoffen aangeduid die de hormoonwerking kunnen verstoren. Het «International Programme for Chemical Safety (IPCS)» en andere experts omschreven « hormoonverstorende stoffen » als volgt : “Een hormoonverstorende stof is een stof of een exogeen mengsel van stoffen die één of meer functies van het endocrien systeem verstoren en als gevolg daarvan schadelijke gezondheidseffecten veroorzaken in een intact organisme, zijn nageslacht of (deel)populaties daarvan” (EC, 1999).

Heel wat chemische stoffen werken als hormoonverstorende stoffen doordat zij interfereren met het hormonale systeem van mensen of dieren. Twee hormonale systemen die door deze stoffen worden getroffen houden verband enerzijds met oestrogenen, androgenen en progestagenen en anderzijds met het schildklierhormoon. De werking van de hormonen wordt gemedieerd door de kern receptoren binnen de doelcellen : oestrogeenreceptoren (ER α en ER β), androgeenreceptoren (AR), progestageenreceptoren (PR) en schildklierhormoonreceptoren (TR). Afwijkende effecten op deze hormonale systemen gebeuren meestal (zie verder) via deze receptoren en spelen een rol bij een groot aantal ziekten zoals het metabool syndroom, met inbegrip van obesitas en type-2 diabetes, hart- en vaatziekten, kanker, immuniteitsproblemen, groeistoornissen, ademhalingsproblemen, slechte werking van het centraal zenuwstelsel, vroegtijdige puberteit en onvruchtbaarheid (Preziosi, 1998). Verder wordt ook de normale ontwikkeling van de foetus nauwkeurig afgeregeld door de hormonen. Bijgevolg kan blootstelling aan chemische stoffen bij het prille begin van het leven onomkeerbare veranderingen teweegbrengen die leiden tot ziekte, functiestoornissen en/of verhoogde risico's op volwassen leeftijd (Preziosi, 1998).

De modulering van endocriene functies door xenobiotica¹ waardoor de hormonale werking toeneemt of afneemt, kan plaatsvinden via de volgende drie mechanismen:

¹ Xenobioticum: Een algemene term, afgeleid uit het Grieks 'xeno' dat betekent vreemd, gebruikt ter aanduiding van een vreemde stof in het lichaam. Xenobiotica kan veroorzaken gunstige effecten (geneesmiddelen) of toxische effecten (Lood).

- 1) door het blokkeren van de receptoren van natuurlijke hormonen (antagonistisch effect),
- 2) door het nabootsen van de effecten van de natuurlijke liganden van de hormoonreceptoren (agonistisch effect),
- 3) rechtstreeks door het moduleren van de synthese, het transport, het metabolisme en de uitscheiding van de natuurlijke hormonen, zonder interactie met de hormoonreceptoren.

Hormoonverstorende stoffen zijn ofwel natuurlijke producten (fyto-œstrogenen) ofwel synthetische chemische verontreinigingen (persisterende organische pollutanten (POP), bestrijdingsmiddelen en andere industriële producten, residuen van geneesmiddelen,...).

Er wordt in de literatuur geen enkel specifiek criterium beschreven om een hormoonverstorend effect te evalueren en er bestaat thans ook geen gestandaardiseerde benadering. Toch werden een aantal testen voorgesteld door het Amerikaanse Agentschap voor Milieubescherming (EPA) en de Organisatie voor Economische Samenwerking en Ontwikkeling (OESO) (EPA, 2009 ; OCDE, 2000 ; Huet, 2000 ; Clode, 2006).

De beschikbare tools om bij mensen een hormoonverstorend effect te meten steunen op *in vitro* en *in vivo* studies.

In vivo kan, bij ratten en muizen, een œstrogene en/of anti-œstrogene activiteit worden waargenomen (uterotrope test) of anders een androgene of anti-androgene activiteit (Hershberger-test).

In vitro steunen de testen vooral op de cellulaire en moleculaire werkingsmechanismen van de hormoonverstorende stoffen. De resultaten kunnen niet naar de *in vivo* situatie worden geëxtrapoleerd in de vorm van farmacologisch-toxicologische effecten. Zij houden immers geen rekening met de adsorptie, het transport, de biotransformatie en de eliminatie die het xenobioticum na inname ondergaat.

Dit document is meer in het bijzonder toegespitst op de œstrogene effecten van bepaalde stoffen, namelijk de fyto-œstrogenen (natuurlijke stoffen), een aantal chemische verontreinigingen (persistente organische pollutanten zoals PCB's, dioxinen en furanen, organochloor-bestrijdingsmiddelen en metabolieten daarvan), industriële producten (zoals bisfenol A, alkylfenolen waaronder nonylfenol, phtalaten) met velerlei toepassingen en een aantal residuen van geneesmiddelen die in de voedselketen en in het milieu terechtkomen. In bijlage zijn specifieke fiches gevoegd die vier types van hormoonverstorende stoffen bespreken die in de voedselketen kunnen voorkomen, nl. :

- genisteïne als vertegenwoordiger van de fyto-œstrogenen (bijlage 2),
- DDT en afgeleide producten voor de milieucontaminanten (bijlage 3),
- bisfenol A (BPA) als vertegenwoordiger van de industriële producten (bijlage 4),
- ethinylœstradiol als vertegenwoordiger van de residuen van geneesmiddelen (bijlage 5).

Voor deze vier stoffen wordt een poging tot grondiger risicoanalyse voorgesteld.

3. Fyto-œstrogenen

3.1. Gevarenidentificatie

De term «fyto-œstrogenen» verwijst naar een aantal uit de plantenwereld afkomstige moleculen met verschillende structuren, die niet steroïdaal zijn maar met name na metabolisering² gelijkenis vertonen met de structuur van œstradiol en verbindingen kunnen aangaan met oestrogenreceptoren (AFSSA, 2005).

Fyto-œstrogenen behoren tot de klasse van de polyfenolen. De drie belangrijkste klassen van fyto-œstrogenen zijn coumestanen, isoflavonen en lignanen (Duquesnoy, 2005). Prenylflavanonen zijn nog een andere belangrijke klasse van fyto-œstrogenen maar die komen minder vaak voor in gewone levensmiddelen. Men treft ze vooral aan in hop en dus ook in bier en in een aantal voedingssupplementen (Overk *et al.*, 2008).

Een aantal fyto-œstrogenen komen voor in levensmiddelen die zowel regelmatig (bijvoorbeeld sommige groenten, graan en vooral lijnzaad die lignanen bevatten) of niet (soja die isoflavonen bevat) in het Westen worden gegeten. Deze stoffen komen ook voor in bereidingen op basis van sojaewit die bestemd zijn voor zuigelingen en peuters (AFSSA, 2005).

De literatuur maakt melding van een groot aantal planten met een œstrogene effect. Arao *et al.* (2007) onderzochten 88 planten op œstrogene activiteit. 18 van deze 88 planten brengen een œstrogene activiteit tot uitdrukking.

Cimicifuga racemosa (zilverkaars) is in België beschikbaar in de vorm van voedingssupplementen die worden gebruikt tegen kwalen die samenhangen met de menopauze (Bolle *et al.*, 2007; Borrelli *et al.*, 2003). De plant bevat triterpeenglycosiden. Formononetine werd geïdentificeerd door Bolle *et al.* (2007) als een stof die zich in de uterus van ratten bindt met de œstrogenreceptor. Borrelli *et al.* (2003) meldden dat *Cimicifuga racemosa* eerder op het centraal zenuwstelsel dan op de hormonenhuishouding zou inwerken. De gegevens over de aard van de werkzame stoffen en het werkingsmechanisme zijn nog controversieel, vooral wat de œstrogene activiteit betreft.

De planten die œstrogene eigenschappen bezitten zijn soja (zaad), klaver (bladeren), luzerne (bladeren), hop (bellen), kudzu (*Pueraria lobata*) (bladeren en wortel), zoethout (wortel), vlas (zaad) en venkel (vruchten) (AFSSA, 2005). De vruchten van de groene anijs (*Pimpinella anisum*) en van badiaan of steranijs (*Illicium verum*) zouden dezelfde eigenschappen hebben als venkel.

De fyto-œstrogenconcentraties kunnen aanzienlijk verschillen al naargelang van de plantensoort (FSA, 2003). In sojazaad verschillen de concentraties en de chemische vormen van fyto-œstrogenen ook al naargelang van het ras (FSA, 2003).

Bijlage 1 bevat een overzicht van de belangrijkste natuurlijke stoffen die bekend staan om hun œstrogene effect. De lijst is niet exhaustief.

3.2. Gevarenkarakterisatie

Fyto-œstrogenen bezitten œstrogene eigenschappen die te wijten zijn aan het feit dat hun structuur na metabolisering lijkt op die van het steroïdale hormoon 17 β -œstradiol. Zij bevatten immers hydroxyl- en/of fenolgroepen met een tussenafstand die gelijkaardig is aan die in de structuur van œstradiol. De chemische structuur van de fyto-œstrogenen is bepalend voor de affiniteit, de selectiviteit en de bindingsefficiëntie met de oestrogenreceptoren ER α en ER β (FSA, 2003). Fyto-œstrogenen gaan een binding aan met de twee receptoren. Genisteïne, coumestrol en daidzeïne geven echter blijk van een

² Fyto-œstrogenen komen vaak in planten voor in de vorm van glucosiden zonder œstrogene activiteit.

grotere selectiviteit voor een binding met de oestrogenreceptor ER β dan met de oestrogenreceptor ER α (FSA, 2003). Fyto-oestrogenen kunnen de werking van oestradiol nabootsen of blokkeren hoewel zij minder actief zijn. Fyto-oestrogenen kunnen als agonisten optreden en een gunstige invloed hebben (op hart en bloedvaten en op het beendergestel) bij vrouwen in de menopauze met een duidelijk lagere oestrogeenspiegel. Daarentegen kunnen zij, hetzij het risico op borst- en baarmoederkanker vergroten; hetzij dit risico verminderen door hun optreden als antagonist (anti-oestrogeen) met een beschermend effect tegen borstkanker; toxische effecten uitoefenen in het stadium van de ontwikkeling via interferentie met de normale seksuele differentiëring (Scippo and Maghuin-Rogister, 2007). De belangrijkste schadelijke effecten hangen samen met een intra-uteriene blootstelling aan fyto-oestrogenen die kan gepaard gaan met teratogene of carcinogene effecten op het voortplantingsstelsel (Preziosi, 1998; Scippo and Maghuin-Rogister, 2007). Men moet zich ook afvragen of zij verantwoordelijk kunnen zijn voor de toename van het aantal gevallen van gynecomastie, of zelfs van borstkanker, bij oudere mannelijke individuen.

In een recent artikel over het metabolisme van fyto-oestrogenen van soja onderstrepen Cederroth and Nef (2009) ook de gunstige eigenschappen van soja op de glucose- en lipidenstofwisseling.

Op grond van de resultaten van *in vitro* en *in vivo* studies van fyto-oestrogenen kon het FSA (2003) een rangschikking naar oestrogene activiteit opmaken (relatief oestrogeen potentieel) van de fyto-oestrogenen (hoewel die moeilijk bepaalbaar is omdat de activiteitswaarden afhangen van de gebruikte test en aanzienlijke verschillen vertonen) : oestradiol > coumestrol > genisteïne en equol > glyciteïne, 8-PN > daidzeïne > formononetine, biochanine A, 6-prenylnaringenine, xanthohumol en isoxanthohumol. De oestrogene activiteit van de geconjugeerde metabolieten is kleiner dan die van de moeder fyto-oestrogenen (FSA, 2003).

Een aantal wetenschappelijke publicaties wezen op de mogelijkheid van bereidingen op basis van soja voor peuters om de schildklierfunctie te beïnvloeden. Men heeft zich daarbij sterk toegespitst op de effecten van de bereidingen in schildklier functietesten en de mogelijke wisselwerking ervan met een vervangingstherapie met thyroxine (FSA, 2003). Er moet hier echter worden vermeld dat, in aansluiting op de klinische ervaring die werd opgedaan bij patiëntes die orale contraceptiva gebruiken, dat de in de tests vastgestelde effecten op het TBG (Thyroxin Binding Globulin) en op de totale (vrij+gebonden) schildklierhormonen T3 en T4 niet worden vastgesteld voor de vrije (biologisch actieve) vormen. Men mag dus besluiten dat de hormoonverstorende stoffen zoals fyto-oestrogenen of residuen van ethinyloestradiol geen invloed hebben op de schildklierfunctie als zodanig.

In vitro studies hebben aangetoond dat fyto-oestrogenen immuunreacties kunnen beïnvloeden (FSA, 2003).

Courant (2007) heeft, op basis van de literatuurgegevens, een aanvaardbare dagelijkse dosis (ADI) voor fyto-oestrogenen geschat op 7,3 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{dag}$.

3.3. Blootstellingschatting

Schatting van de aanvoer van fyto-oestrogenen via de voeding is van essentieel belang om de risico's en de voordelen van deze stoffen te kunnen beoordelen.

Fyto-oestrogenen komen in de eerste plaats voor in plantaardige producten. Soja, groenten en fruit bevatten de grootste hoeveelheden. Men mag echter niet voorbijgaan aan de aanvoer van fyto-oestrogenen via bier aangezien hop een belangrijke bron is (Chadwick *et al.*, 2006). Voor mensen die voedingssupplementen gebruiken (bijvoorbeeld vrouwen in de menopauze) moet ook die aanvoer worden meegerekend om de blootstelling te bepalen.

3.3.1. Levensmiddelen van dierlijke oorsprong

De aanwezigheid van fyto-oestrogenen in matrices van dierlijke oorsprong is nog weinig bestudeerd maar wordt als onaanzienlijk beschouwd in vergelijking met de oestrogene hormonen die op natuurlijke wijze in vlees, slachtafval, melk en eieren voorkomen (Maghuin-Rogister, 1991; Stephany *et al.*, 2004; Courant *et al.*, 2007).

Kuhnle *et al.* (2008) bepaalden het fyto-œstrogenen gehalte (isoflavonen : biochanine A, daidzeïne, formononetine, genisteïne, en glyciteïne; lignanen : secoisolariciresinol en matairesinol; coumestrol; equol; enterolacton; en enterodiol) in 115 levensmiddelen van dierlijke oorsprong. Het gemiddelde gehalte was gelijk aan 20 µg/100 g nat gewicht (Kuhnle *et al.*, 2008).

Volgens Duquesnoy (2005) heeft het rantsoen van melkkoeien invloed op de hoeveelheid fyto-œstrogenen in de melk. Zearalenon (ZEN) is vaak gepaard met verontreiniging van de maïs. Er zij aangestipt dat dit niet echt een fyto-œstrogeen is maar eerder een mycotoxine die bepaalde plantaardige producties, zoals graan, verontreinigt. ZEN wordt voor het merendeel omgezet in α-zearalenol dat ongeveer 10 keer zo toxisch is als de moedertoxine en, in mindere mate, in β-zearalenol dat weinig toxisch is. ZEN en de metabolieten ervan houden een potentieel risico in voor de consument omdat ze in koemelk worden uitgescheiden.

3.3.2. Levensmiddelen van plantaardige oorsprong

De belangrijkste fyto-œstrogenen in levensmiddelen zijn isoflavonen, lignanen, coumestanen en flavonoiden. Isoflavonen en lignanen worden volgens Ritchies *et al.* (2006) het vaakst aangetroffen in het dieet.

3.3.3. Voedingssupplementen

Het FSA (2003) voerde testen uit op een aantal voedingssupplementen met fyto-œstrogenen die beschikbaar zijn in het Verenigd Koninkrijk. De blootstelling aan isoflavonen werd op ongeveer 1,5 mg/kg lichaamsgewicht geraamd voor een volwassen persoon van 60 kg waarbij werd uitgegaan van de door de fabrikanten aanbevolen dagelijkse inname voor de hoogste isoflavonenconcentratie. De BfR (2007) rapporteerde een dagelijkse inname van 40, 50 en 80 mg uit sojazaad geïsoleerde isoflavonen via voedingssupplementen.

Het ministerieel besluit van 28/02/05 tot wijziging van het koninklijk besluit van 29 augustus 1997 betreffende de fabricage van en de handel in voedingsmiddelen die uit planten of uit plantenbereidingen samengesteld zijn of deze bevatten vermeldt onder meer de volgende maximumgehalten die niet mogen worden overschreden :

- Zilverkaars : *Cimicifuga racemosa*
dagelijks ingenomen portie, **maximum 3,0 mg triterpeenglycosiden** (berekend als 27-déoxyactéïne)
- Hop : *Humulus lupulus*
dagelijks ingenomen portie, **maximum 400 µg** (uitgedrukt in 8-prenylnaringenine)
- Soja, *Glycine max*
dagelijks ingenomen portie, **maximum 40 mg** (uitgedrukt als flavonglycoside)
- Kuisboom : *Vitex agnus-castus*
dagelijks ingenomen portie, **maximum 96 mg equivalent gedroogde vrucht**

De maximumgehalten verschillen al naargelang van de fytochemische klasse van de hormoonverstorende stoffen.

3.3.4. Dranken

Volgens de door Kyle and Duthie aangemaakte databank zijn catechines de flavanoïden die het vaakst voorkomen in dranken zoals vruchtensap, thee en wijn (vermeld door Andersen and Markham, 2006).

De totale gehalte aan œstrogenen van bier is 500 tot 1000 maal kleiner dan wat nodig is voor een schadelijke activiteit *in vivo* (~100 mg/L) bij ratten (vermeld door Possemiers, 2007).

Recente gegevens over de fyto-œstrogeenconcentraties in levensmiddelen kunnen te vinden zijn in de volgende publicaties: Blitz *et al.*, 2007 ; Gry *et al.*, 2007 ; Kuhne *et al.*, 2009a, 2009b ; Schwartz *et al.*, 2009.

3.4. Risicokarakterisatie

Fyto-oestrogenen bestaan vooral uit de isoflavonen die in grote hoeveelheden worden aangetroffen in soja en sojaproducten en enterolignanen, waarvan de precursoren (lignanen) in kleinere hoeveelheden voorkomen in een groot aantal levensmiddelen : fruit, groenten, graan en oliehoudende zaden. Er bestaan nog andere moleculen, zoals coumestanen, die vooral voorkomen in klaver en luzerne, die niet worden gebruikt voor menselijke voeding, maar wel bestanddelen zijn van sommige voedingssupplementen. Andere fyto-oestrogenen (chalconen, isoflavanen...) werden nog maar weinig bestudeerd. Sommige planten worden van oudsher gebruikt vanwege hun mogelijke oestrogene effecten (AFSSA, 2005).

Wereldwijde onderzoeken naar fyto-oestrogenen gaven aanleiding tot een groot aantal tegenstrijdige berichten in de wetenschappelijke en de populaire pers over de risico's en de positieve effecten van het eten van producten die veel fyto-oestrogenen bevatten.

Bij dieren werden negatieve effecten op de vruchtbaarheid aangetoond bij blootstelling aan grote hoeveelheden fyto-oestrogenen (Duquesnoy, 2005). Dat doet veronderstellen dat gelijkaardige effecten zouden kunnen voorkomen bij de mens, in het bijzonder bij baby's die worden gevoed met producten op basis van soja. Studies die werden gedaan bij bevolkingen die traditioneel voedsel met veel fyto-oestrogenen eten, zoals Chinezen en Japanners, doen echter veronderstellen dat er een positieve invloed kan zijn op osteoporose, hart- en vaatziekten en bepaalde kankersoorten (FSA, 2003). De gevoeligheid voor oestrogenen zou echter verschillen al naargelang van het ras of de eetgewoonten (Sharpe, 1998).

Fyto-oestrogenen lijken in staat te zijn om invloed uit te oefenen op een aantal functies van het menselijk lichaam (BfR, 2007). Als zij zich met dezelfde receptoren als voor de lichaamseigen oestrogenen binden, zij het met een geringere affiniteit, kunnen zij theoretisch een gunstige invloed hebben op de preventie van borstkanker, prostaatkanker en, in bepaalde omstandigheden, op hart- en vaatziekten en osteoporose. De kennis van de effecten van fyto-oestrogenen en van de effecten van andere bioactieve planten is echter ontoereikend om aanbevelingen te kunnen doen omtrent de inname van specifieke stoffen (BfR, 2007). Zo werd de consumptie van levensmiddelen op basis van soja met veel isoflavonen slechts matig in verband gebracht met een afname van colonkanker (vermeld door Andersen and Markham, 2006).

Factoren zoals leeftijd en biologische gevoeligheid voor de verschillende mogelijke beschermers of voor de nadelige effecten (die veranderen met de leeftijd) van isoflavonoïden lijken een rol te spelen. Vrouwen die de menopauze voorbij zijn kunnen, wat bescherming tegen hartziekten en osteoporose betreft, voordeel doen met behandelingsstrategieën waarbij isoflavonoïden worden gebruikt als vervanging van de lichaamseigen oestrogenen. Ook oudere mannen kunnen zich beschermen tegen een aantal problemen zoals prostaatkanker en hart- en vaatziekten (vermeld door Andersen and Markham, 2006).

Het AFSSA (het Franse Agentschap voor de sanitaire veiligheid van levensmiddelen) publiceerde in 2005 een werk over fyto-oestrogenen. Voor elk in die studie behandeld punt worden aanbevelingen gedaan die bestemd zijn voor het wetenschappelijk onderzoek, de volksgezondheid en de informatieverstrekking aan consumenten. Op basis van toxicologische studies stelde het AFSSA een bovengrens voor de inname vast (waarboven toxische effecten zouden kunnen worden vastgesteld) van 1 mg/kg lichaamsgewicht en per dag voor isoflavonen en deed het in 2005 de aanbeveling om levensmiddelen of voedingssupplementen als volgt te etiketteren:

« - *Levensmiddelen op basis van soja (tonyu, miso, tofu, yoghurt en sojadesserten) : Bevat X mg isoflavonen (familie van de fyto-oestrogenen). Met mate gebruiken (dagelijks niet meer dan 1 mg/kg lichaamsgewicht innemen). Afgeraden voor kinderen van minder dan 3 jaar oud. Voedingssupplementen (zuivere fyto-oestrogenen of extracten van planten die deze bevatten) en verrijkte voedingsmiddelen : Bevat X mg [betreffende molecule (n)]* (familie van de fyto-oestrogenen). Niet meer dan 1 mg/kg lichaamsgewicht per dag innemen. Afgeraden voor vrouwen die zelf borstkanker hebben gehad of van wie familieleden borstkanker hebben gehad. Bespreek dit met uw arts.*

** isoflavonen en/of isoflavanen en/of coumestanen en/of flavanonen en/of chalconen en/of enterolignanen »*

Experts van de COT-werkgroep (Committee on Toxicity) onderzochten: i) of fyto-østrogeen een risico vormen voor jonge kinderen die voeding op basis van soja krijgen; ii) of het innemen van fyto-østrogeen gevolgen heeft voor andere bevolkingsgroepen en iii) of het gebruik van fyto-østrogeen gunstige gevolgen kan hebben.

De COT-werkgroep besluit dat het mogelijk is dat fyto-østrogeen nadelige gevolgen kunnen hebben voor hypothyroïde personen. Daarnaast treedt de groep, bij gebrek aan overtuigend bewijsmateriaal, niet de bewering bij dat fyto-østrogeen een gunstige invloed hebben op de gezondheid. Daarom raadt COT-werkgroep aan om nog meer onderzoek te doen zodat een fijnere evaluatie kan worden gemaakt van het risico dat samenhangt met het innemen van fyto-østrogeen (FSA, 2003).

Het BfR (Bundesinstitut für Risikobewertung) heeft een evaluatie uitgevoerd van de effecten op de gezondheid van voedingssupplementen die isoflavonen bevatten en komt tot de conclusie dat het over een lange termijn innemen van voedingssupplementen met een hoog isoflavonengehalte niet zonder risico is voor borskanker bij vrouwen tijdens en na de menopauze (BfR, 2007).

Als voorbeeld van een risicoanalyse van een fyto-østrogeen behandelt één van de in bijlage bijgevoegde fiches de risicoanalyse van genisteïne.

4. Industriële en milieugebonden verontreinigingen (hormoonverstorende stoffen)

4.1. Gevarenidentificatie

De oestrogene xenobiotica bestaan uit verschillende groepen van chemische producten : organochloor-bestrijdingsmiddelen (DDT, endosulfan), herbiciden (atrazine), verontreinigingen (PCB's, dioxinen), industriële chemische producten zoals alkylfenolen en phtalaten.

4.1.1. Bestrijdingsmiddelen en biociden

Van een aantal bestrijdingsmiddelen en hun metabolieten, zoals DDT, diuron, atrazine, endosulfan, methoxychlor, toxafeen, kepone, linuron en vinclozoline werd gemeld dat zij een hormonale activiteit hebben (Miyamoto and Klei, 1998).

Een groot aantal bestrijdingsmiddelen en industriële chemische verbindingen hebben een oestrogeenachtige werking, komen overal in het milieu voor en komen terecht in de voedselketen. De volgende bestrijdingsmiddelen hebben een oestrogene activiteit: endosulfan, 1-hydroxychloraan, dicofol en methoxychlor. Sommige daarvan, zoals methoxychlor moeten eerst metabolisatie ondergaan voordat zij zich binden met de oestrogeenreceptoren en hun metabolieten kunnen een oestrogeen activiteit hebben (Liehr *et al.*, 1998).

Eén van de meest bekende xeno-oestrogenen is o,p'-DDT, de belangrijkste contaminant in DDT. Als bijlage is een risicoanalyse van DDT bijgevoegd.

Chloordecone (kepone), dieldrine, aldrine, endosulfan, toxafeen en linuron hebben oestrogene en anti-androgene eigenschappen. Chloordecone en o,p'-DDD hebben een gelijkaardige affiniteit voor oestrogeen- en progesteronreceptoren.

Triclosan is een bactericide dat wordt gebruikt als bestanddeel van detergenten voor medisch gebruik en in schoonmaakmiddelen (Calafat *et al.*, 2008b). Het gaat niet om een zuivere stof, ze kan verontreinigd zijn met dioxinen. Men vindt triclosan terug in huisstof omdat het in huis wordt gebruikt. De stof zou eigenschappen van een hormoonverstorende stof hebben (Veldhoen *et al.*, 2006).

Verordening (EG) nr. 396/2005³ stelt maximumgehalten vast (MRL) voor bestrijdingsmiddelenresiduen in of op levensmiddelen en diervoeders van plantaardige oorsprong. De in Europa geldende maximumwaarden zijn terug te vinden op de website van DG SANCO (http://ec.europa.eu/sanco_pesticides/public/index.cfm).

Een aantal stoffen zou op korte termijn uit de lijst van toegestane bestrijdingsmiddelen kunnen worden geschrapt, sommige vanwege hun hormoonverstorende effecten (Ontwerp tot herziening van Richtlijn 91/414/EEG van de Raad van 15 juli 1991 betreffende het op de markt brengen van gewasbeschermingsmiddelen).

4.1.2. Industriële en milieugebonden verontreinigingen

Industriële producten, zoals organische broomverbindingen (vlamvertragers zoals PBDEs (Poly-Bromo-Diphenyl-Ethers)) en PCB's (Poly-Chlorinated Biphenyls), ftalaten en styrenen hebben een oestrogene activiteit en zijn milieugebonden verontreinigingen. Hoewel de meeste van die verbindingen zwakke oestrogenen zijn kunnen zij zich in de weefsels van dieren en mensen ophopen en bij hoge concentraties een hormonale werking hebben (Liehr *et al.*, 1998).

³ Verordening (EG) nr.396/2005 van het Europees parlement en de Raad van 23 februari 2005 tot vaststelling van maximumgehalten aan bestrijdingsmiddelenresiduen in of op levensmiddelen en diervoeders van plantaardige en dierlijke oorsprong en houdende wijziging van Richtlijn 91/414/EEG van de Raad.

Een aantal PCB's met oestrogene activiteit en metabolieten van PCB's komen voor in vis en in andere dieren, net als in menselijke weefsels, bloed en moedermelk. Sommige PCB-metabolieten zijn antagonisten van oestrogenen. Van sommige PCB's is bekend dat zij de schildklierfunctie veranderen. De PCB's die het vaakst aangetroffen worden in menselijk weefsel, bevatten chloor in positie 6 of 7 (Preziosi, 1998).

De chemische producten van het type alkylfenol en de afbraakproducten ervan (zoals 4-octylfenol, 4-nonylfenol, bisfenol A), die bestaan uit een alkylketen met ten minste 3 maal koolstof en een koolwaterstofketen kunnen ook een oestrogeenactiviteit hebben (vermeld door Preziosi, 1998). Die verbindingen, afbraakproducten van niet-ionogene oppervlakteactieve stoffen (alkylfenol, polyethoxylaten, APEOS) en plastic laboratoriummaterieel (bijv. 4-nonylfenol, bisfenol A) worden ervan verdacht bij vissen de voortplanting aan te tasten (vermeld door Preziosi, 1998).

Materialen die met levensmiddelen in aanraking komen zouden ook een gevaar kunnen vormen. De fiche over bisfenol A die als bijlage is bijgevoegd, geeft meer details over residuen van de migratie van contactmaterialen naar levensmiddelen.

Er werd een hormoonverstorende activiteit vastgesteld voor mineraalwater in PET-flessen (polyethyleen terephthalaat) (Wagner and Oehlman, 2009) waarbij niet echt een verschil werd aangetoond tussen water in glazen flessen en water in PET-flessen. Andere auteurs (Pinto and Reali, 2009) hebben die resultaten niet bevestigd. Het BfR publiceerde hierover een advies (BfR, 2009) waarin wordt gesteld dat nog meer en wetenschappelijk beter onderbouwd onderzoek moet worden gedaan om conclusies te kunnen trekken over het risico.

Gehalogeneerde koolwaterstoffen zijn milieugebonden verontreinigingen met een geringe oestrogene activiteit. Hoewel een goed inzicht in de aard van de wisselwerking ervan met oestrogeenreceptoren nog ontbreekt, meent men dat chloorhoudende substituenten van die koolwaterstoffen een rol kunnen spelen die lijkt op die van de hydroxylsubstituenten van fenol (Liehr *et al.*, 1998).

Polycyclische aromatische koolwaterstoffen (PAK) vormen een groep van organische verbindingen met twee of meer aromatische kernen. *In vivo* en *in vitro* studies toonden aan dat sommige PAK een oestrogene en een anti-oestrogene activiteit hebben. Daarbij bleek dat de fenolische metabolieten eerder dan de moederverbinding voor die effecten verantwoordelijk zijn. Het potentieel van 3-hydroxybenzo[a]pyreen en van 9-hydroxybenzo[a]pyreen was gelijkwaardig met dat van oestradiol (SCF, 2002).

4.1.3. Cosmetica

Zonbeschermende producten, producten voor lichaamsverzorging en cosmetica zoals shampoo, haargel, body lotion en beschermingsproducten voor de lippen bevatten stoffen die werken als UV-filters. Eén van die stoffen is 4-methylbenzylideen kamfer (4-MBC) dat blijkt geeft van oestrogene effecten (Carou *et al.*, 2009; SCCP, 2008).

De aanwezigheid in het menselijk lichaam van parabeen als gevolg van het gebruik van cosmetica werd bevestigd door de analyse van menselijke urine (Darbre and Harvey, 2008). Uit een grote verscheidenheid aan *in vitro* en *in vivo* beproevingsystemen kon documentatie worden verkregen over de eigenschappen van parabeen als oestrogeenagonist en die van de metaboliet ervan (p-hydroxybenzoëzuur). Daarnaast werd aangetoond dat parabeen een activiteit heeft als antagonist van androgeen, als een inhibitor van het enzym sulfotransferase werkt en een genotoxische activiteit heeft (Darbre and Harvey, 2008).

4.2. Gevarenkarakterisatie

In het milieu komen heel veel xenobiotische stoffen voor. Veel daarvan zijn in het kader van dit dossier van belang omdat zij een oestrogene activiteit hebben. Bij een aantal *in vivo* en *in vitro* uitgevoerde testen varieerde hun oestrogeen potentieel in vergelijking met 17 β -

oestradiol, het belangrijkste natuurlijke oestrogeen bij de mens, van zwak (10^{-3}) tot zeer zwak (10^{-6}) (Li and Li, 1998).

Deze hormoonverstorende stoffen kunnen op verschillende niveaus inwerken op het endocrien systeem: interacties met de receptoren, hormoonensynthese, stofwisseling, afbraak en transport. Voor de meeste ervan speelt de interactie met oestrogeenreceptoren (ER) een grote rol bij de effecten (Li and Li, 1998).

Veel van deze verbindingen kunnen ook cytotoxische of mutagene eigenschappen hebben en/of kankerverwekkend zijn (Li and Li, 1998).

Er wordt aangenomen dat blootstelling van de mens aan xeno-oestrogenen het resultaat is van een mengsel van die verbindingen. Er zijn voldoende bewijzen dat hoofdzakelijk additieve oestrogene effecten optreden bij blootstelling aan mengsels van xenobiotica; slechts in enkele gevallen zijn de gezamenlijke effecten groter (synergistisch effect) dan die welke worden vastgesteld bij *in vivo* en *in vitro* testen van de individuele xenobiotica (Li and Li, 1998).

4.2.1. Bestrijdingsmiddelen

In vivo studies bij proefdieren toonden aan dat de metaboliet p,p'-DDE van DDT, de fungiciden vinclozoline, procymidon en prochloraz, het herbicide linuron en de PBDE (polybrominated diphenyl ethers) in het milieu aanwezige anti-androgenen zijn, en meer bepaald antagonist van de androgeenreceptor (Hotchkiss *et al.*, 2008).

Bestrijdingsmiddelen van het chloorfenol type, gechlloreerde fenoxyzuren en organochloorverbindingen kunnen de tyroxine-spiegel (T4) wijzigen en de schildklierfunctie aantasten (vermeld door Preziosi, 1998). Die vaststelling moet echter met omzichtigheid worden geïnterpreteerd wat de reële impact van die verbindingen op de schildklierfunctie betreft, omdat het gaat om het gehalte aan totaal-T4 (zie hierboven).

Een aantal organochloorverbindingen, zoals DDT en de daarvan afgeleide metabolieten, dieldrine, hexachloorcyclohexaan (HCH) werden beschreven als stoffen die een rol kunnen spelen bij borstkanker. Er werden positieve correlaties gerapporteerd tussen het risico voor borstkanker en andere tumoren bij vrouwen en de gehalten aan DDE of DDT in vetweefsels of serum. De dieldrinegehalten in serum werden in verband gebracht met een significante stijging van het risico voor borstkanker en sterfte (Ibarluzea *et al.*, 2004). Ibarluzea *et al.* (2004) stelden vast dat aldrine en lindaan het risico van borstkanker kunnen vergroten. Dat verband wordt biologisch ondersteund door de oestrogene eigenschappen van die twee bestrijdingsmiddelen (vermeld door Ibarluzea *et al.*, 2004). Epidemiologische studies in Colombia en Mexico City wezen op een vrij groot risico voor borstkanker bij vrouwen bij hoge DDE-gehalten (vermeld door Ibarluzea *et al.*, 2004). (Zie ook als bijlage bijgevoegde fiche van DDT).

2-bromopropaan is een chemisch product dat de voortplantingsfunctie en de endocrinologie van de mens aantast (Hotchkiss *et al.*, 2008). Dibroomchloorpropaan (DBCP) is een toxische verbinding die de hormonenfunctie bij de mens ontregelt. Het bestrijdingsmiddel DBCP werkt ook rechtstreeks als mutageen in op de cellen. Ondanks het verbod op het gebruik van DBCP is dit bestrijdingsmiddel persistent in de bodem aanwezig en wordt het nog aangetroffen in het grondwater in gebieden waar het vroeger werd gebruikt (Hotchkiss *et al.*, 2008).

4.2.2. Industriële en milieugebonden verontreinigingen

Dioxinen, furanen en een aantal PCB's zijn liganden van de arylhydrocarbonreceptor (Ah). Blootstelling aan agonisten van de Ah-receptor hangt samen met de ontwikkelings- en voortplantingstoxiciteit bij mensen, primaten, knaagdieren, vissen en andere in het wild levende soorten (vermeld door Hotchkiss *et al.*, 2008). De agonisten van de Ah-receptor vormen een complex met de receptor die optreedt als transcriptiefactor door binding met DRE (Dioxin Response Element) op specifieke genen. De toxiciteit van TCDD lijkt voort te komen uit de activering van de Ah-receptor. TCDD is een hormoonverstorende stof die inwerkt op verscheidene verbindingen van het endocrien systeem. Blootstelling aan TCDD tast het

gehalte aan van een groot aantal hormonen en groeifactoren en hun receptoren (Hotchkiss *et al.*, 2008).

TCDD veroorzaakt geen endocriene effecten die rechtstreeks met de oestrogeenreceptor samenhangen. Anomalieën die werden vastgesteld bij dieren die aan deze verbinding werden blootgesteld, zoals testesatrofie, een verlaagde biosynthese van testosteron en een verlaagde spiegel ervan, eierstokatrofie en de negatieve werking op het voortplantingssysteem lijken in het bijzonder te moeten worden toegeschreven aan de Ah-receptor waarbij het metabolisme van de steroïdale hormonen wordt gewijzigd. Dioxinen zijn geen echte anti-oestrogenen hoewel zij een anti-oestrogeen profiel hebben (vermeld door Preziosi, 1998). Het zou gaan om een indirecte inwerking waarbij de Ah-receptor via zijn ligand een interactie zou aangaan met de oestrogeenreceptor. In dat geval spreekt men van een cross-talk tussen de twee receptoren (Mathews *et al.*, 2005 ; Shipley and Waxman, 2006).

Bisfenol A (BPA) heeft een geringe oestrogene werking (Sekizawa, 2008). De effecten van lage dosissen BPA geven aanleiding tot wetenschappelijke discussies (Hotchkiss *et al.*, 2008; Calafat *et al.*, 2008a). In hoge concentraties heeft BPA oestrogene effecten op het gewicht van de baarmoeder en de prostaat bij proefdieren. Bij dosissen die kleiner zijn dan de veronderstelde LOAEL (Low Observed Adverse Effect Level) wordt gemeld dat de blootstelling aan BPA de spermaproductie en de omvang van de prostaatklier doet toenemen, de ontwikkeling en de organisatie van borstklierenweefsel aantast, de vaginale morfologie en de menstruatiecyclus aantast, de seksuele differentiatie van de hersenen verstoort en de groei en de puberteit versnelt (vermeld door Calafat *et al.*, 2008a) (zie ook de als bijlage bijgevoegde specifieke fiche over BPA)

Meerdere ftalaatesters zijn anti-androgeen. Misvormingen van de mannelijke voortplantingsorganen werden vastgesteld na blootstelling aan bepaalde ftalaten *in utero* (bijvoorbeeld butylftalaat, butylbenzylftalaat, di-iso-nonylftalaat) (Hotchkiss *et al.*, 2008).

4.3. Blootstellingschatting

De voeding is een bijzonder belangrijke bron van blootstelling aan hormoonverstorende stoffen voor de bevolking in het algemeen (Baldi and Mantovani, 2008). Eén van de belangrijkste problemen is het cocktaileffect van hormoonverstorende stoffen. De gegevens van de residucontroles in Europa geven aan dat de reglementair vastgelegde grenswaarden in een minderheid van de gevallen worden overschreden. In de levensmiddelen kunnen echter meerdere hormoonverstorende stoffen tegelijk in kleine dosissen aanwezig zijn maar tegelijk inwerken (additieve, zelfs synergische effecten) op hetzelfde doel (bijvoorbeeld nucleaire receptoren). Veel hormoonverstorende stoffen kunnen zich ook in het bijzonder ophopen in vetten en het lichaam belasten met verontreinigingen (dioxinen, PCB's, organochloor-bestrijdingsmiddelen, vlamvertragers) van verschillende oorsprong. Andere minder persistente, verbindingen kunnen zich concentreren in de voedselketen en de lichaamsweefsels en bovenop de lichaamsbelasting komen. Voorbeelden van dergelijke verbindingen zijn ftalaten en organotin-verbindingen (Baldi and Mantovani, 2008).

De blootstelling aan BPA kan worden geraamd op basis van de in de urine teruggevonden concentraties (zie fiche BPA).

Twintig of meer met alkylfenolen verwante verbindingen werden aangetroffen in drinkwaterbronnen (vermeld door Preziosi, 1998).

Er bestaan nog andere vormen van blootstelling, bijvoorbeeld blootstelling via huisstof.

4.4. Risicokarakterisatie

Het mogelijke risico van hormoonverstorende stoffen hangt minder samen met de verontreiniging van één enkel levensmiddel dan met lange termijn blootstelling, de weerslag op de totale lichaamsbelasting en de chronische effecten op de gezondheid (Baldi and Mantovani, 2008).

Kinderen kunnen als een hoge-risicogroep worden beschouwd vanwege hun, in verhouding tot die van volwassenen, vrij hoge relatieve consumptie en vanwege de functionele ontwikkeling van hun zenuwstelsel, voortplantingsstelsel en immuunsysteem (Baldi and Mantovani, 2008).

Het mengsel van hormoonverstorende stoffen aanwezig in het milieu vormt een groot probleem voor het onderzoek en de risicobeoordeling. Toxicologische studies steunen gewoonlijk op de blootstelling aan één enkele chemische stof en de effecten daarvan terwijl in het milieu niet zelden mengsels voorkomen (Kolpin *et al.*, 2002; vermeld door Hotchkiss *et al.*, 2008). Het is van het grootste belang dat methoden worden ontwikkeld en gevalideerd waarmee de effecten van mengsels van hormoonverstorende stoffen kunnen worden voorspeld om de mens en de natuur, en bijgevolg de diversiteit, te beschermen tegen het risico dat samenhangt met mogelijke cumulatieve effecten van die mengsels.

5. Hormoonverstorende farmaceutische producten en residuen

5.1. Gevarenidentificatie

Elk jaar worden in ziekenhuizen en bij de mensen thuis grote hoeveelheden farmaceutische producten gebruikt (met meerdere werkzame stoffen). Sinds enkele jaren worden studies gedaan naar de aanwezigheid van farmaceutische producten (PP) in verschillende aquatische matrices, zoals onbehandeld slib, effluënten van zuiveringsstations, oppervlaktewater, grondwater, drinkwater en de zee (vermeld door Knappe, 2008). Kolpin *et al.* (2002) hebben de aanwezigheid aangetoond van een breed scala aan farmaceutische producten in water afkomstig van beken in de Verenigde Staten. Van één derde van de door Kolpin *et al.* (2002) gevonden stoffen is bekend of wordt vermoed dat zij een zwakke hormonale activiteit hebben en de capaciteit om de endocriene functie te verstoren.

Er werden meer dan 150 PP teruggevonden in verschillende matrices uit het milieu (Gros *et al.*, 2006). Hoewel die stoffen in eerder lage gehalten voorkomen, van ng/L tot µg/L, kan de aanhoudende aanvoer ervan in het watermilieu op lange termijn resulteren in hoge concentraties; dat kan nefaste gevolgen hebben voor de mens en voor andere dan doelorganismen (Gros *et al.*, 2006).

De volgende farmaceutische producten worden onder meer aangetroffen in het milieu: oestrogenen, androgene steroïden, antibiotica, β-blokkers, anti-epileptica en vetregelaars (Hotchkiss *et al.*, 2008). De aanwezigheid van sommige farmaceutische producten, die in het milieu werden aangetroffen, werd in verband gebracht met enkele nadelige effecten in de natuur (bijvoorbeeld onvruchtbaarheid bij meerdere vissoorten).

In Europa komen synthetische oestrogenen voor in afvalwater en oppervlaktewater in concentraties van 0,55 tot 7 ng/L en soms tot 50 ng/L (vermeld door Nash *et al.*, 2004). Uit de analyse van 139 waterlopen die in de Verenigde Staten werd uitgevoerd blijkt dat 5,7% ervan een concentratie van synthetische oestrogenen van meer dan 5 ng/L hebben (Kolpin *et al.*, 2002).

Synthetische hormonen zoals ethinyløstradiol, diethylstilbestrol en mestrol worden of werden gebruikt als contraceptivum, als middel om miskramen te voorkomen of als anabolicum. Diethylstilbestrol werd gebruikt in de rundvleesproductie. Er werden synthetische hormonen gevonden in monsters die in het milieu waren genomen. Rivierwater in Nederland bevatte 0,3 ng/L ethinyløstradiol (Miyamoto and Klein, 1998). Bij een studie in Duitsland over rivierwater bleek dat dit 1 - 4 ng/L ethinyløstradiol bevatte (Miyamoto and Klein, 1998).

DES (diethylstilbestrol) is wellicht het synthetische oestrogeen waarvan de invloed op de menselijke gezondheid het meest werd bestudeerd. DES werd in de jaren 1930 aangemaakt als eerste synthetisch oestrogeen en werd tot in de 70er jaren gebruikt. De belangrijkste indicatie was de afname van het risico voor miskramen tijdens de zwangerschap. De nadelige effecten van DES werden in het begin van de 70er jaren duidelijk en het geneesmiddel werd in 1971 verboden door de FDA (vermeld door Piva and Martini, 1998).

5.2. Gevarenkarakterisatie

De meeste van de effecten van hormoonverstorende stoffen bij de mens zijn te wijten aan beroepsmatige blootstelling of aan gebruik als geneesmiddel (Hotchkiss *et al.*, 2008).

Natuurlijke steroïde oestrogenen controleren de seksuele differentiëring en/of ontwikkeling bij gewervelde dieren en zijn krachtige modulators in de ontwikkeling en de seksuele capaciteit (vermeld door Nash *et al.*, 2004). Van de steroïde oestrogenen in het afvalwater van zuiveringsstations wordt aangenomen dat zij verantwoordelijk zijn voor of bijdragen aan de vervrouwelijking van sommige in het wild levende vissoorten (vermeld door Nash *et al.*, 2004).

Van de afgeleiden van stilbeen die 2 hydroxylgroepen in parapositie bevatten is bekend dat zij een oestrogene activiteit hebben als zij door subcutane injectie worden toegediend aan ratten bij wie de eierstokken waren weggenomen. Diethylstilbestrol is de eerste van de reeks van synthetische oestrogenen die later therapeutisch werden gebruikt (voorbeelden van andere krachtige oestrogenen; hexestrol, E,E-dienestrol) (vermeld door Preziosi, 1998).

In utero blootstelling aan diethylstilbestrol (DES) tast de ontwikkeling van het voortplantingsstelsel aan (Hotchkiss *et al.*, 2008). Een rapport legde de link tussen *in utero* blootstelling aan DES en adenocarcinomen met heldere-cellen van de vagina, een zeldzame vorm van kanker van de voortplantingsorganen, bij een klein aantal (~ 0,1%) dochters van vrouwen die tijdens de zwangerschap DES hadden genomen (vermeld door Henley and Korach, 2006). Studies maken melding van meervoudige teratogene effecten die kunnen worden toegeschreven aan prenatale blootstelling (vermeld door Henley and Korach, 2006). Anatomische misvorming van de baarmoederhals, de vagina en de baarmoeder en een verminderde vruchtbaarheid (Hotchkiss *et al.*, 2008) werden gemeld voor vrouwen die *in utero* aan DES werden blootgesteld (vermeld door Henley and Korach, 2006). Hoewel geen verhoogd kankerrisico werd vastgesteld bij mannen die aan DES werden blootgesteld, werd melding gemaakt van meerdere teratogene effecten in het mannelijke voortplantingsstelsel, met onder meer testeshypoplasie, cryptochidisme en epididymale cysten (vermeld door Henley and Korach, 2006; Hotchkiss *et al.*, 2008).

Op grond van studies bij knaagdieren wordt voorgesteld om 4,4'-diaminostilbeen-2,2'-disulfonzuur (DAS) te beschouwen als een stof met oestrogene activiteit (Hotchkiss *et al.*, 2008).

17 β -trenbolon en de belangrijkste metaboliet ervan bij runderen, 17 α -trenbolon, werden aangetroffen in monsters van afvalwater uit rundveehouderijen. De stoffen hebben *in vitro* een androgene activiteit (in mindere mate voor de metaboliet) (Hotchkiss *et al.*, 2008).

5.3. Blootstellingschatting

Blootstelling aan farmaceutische producten kan direct (inname van geneesmiddelen) of indirect (blootstelling via inname van verontreinigde levensmiddelen) zijn. Er bestaan geen nauwkeurige gegevens over de schatting van de blootstelling van de Belgische bevolking aan residuen van farmaceutische stoffen (indirecte blootstelling). Een schatting van directe en indirecte blootstelling aan ethinyløstradiol (bestanddeel van orale contraceptiva) is ter illustratie bijgevoegd als bijlage 5.

5.4. Risicokarakterisatie

Een grondiger studie van de risicokarakterisatie werd uitgevoerd voor ethinyløstradiol (zie bijgevoegde fiche).

6. Analyse van de fiches

Het Wetenschappelijk Comité deed een grondigere risicoanalyse voor 4 hormoonverstorende stoffen die in de voedselketen kunnen voorkomen, namelijk genisteïne (bijlage 2), DDT en metabolieten daarvan (bijlage 3), bisfenol A (bijlage 4) en ethinyløstradiol (bijlage 5). De oestrogene effecten (relatieve affiniteit met receptoren en uterotrope activiteit) en de dagelijkse inname werden geraamd en vergeleken met de toelaatbare dagelijkse dosis (Tolerable Daily Intake, TDI) van die 4 verbindingen met als doel een prioriteitenrangschikking op te maken (tabel 1).

Tabel 1: Oestrogene effecten (relatieve affiniteit, in vergelijking met 17 β -østradiol, ten aanzien van de receptoren en uterotrope activiteit) en percentage van de TDI voor genisteïne, DDT, bisfenol A en ethinyløstradiol.

	Genistein	DDT	Bisfenol A	Ethinyløstradiol
Relative binding affinity	$10^{-2} - 10^{-5}$	10^{-3}	$10^{-3} - 10^{-5}$	1
Rat uterotrophic Assay	35 mg/kg/day**	- ***	300 mg kg/day**	0,3 - 1 μ g/kg/day**
%TDI*	0,16 – 83,3	0,05 – 12,9	0,016-26	0,09

* verhouding (in %) tussen de geraamde dagelijkse inname en de TDI

** Kim *et al.*, 2005

*** Geen effect bij concentraties van 100 tot 500 mg/kg/dag (Kim *et al.*, 2005)

Uit deze tabel blijkt dat ethinyløstradiol logischerwijze de grootste oestrogene activiteit heeft, zowel *in vitro* (affiniteit voor de ER-receptor) als *in vivo* (toename van het gewicht van de baarmoeder bij ratten).

Voor genisteïne en bisfenol A stelt men een coherent resultaat vast tussen de *in vitro* en de *in vivo* gemeten østrogene activiteit, wat niet zo is voor DDT. Terwijl DDT zich lijkt te binden aan de receptor van østrogene hormonen vertoont deze stof geen østrogene activiteit bij ratten in de uterotrope test.

Op grond van de *in vivo* proeven kunnen de bestudeerde moleculen als volgt worden gerangschikt naar østrogene activiteit : Ethinyløstradiol > Genisteïne > Bisfenol A > DDT.

Wat de ingenomen hoeveelheid betreft ten aanzien van de toelatebare dagelijkse inname staat genisteïne op kop, wat er zeker op wijst dat deze verbinding (en de aanverwante moleculen) in het bijzonder moet worden gevolgd.

7. Conclusies en aanbevelingen

7.1. Algemene conclusies

Vanwege de huidige leemten in de beoordeling van de mogelijke risico's en effecten die samenhangen met hormoonverstorende stoffen zou het voorzorgsbeginsel van toepassing moeten zijn.

Het Wetenschappelijk Comité ondersteunt de initiatieven om de vergunningen voor synthetische moleculen (bijvoorbeeld bestrijdingsmiddelen) opnieuw te bekijken en daarbij rekening te houden met de endocrien verstorende effecten.

Het Wetenschappelijk Comité raadt aan om de studies naar hormoonverstorende stoffen uit te breiden naar andere stoffen waarvan de toxiciteit niet grondig genoeg werd onderzocht (REACH programma).

7.2. Aanbevelingen

Aanbevelingen voor het controleprogramma van het FAVV:

Het Wetenschappelijk Comité raadt aan dat een controle zou worden uitgevoerd op aanwezigheid van fyto-østrogenen en meer in het bijzonder op isoflavonen zoals genisteïne, daidzeïne en glyciteïne risicolevensmiddelen (bijvoorbeeld verrijkt novel food) en in voedingssupplementen.

De controles zouden het daarnaast mogelijk moeten maken om na te gaan of de voorschriften van het ministerieel besluit van 28/02/2005⁴ goed worden toegepast.

Het Wetenschappelijk Comité meent immers dat het belangrijk is dat de hoeveelheid fyto-østrogenen in voeding voor risicogroepen zoals zwangere vrouwen, jonge kinderen en vegetariërs wordt beperkt.

Aanbevelingen voor het onderzoek:

Het zou zinvol zijn om een kosten/baten-analyse te maken van de controle op de aanwezigheid van fyto-østrogenen in levensmiddelen.

Het Wetenschappelijk Comité raadt ook aan om een inschatting te maken van de blootstelling van de Belgische bevolking en meer bepaald van de risicogroepen (zwangere vrouwen, jonge kinderen en vegetariërs) aan fyto-østrogenen via de voeding en de inname van voedingssupplementen.

Het Wetenschappelijk Comité raadt aan om de evolutie van farmaceutische producten en andere hormoonverstorende stoffen in het milieu en in de voedselketen te volgen om tijdig passende maatregelen te kunnen treffen.

Voor het Wetenschappelijk Comité,

Prof. Dr. Ir. André Huyghebaert
voorzitter

Brussel, 09/10/2009

⁴ Ministerieel besluit tot wijziging van de bijlage van het koninklijk besluit van 29 augustus 1997 betreffende de fabricage van en de handel in voedingsmiddelen die uit planten of uit plantenbereidingen samengesteld zijn of deze bevatten

Referenties

- AFSSA. 2005. Sécurité et bénéfices des phyto-œstrogènes apportés par l'alimentation – Recommandations. AFSSA (Agence Française de sécurité sanitaire des aliments), Mars 2005.
<http://www.afssa.fr/Object.asp?IdObj=28496&Pge=0&CCH=060717171637:26:4&cwSID=1ADC3134A7C94DB1981464078436CD48&AID=0>.
- Andersen, Markham K R. 2006. Flavanoids in foods in Flavanoids, Chemistry, Biochemistry and Applications.
- Anoniem. Projet de révision de la directive 91/414.
http://www.kemi.se/upload/Bekampningsmedel/Docs_eng/SE_positionpapper_annenII_sep08.pdf
- Arao Y, Kanamori N, Kikkawa E, Otsuka H, Arimoto Y, Ikeda K, Inakuma T, Kayama F. 2007. A two-step screening method, using estrogen receptor-mediated transactivation, to measure estrogenicity in edible plants. *Food Chem.*, 104, 1288–1294.
- Baldi F, Mantovani A. 2008. A new database for food safety: EDID (Endocrine disrupting chemicals -Diet Interaction Database). *Ann Ist Super Sanità*, 44 (1), 57-63.
- BfR 2007. Isolated isoflavones are not without risk. BfR expert opinion No 039/2007.
- BfR 2009. BfR evaluates study results for mineral water samples with hormone-like activity BfR Opinion No. 008/2009, 25 March 2009.
- Blitz CL, Murphy SP, Lyn D. 2007. Adding lignan values to a food composition database. *Food Comp. Ana.*, 20, 99–105.
- Bolle P, Mastrangelo S, Perrone F, Evandri MG. 2007. Estrogen-like effect of a Cimicifuga racemosa extract sub-fraction as assessed by in vivo, ex vivo and in vitro assays. *J. Steroid Biochem. & Molec. Biol.*, 107, 262–269.
- Borrelli F, Izzo AA, Ernst E. 2003. Pharmacological effects of Cimicifuga racemosa. *Life Scie.*, 73, 1215–1229.
- Calafat AM, Ye X, Wong L-Y, Reidy JA, Needham LL. 2008a. Exposure of the US population to bisphenol A and 4-tertiary-octylphenol: 2003-2004. *Environ. Health Perspect.*, 116 (1), 39-44.
- Calafat AM, Ye X, Wong LY, Reidy JA, Needham LL. 2008b. Urinary Concentrations of Triclosan in the US Population: 2003-2004. *Environ. Health Perspect.*, 116 (3), 303-307.
- Carou ME, Sdeguiz ML, Reynoso B. 2009. Impact of UV-Filter 4-(Methylbenzylidene)-camphor (4-MBC) during prenatal development in the neuroendocrine regulation of gonadal axis in male and female adult rats. *Environ. Toxicol. and Pharmacol.*, 27 (3), 410-414.
- Cederroth CR, Nef S. 2009. Soy, phytoestrogens and metabolism: A review. *Mol. Cell. Endocrinol.*, 304 (1-2), 30-42.
- Chadwick LR, Pauli GF, Farnsworth NR. 2006. The pharmacognosy of Humulus lupulus L. (hops) with an emphasis on estrogenic properties. *Phytomedicine* 13, 119–131.
- Clode SA. 2006. Assessment of *in vivo* assays for endocrine disruption. *Best Practice Research Clin. Endocrinol. Metabol.*, 20 (1), 35-43.
- Courant F. 2007. Caractérisation de l'exposition de l'enfant prépubère aux hormones stéroïdes gonadiques. Thèse de doctorat. Université de Nantes, Faculté des sciences et des techniques.
- Courant F, Antignac J-P, Maume D, Monteau F, Andre F, Le Bizec B. 2007. Determination of naturally occurring oestrogens and androgens in retail samples of milk and eggs. *Food Add. Contam.*, 24 (12), 1358–1366.
- Darbre PD, Harvey PW, 2008 Paraben esters: review of recent studies of endocrine toxicity, absorption, esterase and human exposure, and discussion of potential human health risks. *J. Appl. Toxicol.*, 28 (5), 561-78.

Duquesnoy N. 2005. Les substances naturelles à effet œstrogénique dans l'alimentation des ruminants: revue de la littérature. *Ann. Méd. Vét.*, 149, 202-212.

EC, 1999. Community Strategy for Endocrine Disruptors a range of substances suspected of interfering with the hormone systems of humans and wildlife Communication from the Commission to the council and the European Parliament. COM (1999) 706 final.

EPA 2009. Endocrine Disruptor Screening program (EDSP): <http://www.epa.gov/scipoly/oscpendo/pubs/assayvalidation/index.htm>

FSA. 2003. Committee on Toxicity of Chemicals in Food, Consumer Product and the Environment. Phytoestrogens and health. COT Report.

Gros M, Petrovic M, Barcelo D, 2006. Multi-residue analytical methods using LC-tandem MS for the determination of pharmaceuticals in environmental and waste water samples: a review. *Anal. Bioanal. Chem.*, 386 (4), 941-952.

Gry J, Black L, Eriksen FD, Pilegaard K, Plumb J, Rhodes M, Sheehan D, Kiely M, Kroon PA. 2007. EuroFIR-BASIS : a combined composition and biological activity database for bioactive compounds in plant-based foods. *Trends Food Sci. Technol.*, 18, 433-444.

Henley DV, Korach KS. 2006. Endocrine –disrupting chemicals use distinct mechanisms of action to modulate endocrine system function. *Endocrinology*, 147 (6), 25-32.

Hotchkiss AK, Rider CV, Blystone CR, Wilson VS, Hartig PC, Ankley GT, Foster PM, Gray CL, Gray LE. 2008. Review Fifteen Years after “Wingspread”—Environmental Endocrine Disruptors and Human and Wildlife Health: Where We are Today and Where We Need to Go. *Toxicol. Sci.*, 105 (2), 235–259.

Huet MC. 2000. OECD Activity on Endocrine Disrupters Test Guidelines Development. *Ecotoxicol.*, 9 (1-2), 77-84.

Ibarluzea J, Fernández M F, Santa-Marina L, Olea-Serrano M F, Rivas A M, Aurrekoetxea J J, Expósito J, Lorenzo M, Torné P, Villalobos M, Pedraza V, Sasco A J, Olea N. 2004. Breast cancer risk and the combined effect of environmental estrogens. *Cancer Causes and Control* 15, 591 – 600.

Kim H. S., Kang T.S., Kang I.H., Kim T.S., Moon H.J., KIM I.Y., Park K.L., Lee B.M., Yoo S.D., Han S.Y. 2005. Validation study of OECD rodent uterotrophic assay for the assessment of estrogenic activity in Sprague-Dawley immature female rats. *J. Toxicol. Environ. Health A*, 68 (23-24), 2249-62.

Knappe (Knowledge and Need Assessment on Pharmaceutical Products in Environmental Waters), 2008. Deliverable number : D1.1: “List of the relevant PPs”. Sixth Framework Programme, pp.63.

Kolpin DW, Furlong ET, Meyer MT, Thurman E M, Zaugg SD, Barber L. 2002. Pharmaceuticals, Hormones, and Other Organic Wastewater Contaminants in U.S. Streams, 1999–2000: A National Reconnaissance. *Environ. Sci. Technol.*, 36 (6), 1202-1211.

Kuhnle G. G. C., Dell’Aquila C., Aspinall S. M., Runswick S. A., Mulligan A. A., Bingham S. A. 2008. Phytoestrogen Content of Foods of Animal Origin: Dairy Products, Eggs, Meat, Fish, and Seafood *J. Agric. Food Chem*, 56, 10099–10104. Kyle AMJ, Dutie GG, 2006. Flavanoids in foods in *Flavanoids, Chemistry, Biochemistry and Applications*, Edited by Øyvind M. Andersen and Kenneth R. Markham.

Kuhnle GGC, Dell’Aquila C, Runswick SA, Bingham SA. 2009a. Variability of phytoestrogen content in foods from different sources. *Food Chem.*, 113 (4), 1184–1187.

Kuhnle GGC, dell’aquila, C, Aspinall SM, Runswick SA, Joosen AMC, Mulligan A., Bingham SA. 2009b. Phytoestrogen content of fruits and vegetables, *Food Chem.*, 116 (2), 542-554.

Li JJ, Li SA 1998. Natural and anthropogenic environmental oestrogens: the scientific basis for risk assessment. Breast cancer: evidence for xeno-oestrogen involvement in altering its incidence and risk. *Pure and Appl. Chem.*, 70, (6), 1713-1723.

Liehr JG, Somasunderam A, Roy D. 1998. Natural and anthropogenic environmental oestrogens: the scientific basis for risk assessment. Metabolism and fate of xeno-oestrogens in man. *Pure and Appl. Chem.*, 70 (9), 1747-1758.

Maghuin-Rogister G. 1991. The Residue Problem. In: « Animal Biotechnology and the Quality of Meat Production », L.O. Fiems, B.G. Cottyn and D.I. Demeyer (Eds), 1991 Elsevier Science Publishers B.V. Amsterdam, pp 179-189.

Matthews J., Wihlen, B., Thomsen J., Gustafsson J. A. 2005. Aryl hydrocarbon receptor-mediated transcription: ligand-dependent recruitment of estrogen receptor alpha to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin-responsive promoters. *Mol. Cell Biol.*, 25, 5317-5328.

Miyamoto J, Klein W. 1998. Natural and anthropogenic environmental oestrogens: the scientific basis for risk assessment Environmental exposure, specifies differences and risk assessment. *Pure and Appl. Chem.*, 70 (9), 1829-1845.

Nash JP, Kime DE, Van der Ven LTM, Wester PW, Brion F., Maack G, Stahlschmidt-Allner P, Tyler CR. 2004. Long-term exposure to environmental concentrations of the pharmaceutical ethinylœstradiol causes reproductive failure in fish. *Environm. Health Pers.*, 112 (7), 1725 – 1733.

OECD, 2000. Protocol for investigating the efficacy of the Enhanced TG 407 Test Guideline (phase 2). Rationale for the investigation, and description of the protocol (issued 4 May, 2000). Organisation for Economic Co-operation and Development, Paris. http://www.oecd.org/document/42/0,3343,en_2649_34377_2348650_1_1_1_1,00.html

Overk C R, Guo J, Chadwick L R, Lantvit D D, Minassi A, Appendino G, Chen S-N, Lankin D C, Farnsworth N R, Pauli G F, van Breemen R B, Bolton J L. 2008. In vivo estrogenic comparisons of *Trifolium pratense* (red clover) *Humulus lupulus* (hops), and the pure compounds isoxanthohumol and 8-prenylnaringenin. *Chemico-Biol. Interact.*, 176, 30–39.

Pinto B., Reali D. 2009. Screening of estrogen-like activity of mineral water stored in PET bottles. *Int.J. Hyg. Envir. Health*, 212, 228-232.

Piva F., Martini L. 1998. Natural and anthropogenic environmental oestrogens: the scientific basis for risk assessment Neurotransmitters and the control of hypophyseal gonadal functions: possible implications of endocrine disruptors. *Pure and Appl. Chem.*, 70 (9), 1647-1655.

Possemiers S. 2007. Activation of proestrogens from hops by human intestinal bacteria: conversion of isoxanthohumol into the potent phytoestrogen 8-prenylnaringenin. PhD thesis, Ghent University, Belgium.

Preziosi. 1998. Natural and Anthropogenic Environmental Oestrogens. The scientific basis for risk assessment. Endocrine disruptors as environmental signallers: an introduction, *Pure and Appl. Chem.*, 70 (9), 1617-1631.

Ritchie MR, Cummings JH, Morton MS, Michael Steel C, Bolton-Smith C, Riches AC. 2006. A newly constructed and validated isoflavone database for the assessment of total genistein and daidzein intake. *Br J. Nutr.*, 96 (1), 204-13.

SCF, 2002. Opinion of the Scientific Committee on Food on the risks to human health of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in food. SCF/CS/CNTM/PAH/29 Final

Scientific Committee on Consumer Products (SCCP), 2008. Opinion on 4-Methylbenzylidene camphor (4-MBC). SCCP/1184/08.

Scippo ML, Maghuin-Rogister G, 2007. Les perturbateurs endocriniens dans l'alimentation humaine: impact potentiel sur la santé. *Ann. Méd. Vét. (1)*, 151, 44-54.

Sekizawa J. 2008. Low-dose effects of bisphenol A: a serious threat to human health?. *J. Toxicol. Sci.*, 33 (4), 389-403.

Sharpe RM. 1998. Natural and Anthropogenic Environmental Oestrogens. The scientific basis for risk assessment. Environmental oestrogens and male infertility. *Pure and Appl. Chem.*, 70 (9), 1685-1701.

Shiple J.M., Waxman D.J. 2006. Aryl hydrocarbon receptor-independent activation of estrogen receptor-dependent transcription by 3-methylcholanthrene, *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 213, 87–97.

Stephany RW, Sterk SS, Van Ginkel LA. 2004. Tissue levels and dietary intake of endogenous steroids an overview with emphasis on 17beta-estradiol. Proceedings of the Euroresidue V Conference. Noordwijkerhout, The Netherlands 10-12 May, 111-121.

Schwartz H, Sontag G, Plumb J. 2009. Inventory of phytoestrogen databases. *Food Chem.*, 113 (3), 736-747.

Veldhoen N, Skirrow RC, Osachoff H, Wigmore H, Clapson DJ, Gunderson MP. 2006. The bactericidal agent triclosan modulates thyroid hormone-associated gene expression and disrupts postembryonic anuran development. *Aquat. Toxicol.*, 80, 217–227.

Wagner M, Oehlmann J. 2009. Endocrine disruptors in bottled mineral water: Total estrogenic burden and migration from plastic bottles. *Environ. Sci. Pollut. Res.* (sous presse)

Leden van het Wetenschappelijk Comité

Het Wetenschappelijk Comité is samengesteld uit de volgende leden :

D. Berkvens, C. Bragard, E. Daeseleire, P. Delahaut, K. Dewettinck, J. Dewulf, L. De Zutter, K. Dierick, L. Herman, A. Huyghebaert, H. Imberechts, P. Lheureux, G. Maghuin-Rogister, L. Pussemier, C. Saegerman, B. Schiffers, E. Thiry, T. van den Berg, M. Uyttendaele, C. Van Peteghem, G. Vansant

Dankbetuiging

Het Wetenschappelijk Comité dankt het wetenschappelijk secretariaat en de leden van de werkgroep voor de voorbereiding van het ontwerpadvies. De werkgroep was samengesteld uit :

Leden van het Wetenschappelijk Comité	G. Maghuin-Rogister (verslaggever), P. Delahaut, A. Huyghebaert, L. Pussemier, B. Schiffers, C. Van Peteghem, G. Vansant
Externe experts	P. Daenens (K.U.Leuven), B. De Meulenaer (UGent), L. Goeyens (VUB), G. Hennen (ULg), M-L. Scippo (ULg), M. Tits (ULg)

Wettelijk kader van het advies

Wet van 4 februari 2000 houdende oprichting van het Federaal Agentschap voor de Veiligheid van de Voedselketen, inzonderheid artikel 8 ;

Koninklijk besluit van 19 mei 2000 betreffende de samenstelling en de werkwijze van het Wetenschappelijk Comité ingesteld bij het Federaal Agentschap voor de Veiligheid van de Voedselketen ;

Huishoudelijk reglement, bedoeld in artikel 3 van het koninklijk besluit van 19 mei 2000 betreffende de samenstelling en de werkwijze van het Wetenschappelijk Comité ingesteld bij het Federaal Agentschap voor de Veiligheid van de Voedselketen, goedgekeurd door de Minister op 27 maart 2006.

Disclaimer

Het Wetenschappelijk Comité behoudt zich, te allen tijde, het recht voor dit advies te wijzigen indien nieuwe informatie en gegevens ter beschikking komen na de publicatie van deze versie.

Bijlagen:

Lijst van de bijlagen

- Bijlage 1 : Belangrijkste natuurlijke stoffen die bekend staan om hun oestrogene effecten
- Bijlage 2 : fiche Genistein
- Bijlage 3 : fiche DDT
- Bijlage 4 : fiche Bisphenol A
- Bijlage 5 : fiche Ethinylœstradiol