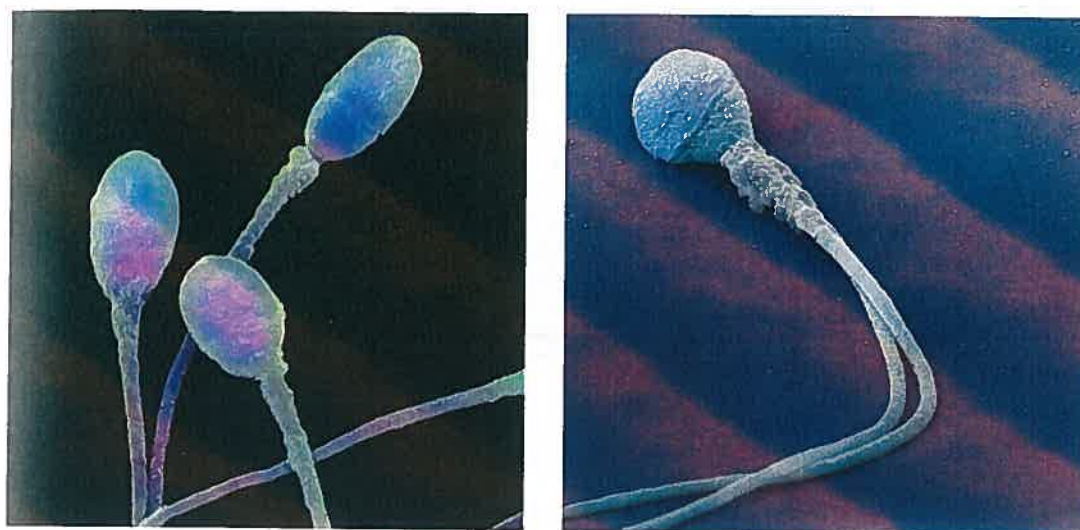


# FRUGTBARHED, KØNSDIFFERENTIERING OG KØNSFORVIRRING



Figur 1. Fotos af normale sædceller og unormal sædcelle.

## Hormoner

Nogle menneskeskabte kemiske stoffer ligner dyrs og menneskers hormoner så meget at de kan ændre og forstyrre deres hormonsystem – det *endokrine system*.

Disse miljøfremmede stoffer kan hvis de optræder i tilstrækkeligt høje koncentrationer, give både sundheds- og forplantningsproblemer.

De hormonlignende stoffer kan indvirke på det endokrine system på mange måder. For eksempel kan nogle af dem – de østrogenlignende stoffer, som også kaldes miljøøstrogener eller *xenoøstrogener* – efterligne det naturlige østrogen, som er det hormon der bestemmer de feminine køns karakterer. De hormonlignende stoffer kan i nogle tilfælde blokere eller opveje hormonernes virkninger.

For at forstå de hormonlignende stoffers forstyrrende effekter er det nødvendigt at se nærmere på hvordan et hormon normalt virker.

*Hormoner* er kemiske forbindelser der produceres i kirtler og afgives til blodet. Med blodet føres de rundt i hele organismen for derefter at virke i bestemte væv og celler. Det er typisk for hormoner at de virker som kemiske signaler der hæmmer eller fremmer biologiske processer i kroppen.

De hormondannende eller endokrine kirtler findes forskellige steder i kroppen, se figur 2. Fx producerer hypofysen de overordnede køns hormoner hos både mænd og kvinder, de hedder FSH (Follikel Stimulerende Hormon) og LH (Luteinise-

rende Hormon), og de virker på kønsorganerne hos begge køn. Hos kvinder er de dominerende kvindelige kønshormoner østradiol, østriol og østron – tilsammen kaldet østrogen, de produceres alle i æggestokkene. Hos mænd er det dominerende kønshormon testosteron, også kaldet et androgen, det dannes i testiklerne. Fælles for kønshormonerne hos både kvinder og mænd er at de har afgørende betydning for kønsudvikling og formering.

Begge køn danner desuden en smule testosteron i binyrerne, og mænd danner en smule østrogen i testiklerne.

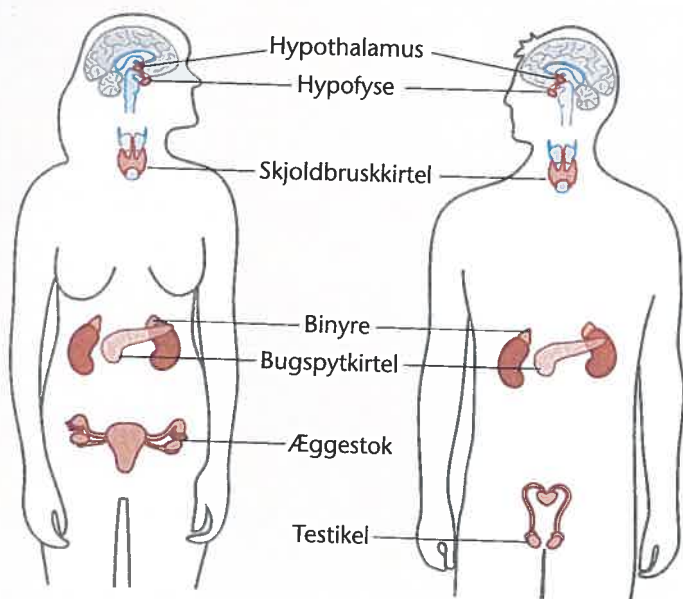
Det er kun de celler som er udrustet med såkaldte receptorer for de pågældende hormoner, som bliver påvirket. Derfor siger man at et hormon virker i kroppen som en nøgle i en lås. Når nøglen (hormonet) passer, bliver låsen (receptoren) aktiveret, og der starter en proces (en kemisk reaktion) i kroppen.

Kønshormoner hører til gruppen af fedtopløselige hormoner. De kaldes også steroidhormoner, se **faktaboksen 'Stero-**

**idfamilien'**. En vigtig egenskab ved fedtopløselige hormoner er at de kan trænge gennem en celledens membraner, idet disse består af et dobbeltlag af fedtmolekyler, se figur 4, side 8. Når hormonet kommer frem til de celler det skal påvirke, trænger det igennem cellemembranen og forbinder sig med receptoren som findes i cellens cytoplasma. Hormon-receptorkomplekset trænger derefter ind i cellens kerne hvor det påvirker et eller flere arveanlæg, som styrer dannelsen af et eller flere proteiner i cellen. Som det fremgår af figur 4, side 8, medfører hormonpåvirkningen af DNA i cellekernen at der igangsættes en transkription af mRNA, som igen medfører en syntese af protein. Proteinsyntesen sker i cellens ribosomer. For eksempel har muskelcellerne hos både mænd og kvinder en receptor hvortil det mandlige kønshormon testosteron kobles. Når vi producerer testosteron, eller hvis kroppen tilføres mandligt kønshormon ved doping, sætter testosteron-receptorkomplekset muskelcellerne i gang med at producere muskelprotein.

Hormoner produceres og virker i kroppen i meget små koncentrationer. De måles typisk i enheden nanogram/liter dvs.  $10^{-9}$  g/L kropsvæske. Hos både piger og drenge stiger indholdet af det overordnede kønshormon FSH i blodet under puberteten fra ca. 600-700 ng/L til 2500-3000 ng/L, og pigernes indhold af østrogenet østradiol i blodet stiger fra ca. 10 ng/L til 50-60 ng/L i løbet af puberteten. I løbet af menstruationscyklus varierer kvinders østrogenindhold (østradiolindhold) i blodet fra 50-60 ng/L blod umiddelbart efter menstruation til 300-350 ng/L blod ved ægløsningstidspunktet. Da de naturlige hormoner virker i meget lave koncentrationer, betyder det at de miljøfremmede stoffer også kan virke forstyrrende i meget lave koncentrationer. Det kan være yderst problematisk da det er vanskeligt at måle nogle af disse stoffer i så lave koncentrationer.

Figur 2. De endokrine kirtler.



## Hormonforstyrrende stoffer i kroppen

De hormonforstyrrende stoffer er kemisk meget forskellige. Det de har tilfælles, er at de kan bindes til kroppens hormonreceptorer ligesom kroppens egne hormoner. De kan også påvirke dannelse, transport el-

ler udskillelse af kroppens egne hormoner. De hormonale effekter af de hormonforstyrrende stoffer kan inddeles i tre hovedgrupper:

1. De kan efterligne virkningen af et naturligt produceret hormon som østrogen eller testosteron, og derved kan de udløse

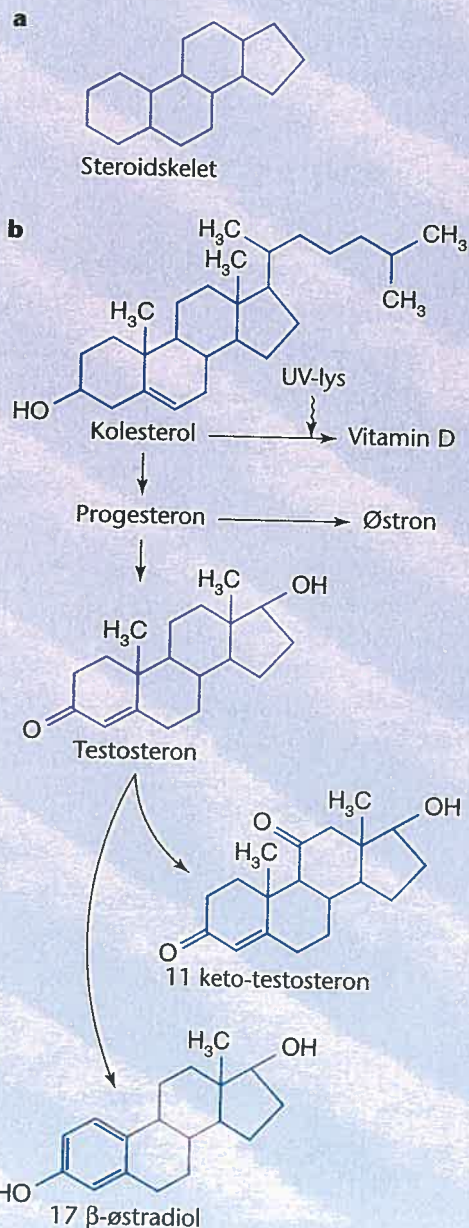
### FAKTABOKS

#### Steroidfamilien

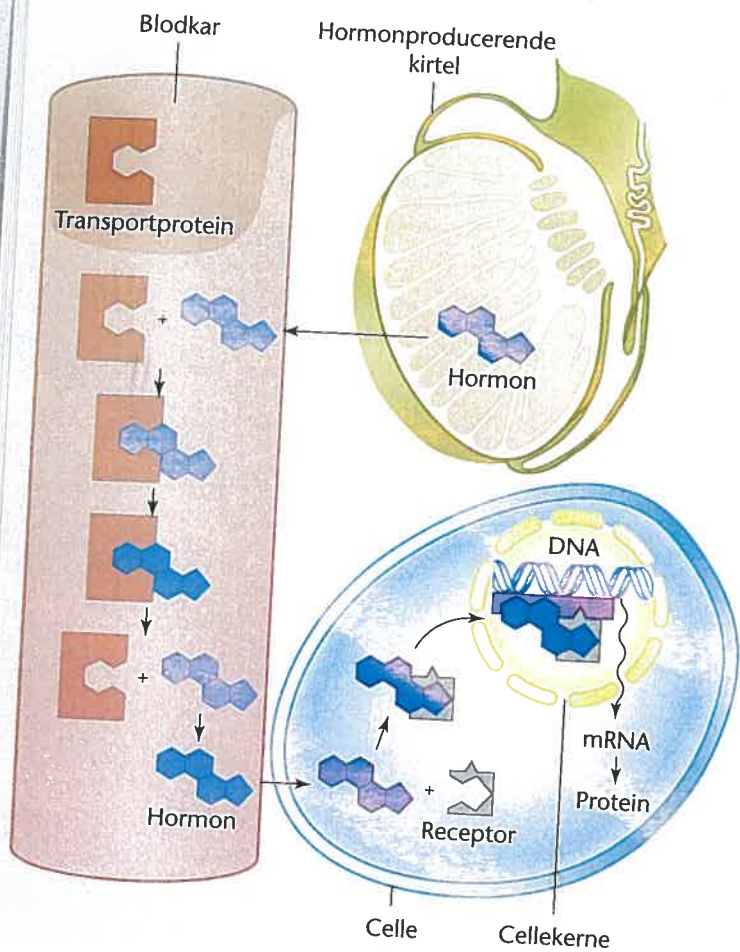
Steroiderne er en gruppe af fedtstoffer som er bygget op over et steroidskelet, se figur 3 a.

Dannelsen af kønshormoner sker ud fra kolesterol, og produktionen foregår i kønskirtlerne, se figur 3 b. Det dominerende hunnlige kønshormon hos alle hvirveldyr er 17  $\beta$ -østradiol, mens det hanlige er testosteron. Hos de fleste fiskearter er 11-keto-testosteron det dominerende kønshormon hos hanfisk.

Da det hormonale signalsystem er fælles for alle hvirveldyrene fra fisk til pattedyr, betyder det at det er mere en 500 mio. år gammelt!

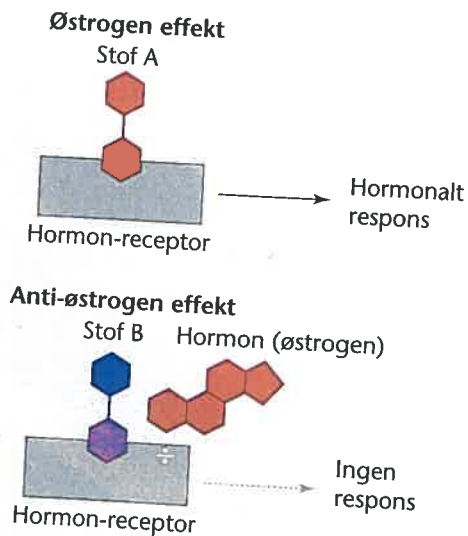


Figur 3. a. Steroidskelet. b. Produktion af kønshormoner og vitamin D ud fra kolesterol.



Figur 4. En skematisk fremstilling af steroidhormonet testosterons virkemåde.

Figur 5. En skematisk fremstilling af kemiske stoffer med østrogen effekt (Stof A) og anti-østrogen effekt (stof B).



- tilsvarende reaktioner i kroppen. Stof A i figur 5 er et eksempel på et kemikalie der efterligner det naturlige hormons funktion. Dette kaldes for *agonisme*.
- De kan blokere receptorerne i de celler der modtager hormonerne og derved forhindre de normale hormoner i at virke. Stof B i figur 5 er et eksempel på et kemikalie der hæmmer det naturlige hormons funktion. Dette kaldes for *antagonisme*.
  - De kan påvirke syntese, transport, omsætning og udskillelse af hormonerne og derved ændre koncentrationen af de naturlige hormoner.

Undersøgelser har vist såvel østrogene som antiøstrogene effekter af forskellige PCB-produkter.

I forsøg med skildpaddeæg har omsætningsproduktet 3',4',5'-triklor-4-bifenylole vist en kraftig evne til at bindes til østrogenreceptoren, se figur 6. Det har bevirket en fuldstændig feminisering af fostre under fosterudviklingen, se også side 32.

Det er enzymer i leveren som omsætter østrogen, og den antiøstrogene effekt af nogle PCB-produkter skyldes nok at de stimulerer produktionen af netop de lever- enzymer, der omsætter østrogen.

PCB har desuden en forstyrrende effekt på skjoldbruskkirtel-hormoners (thyroxins) transport og omsætning. Det kan bl.a. påvirke hjerneudviklingen hos fostre hvis mødre er stærkt belastede med PCB, se side 47.

## Hormonlignende stoffer og frugtbarhed

I starten af 1990'erne blev 'Østrogenhypotesen' fremsat. Det er en antagelse om at der er en sammenhæng mellem udsættelse for østrogenlignende stoffer og sundhedseffekter hos mennesket. Hypotesen har bidraget til at hormonforstyrrende stoffer er blevet kædet sammen med uforklar-

I  
g  
h  
p  
s  
h  
o  
c  
s  
m  
pl  
En  
40

lige kønsforandringer hos vilde dyr, fx den amerikanske puma og krokodiller i Apopkasøen i Florida, samt med den lave sædkvalitet hos unge mænd.

I de seneste 10-15 år har der på dansk og internationalt plan været en intensiv forskningsindsats for at undersøge hypotesen. I 1990'erne var der mest fokus på de østrogenlignende stoffer. I de senere år er der kommet mere fokus på de anti-androgene stoffer som modvirker effekten af det mandlige kønshormon testosteron. Desuden på stoffer der påvirker skjoldbruskkirtlen, dvs. PCB og bromerede flammehæmmere.

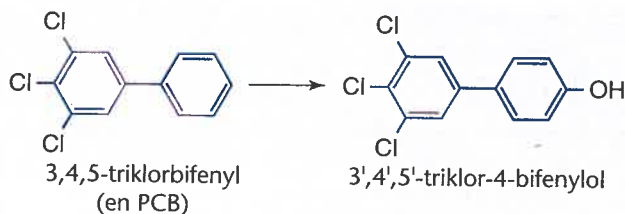
En af samlebetegnelserne som er blevet anvendt for forekomsten af mandlige forplantningsforstyrrelser, er *Testikulært Dysgenese Syndrom*. Det omfatter:

- Faldende sædkvalitet.
- Øget forekomst af kryptorkisme, dvs. at nyfødte drenges testikler endnu ikke er sunket ned i pungen. Dette sker ellers normalt i slutningen af graviditeten.
- Øget forekomst af hypospadi, dvs. at urinrøret udmunder på bagsiden af penis.
- Og den konstaterede forøgede hyppighed i testikelkræft.

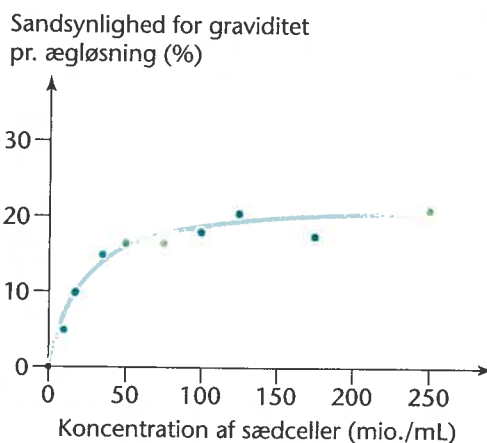
## Faldende sædkvalitet

Den mest markante ændring i den mandlige kønsudvikling er den dårlige sædkvalitet hos unge. I 2003-2004 undersøgte forskere på Rigshospitalet danske værnepligtiges sædkvalitet. Undersøgelsen viste at 40% har færre end 40 mio. sædceller pr. mL sæd, og 20% har endda færre end 20 mio. sædceller pr. mL sæd. Det gennemsnitlige antal sædceller hos danske mænd er 50 mio. pr. mL. Til sammenligning har finske værnepligtige 80 mio. sædceller pr. mL sæd.

En undersøgelse har vist at hvis der er over 40 mio. sædceller pr. mL sæd, er der almin-



Figur 6. PCB-forbindelser omsættes i højerestående organismer som padder, krybdyr, fugle og pattedyr til forskellige stoffer, fx 3',4',5'-triklor-4-bifenylol, som har en stor evne til at binde sig til østrogenreceptoren.



Figur 7. Sammenhængen mellem mænds sædcelleanstal og fertilitet. Ved et antal under 40 mio. sædceller pr. mL sæd falder sandsynligheden for at opnå graviditet markant.

delig sandsynlighed for at gøre kvinden gravid. Hvis tallet er mellem 38 mio. og 30 mio. sædceller pr. mL sæd, har kvinden svært ved at blive gravid. Hvis sædcellean-tallet er under 20 mio. pr. mL, er det meget vanskeligt at gøre hende gravid, se figur 7. Undersøgelsen omfattede 430 par som blev fulgt i en periode over seks menstruationscykluser. De seneste års undersøgelser viser endvidere at sædkvaliteten i Danmark fortsat falder med ca. 2% om året.

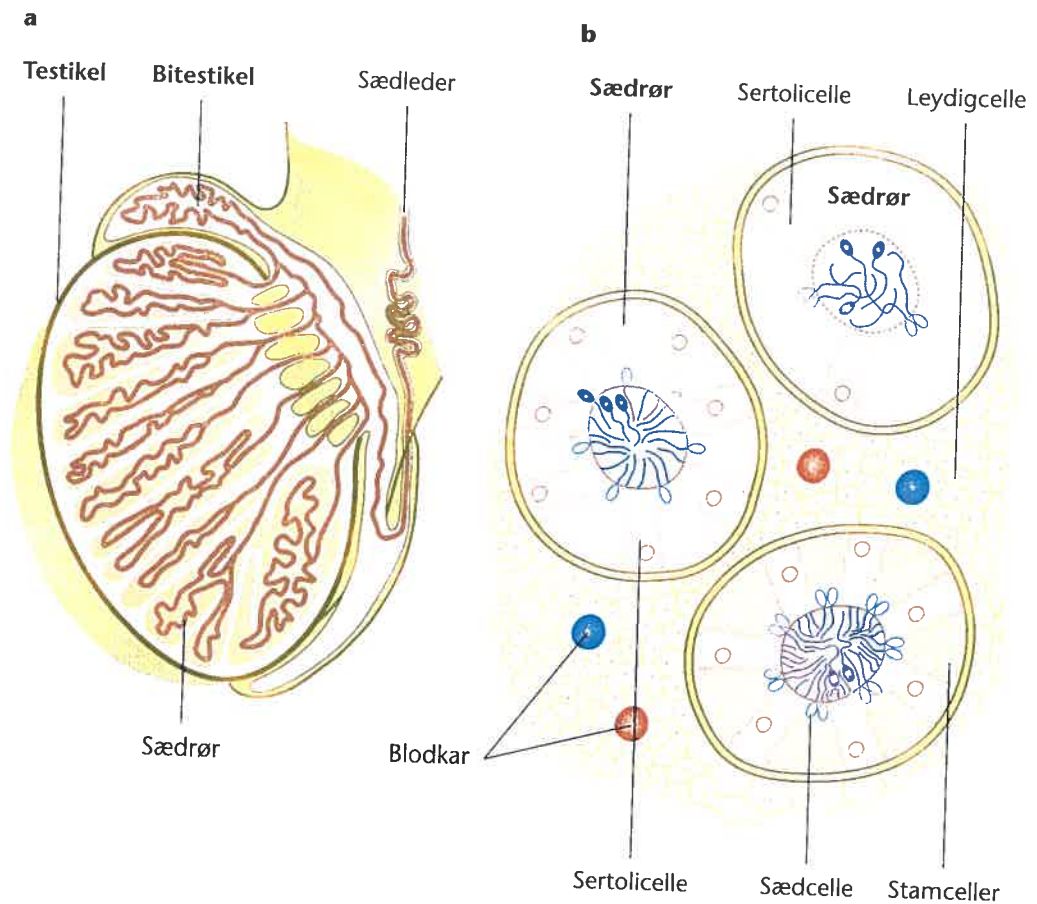
Tilmed ses der ofte unormale sædceller, dvs. misdannelser på sædcellerne i form af fx manglende hale eller dobbelthale, se figur 1, side 5. I undersøgelsen havde 70% af mændene under 9% normale sædceller. Dette skal sammenlignes med at man i en amerikansk undersøgelse har fundet at mænd, der har under 9% normale sædceller, har nedsat frugtbarhed. Hvis sæd-

cellerne er defekte, påvirker dette deres bevægelighed. Sammenholder vi både det lave sædcelleantal og den høje procent med unormale celler, er det i dag kun ca. 10% af de unge danske mænd som har optimal sædkvalitet. Ca. 5% af de unge 19-årige har så dårlig sædkvalitet at det må forventes at de kun kan få børn ved hjælp af mikroinsemination.

Det er i testiklerne at mandens sæd og kønshormoner dannes. Fra puberteten til langt op i alderen producerer de to testikler op til 100 mio. sædceller om dagen. Testiklerne består af et langt rørsystem med i alt 900 meter tæt pakket sædrør.

Selve rørene består af forskellige lag med forstadier til færdige sædceller. Overalt i sædrørene finder man *Sertolicellerne* som forsyner sædcellerne med næring og forskellige vækststoffer. Imellem sædrørene finder man de testosteronproducerende *Leydigceller*, se figur 8.

Selve styringen af kønsudvikling og produktion af sædceller sker fra hjernens hypothalamus. Fra hypothalamus siver der signalstoffer ned til hypofysen gennem nogle nerveceller. Disse signalstoffer, der kaldes gonadotropin releasing hormone, GnRH, giver hypofysen besked om at udskille de overordnede kønshor-



Figur 8. Testiklerne består af lange sædrør hvor produktionen af sædceller foregår. Sertolicellerne i sædrørene styrer produktionen af sædceller og forsyner sædcellerne med næring. Leydigcellerne uden for sædrørene producerer testosteron.

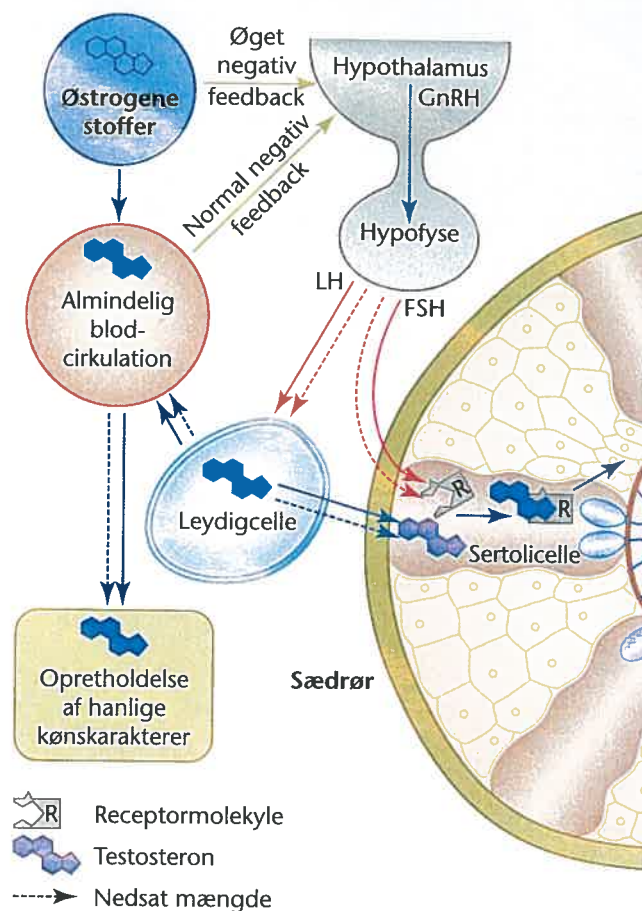
moner LH og FSH til blodbanen. LH giver signal til Leydigcellerne i testiklerne om at producere testosteron, mens FSH bl.a. får Sertolicellerne til at danne receptorer for testosteron. Så snart testosteron binder sig til receptorerne, får det Sertolicellerne til at danne vækststoffer til sædcellernes vækst, se figur 9.

En såkaldt *negativ feedback* sikrer at produktionen af hormoner ikke løber løbsk, se figur 9. Den øgede produktion af testosteron i testiklerne føres via blodet til receptorer i hypothalamus og bevirker at hypofysen dæmper sin produktion af de overordnede kønshormoner FSH og LH. Når produktionen af FSH og LH dæmpes, vil der ligeledes ske en dæmpning af aktiviteten i Sertolicellerne og Leydigcellerne, og produktionen af sædceller og testosteron forbliver på et stabilt og kontrolleret niveau. Hos kvinder giver østrogen negativ feedback på produktion af de overordnede kønshormoner FSH og LH.

Mændene har også en naturlig lav produktion af det kvindelige kønshormon østrogen. De små mængder østrogen har stor betydning for en normal hormonbalance da de har en dæmpende effekt på hypofysen.

Hvis en mand indtager større mængder østrogener og østrogenlignende stoffer, falder hans sædcelleproduktion. De østrogene stoffer binder sig til østrogenreceptorerne i hypothalamus. Derved øger de den negative feedback som testosteron normalt sørger for, med det resultat at koncentrationen af FSH og LH bliver for lav i blodbanen. Dette får Sertoli- og Leydigcellernes aktivitet til at falde, og dermed falder mandens sædcelleproduktion, se figur 9.

Generelt kan faldet i mænds sædkvalitet næppe henføres til østrogene stoffer alene. Men det nøje afstemte hormonsampil i



Figur 9. Sædcelleproduktionen kontrolleres vha. negativ feedback, hvor testosteron dæmper aktiviteten i hypothalamus og hypofysen. Østrogene stoffer har samme dæmpende effekt som testosteron. Hvis en mand udsættes for dem, bliver produktionen af FSH og LH fra hypofysen for lav, og sædproduktionen falder.

forbindelse med både kønsudviklingen i fostertilstanden og sædproduktionen i voksenalderen gør stofferne til hovedmis-tænkte.

Ud over at forstyrre selve hormonsammensætningen kan kemiske stoffer også skade sædcellernes DNA og resultere i forkert udviklede sædceller eller nedsat sædproduktion. Der findes en del undersøgelser som viser nedsat sædkvalitet blandt mænd der arbejder i et miljø med kemiske stoffer.

## Hormonlignende stoffer og kønsdifferentiering

Om barnet bliver en pige eller en dreng bestemmes det øjeblik en sædcelle trænger ind i en ægcelle. Pigerne har kønskromosomerne XX, drengene har XY. Både ægcellen og sædcellen indeholder normalt 22 kromosomer som betegnes autosomer, og et kønskromosom. Det vil sige 23 kromosomer i alt. I ægcellen er

kønskromosomet altid et X-kromosom, mens det i sædcellen kan være enten et X-kromosom eller et Y-kromosom. Dette betyder at hvis den befrugtende sædcelle også indeholder et X, vil det lille barn blive en pige. Hvis den befrugtende sædcelle derimod indeholder et Y-kromosom, bliver det en dreng.

Læs om den normale *kønsdifferentiering* i faktaboksen 'Kønsdifferentiering'.

## FAKTABOKS

### Kønsdifferentiering

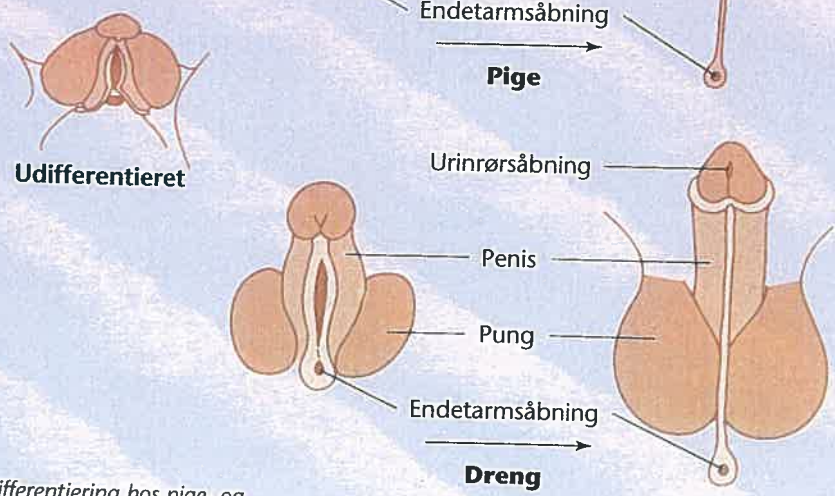
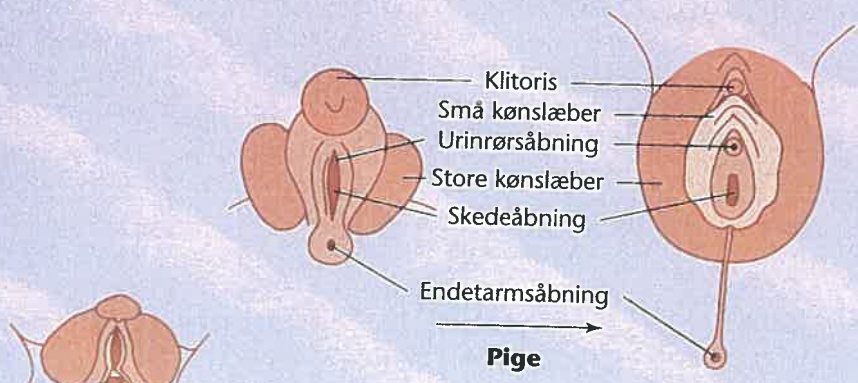
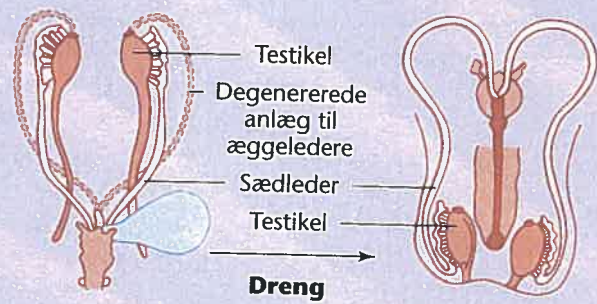
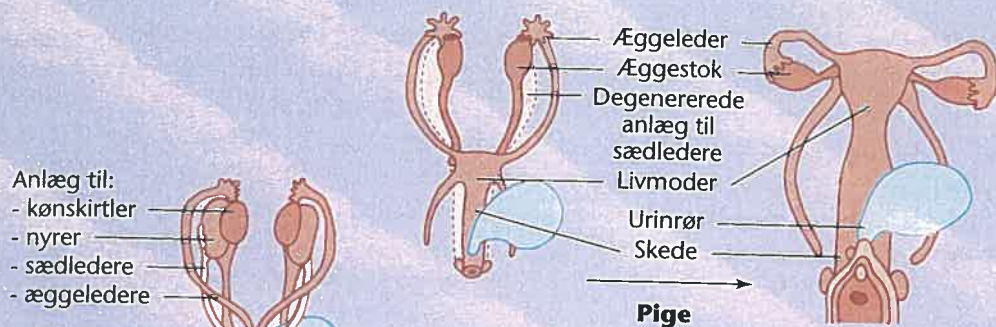
I starten af fosterudviklingen er det umuligt at se om det er et pige- eller et drengefoster. Både de ydre og de indre kønsorganer er ens frem til 6.-7. fosteruge. De primære køns karakterer, dvs. de organer der senere bliver til testikler hos drengen og til æggestokke hos pigen, anlægges i bughulen sammen med anlæg til både sæd- og æggeledere, se figur 10.

Fra 7.-8. fosteruge begynder fosteret at udvikle enten mandlige eller kvindelige karakteristika idet kønsorganerne begynder at blive udviklet. Det er Y-kromosomet med SRY-genet der afgør fosterets videre udvikling. Hvis SRY-genet er til stede, udvikler fosteret sig i hanlig retning, og kønskirtlerne bliver til testikler. Hvis Y-kromosomet mangler, bliver udviklingen hunlig, og fosteret får æggestokke. Hos drengefosteret vil testiklerne begynde en produktion af det mandlige kønshormon testosteron. I løbet af 2.-4. fostermåned vil testosteron bevirke at både ydre og indre kønsorganer udvikles i hanlig retning, dvs. drengefosteret får sædkanaler, bitemstikler, pung og penis. Hos pigefosteret

vil udviklingen af æggestokke og dermed manglen på testosteron betyde en udvikling i hunlig retning. Dvs. pigefosteret udvikler æggeledere, livmoder, skede, klitoris og kønslæber.

I 10-14 års alderen (puberteten) færdigudvikles kønsorganerne, og pigen eller drengen bliver kønsmoden, dvs. i stand til at få børn. I løbet af puberteten øges produktionen af overordnede kønshormoner i hypofysen hvilket får drengenes testikler til at producere testosteron og pigernes æggestokke til at producere østrogen og progesteron. Det er hjernens hypothalamus der styrer produktionen hypofysens produktion af de overordnede kønshormoner FSH og LH, se side 5 og 11.

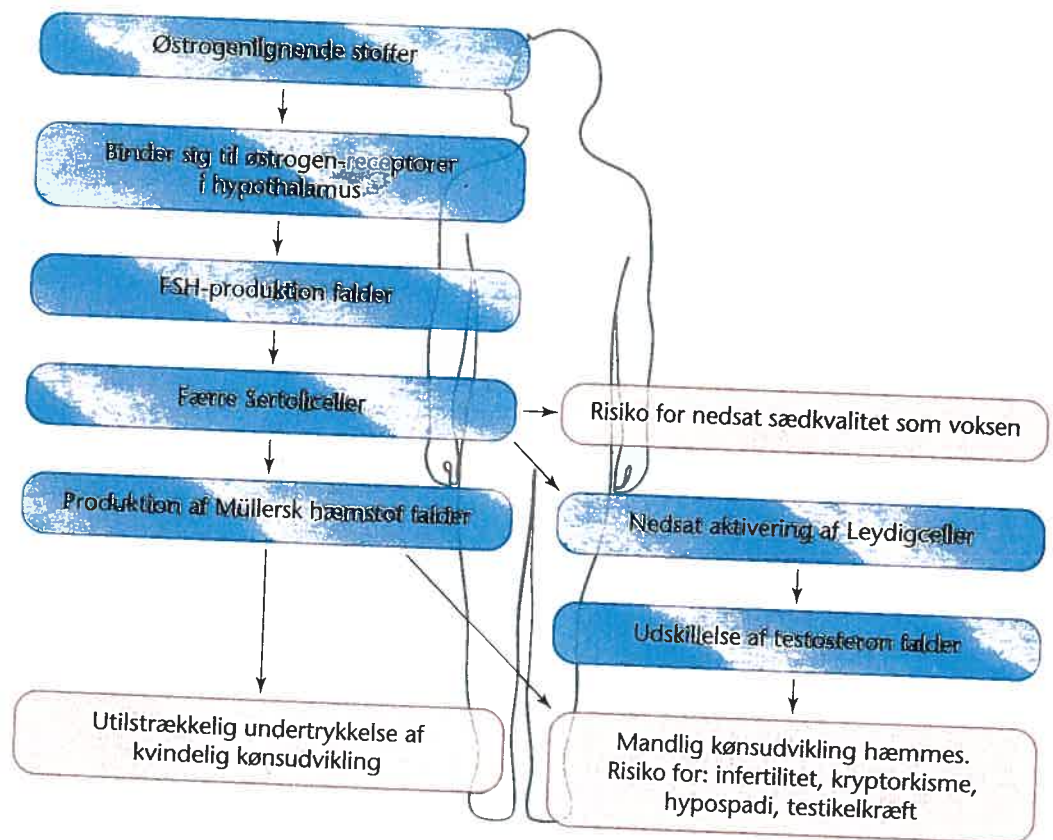
Den stigende produktion af kønshormoner (testosteron hos drengene og østrogen hos pigerne) er bl.a. ansvarlig for udviklingen af de sekundære køns karakterer. Drengene får et dybere stemmeleje, kropsbehåring, skæg, muskeludvikling og en anden fedtfordeling og kropsbygning. Pigerne får bryster, kropsbehåring og en anden fedtfordeling og kropsbygning.



Figur 10. Kønssdifferentiering hos pige- og drengefostre.

Mens fosterets udvikling foregår, er fosteret meget følsomt overfor hormonal påvirkning, både fra moderen og fra de omgivelser moderen færdes i. Forskere frygter især at de kemiske stoffer med østrogen virkning griber uheldigt ind og forstyrrer kønsdifferentieringen under fosterudviklingen. Dette skyldes at de østrogenlignende stoffer ligesom naturligt østrogen kan trænge igennem moderkagen og derved ændre fosterets hormonbalance. Perioden omkring 5.-6. uge i fosterudviklingen er særlig følsom. På dette tidspunkt udvikles det intetkønnede fosters kønskirtler enten til testikler eller æggestokke afhængigt af kønskromosombesætningen i cellerne.

Navnlig drengefostre har vist sig at være følsomme over for de østrogene stoffer på dette tidspunkt, se figur 11. De østrogenlignende stoffer forstyrrer kønsdifferentieringen ved at binde sig til receptorer for østrogen i fosterets hypothalamus. Derved nedsætter hypofysen sin produktion af FSH så væksten af Sertolicellerne hæmmes. Resultatet er en udvikling af færre og mindre aktive Sertoliceller, og det fører senere til nedsat sædcelleproduktion i voksenalderen. Opretholdelsen af et normalt antal Sertoliceller er vigtig fordi de er helt centrale i drengefosterets udvikling. Dels aktiverer de Leydigcellerne som producerer testosteron, og dels udskiller de det Müllerske hæmstof som hæmmer en



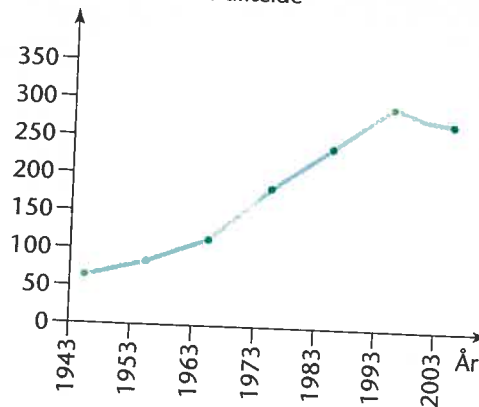
Figur 11. Østrogene stoffers påvirkning af den mandlige kønsudvikling.

at være toffer på trogen-fferen-torer for s. Derved ion af hæg-færre og fører on i et norrdi de er ikling. m pro-er de ner en

kvindelig kønsudvikling. Færre Sertolice-ler kan altså betyde nedsat testosteronpro-dukation, hæmmet mandlig kønsudvikling og nedsat sædkvalitet og sædproduktion i voksenalderen. Hypotesen er endvidere at påvirkning med østrogenlignende stoffer i fostertilstanden også kan betyde at dren-gen fødes med hypospadi eller kryptorkis-me, se side 9. Desuden er der forøget risiko for at udvikle testikelkræft, se figur 12.

Kemikalier som direkte påvirker cellernes arvemateriale, mistænkes også for at øge antallet af testikelkræfttilfælde – ligesom livsstilsfaktorer som rygning, spisevaner og indtagelse af alkohol.

Antal testikelkræft-tilfælde



Figur 12. Antal konstaterede tilfælde af testikelkræft i perioden 1945-2005.

## Kemikalier kan give kønsforvirring

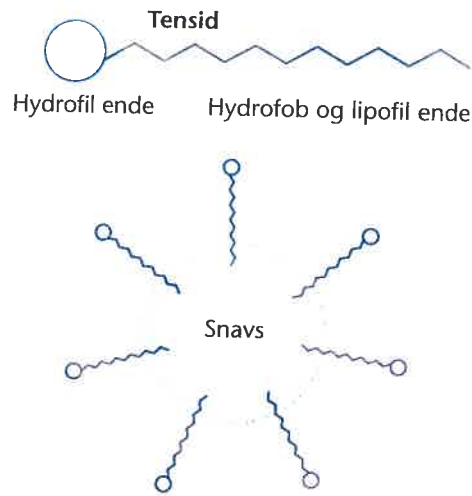
Tidligere blev de såkaldte *APE-stoffer* (Alkyl-Phenol-Ethoxylater) især anvendt som overfladeaktive stoffer i rengøringsmidler, vaskemidler og kosmetik. I rengøringsmidler og vaskepulver tilsætter man dem for at danne en vandopløselig film rundt om snavspartiklerne så gulve eller tøj bliver rigtigt rent. De kaldes også vask-aktive stoffer eller tensider og opløser fedtstoffer i vand.

Alle overfladeaktive stoffers molekyler er kendetegnet ved at indeholde en ende af molekylet som ikke er opløselig i vand, men som binder sig kraftigt til snavs, fedt mv. Dette kaldes den hydrofobe (vandfrastødende) eller lipofile (fedttiltrækkende) del af molekylet. Den anden ende af molekylet er opløselig i vand. Dette kaldes

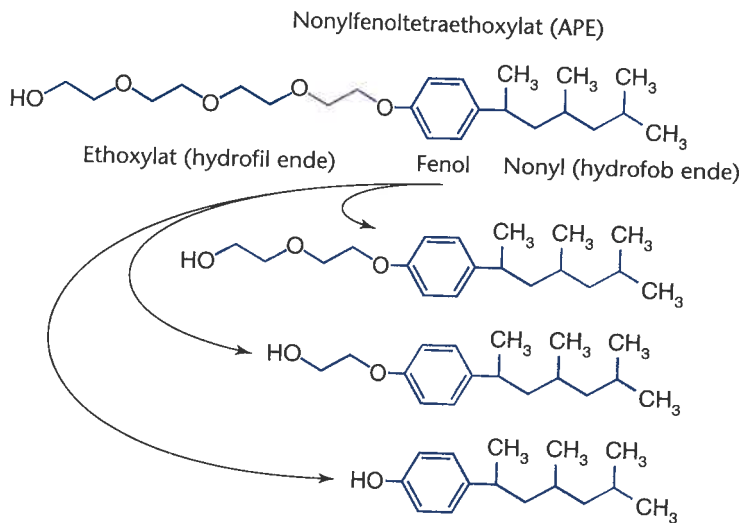


Figur 13. Fugemasse omkring vinduer i ældre huse indeholder ofte APE-stoffer.

den hydrofile (vandtiltrækkende) del af molekylet, se figur 14.



Figur 14. Det overfladeaktive stof er i stand til at blande fedtopløselige stoffer med vand. Den hydrofobe ende binder sig til stoffet, mens den hydrofile ende opløses i vand.



Figur 15. Nonylphenol-tetraethoxylat er et overfladeaktivt stof. Det nedbrydes til forskellige nonylforbindelser, jo kortere ethoxykæder, jo større østrogen effekt.

Tensider inddeles i hovedgrupper alt efter om den hydrofile del er positivt ladet (kationisk), negativt ladet (anionisk) eller neutral (nonionisk). APE'r hører til gruppen af nonioniske tensider.

I dag anvendes APE'rne især som hærdere og bindere i smøreolier, maling og andre 'gør det selv produkter'.

APE-stofferne er ikke i sig selv skadelige, men når de havner i spildevand, åer og søer, omdanner mikroorganismer dem til forskellige alkylfenoler, bl.a. nonylfenoler og oktylfenoler. Disse nedbrydningsprodukter er skadelige for miljøet da de virker hormonforstyrrende på bl.a. snegle, fisk, krybdyr og pattedyr – og mennesker.

Figur 15 viser et eksempel på et nonylfenol-molekyle. Kemisk set består alkylfenolerne af en fenolring med en alkylsidekæde (nonyl), som er den hydrofobe eller lipofile del af molekylet, samt en kæde af ethoxygrupper, som er den hydrofile del af molekylet. Det er denne opbygning i en hydrofob (vandskyende) og hydrofil (vandtiltrækkende) del som gør at de kan opløse fedt i vand. Den hydrofile gruppe kan være forskelligt bygget i forskellige overfladeaktive stoffer og give det enkelte stof karakteristiske egenskaber. Vaske- og rengøringsmidlers hydrofile del af molekylet indeholder mellem 8 og 18 ethoxygrupper. Stoffernes hormonforstyrrende egenskaber afhænger især af ethoxykædens længde. Jo kortere kæde, jo større østrogen effekt. På grund af stoffernes lipofile (fedttiltrækkende) egenskaber opkoncentreres alkylfenoler i muslingers og fisks fedtvæv.

Generelt er det en yderst vanskelig proces at fastslå giftvirkningen og den hormonforstyrrende effekt af nonylfenoler. For det første er der ikke tale om rene forbindelser, men om en blanding af isomere stoffer

som kan variere fra produkt til produkt. For det andet er det ikke givet at alle isomererne nedbrydes på samme måde og med samme hastighed, og endelig kan de enkelte isomerer have forskellig opløselighed og ikke mindst forskellig østrogen virkning.

Isomere stoffer har samme atomsammensætning, men stofferne er opbygget forskelligt.

EU har udarbejdet en liste med indtil videre 118 stoffer der er anset for at være hormonforstyrrende eller potentielt hormonforstyrrende. Nonylphenol og nonylfenoethoxylat er opført på denne liste. I Danmark har nonylphenol og nonylfenoethoxylat siden 2004 været opført på listen over uønskede stoffer. Det betyder at import, salg og anvendelse af nonylphenol eller nonylfenoethoxylat som stof eller som bestanddel af produkter i koncentrationer på 0,1 vægtprocent eller derover er forbudt til bl.a. rengøring, kosmetik og andre midler til personlig pleje, bortset fra sæddræbende midler (spermicider).

Forbruget af APE-stofferne har været stærkt faldende i de seneste 10 år. De tilladte anvendelser er i dag især inden for hærde til maling og lak og i bindemidler til byggematerialer og støbemasser. Disse tilladte anvendelser samt et skjult indhold i produkter som indføres til Danmark, er årsagen til at der stadig tilføres store mængder APE-stoffer til vandmiljøet. De væsentligste kilder til forurening med nonylphenol og nonylfenoethoxylat er udløb fra renseanlæg og udsivning fra landbrugsjord hvor der er spredt spildevandsslam.

Det er usikkert hvor stor en mængde af nonylphenol og nonylfenoethoxylat der ender i vandmiljøet. Der er principielt fem kilder til østrogene stoffer i vandmiljøet: Ud over de kommunale renseanlæg og slam fra landbrugsarealer er der små

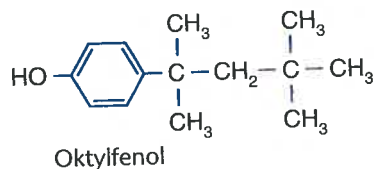
mekaniske og mekanisk/biologiske anlæg, ejendomme som ikke er tilsluttet kloakering til kommunale spildevandsanlæg og gylle fra landbruget.

Den danske miljøstyrelse vurderer at tilførslen af nonylphenol til vandmiljøet i langt overvejende grad skyldes udledning med spildevand fra renseanlæg. Nyere undersøgelser viser dog en høj fjernelse af østrogenlignende stoffer i de moderne renseanlæg som renser mere end 96% af det danske spildevand inden det udledes til vandmiljøet (vandløb, søer eller kystvande).

Den danske miljøstyrelses vurdering er at det i dag efter al sandsynlighed er de naturlige kønshormoner, der er den væsentligste årsag til den østrogenaktivitet, som ses i danske vandløb. Naturlige østrogener i udledninger fra de små anlæg på landet og i gylle kan være årsagerne til hormonforstyrrede fisk, som er set i undersøgelser af danske vandløb. Læs mere om østrogener i renseanlæg side 23.

## Hormonforstyrrende effekt i fisk

Både nonylfenoler og oktylphenoler virker som kønshormoner hos pattedyr, fisk og krebsdyr, se oktylphenol på figur 16. Hos fisk påvirker de kønshormonet østrogen som normalt styrer dannelsen af et vigtigt protein i hunfiskenes æggeblomme. Protein hedder *vitellogenin*.

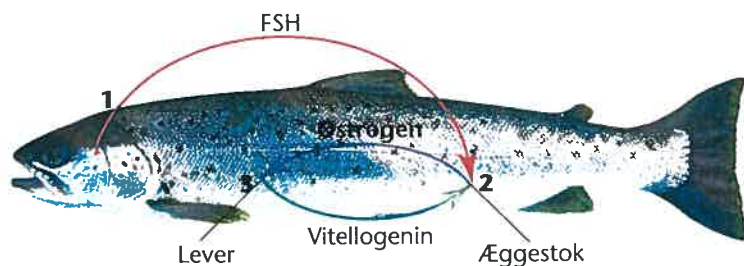


Figur 16. Oktylphenol har otte kulstofatomer i sidekæden, nonylphenol har ni. Octo betyder otte, og novem betyder ni på latin.

Den normale hormonale styring af dannelsen af æggeblommeprotein vitellogenin er vist i figur 17. Når hunfisk danner blommeprotein til produktionen af æg, sker det under styring af hormoner. Fiskens hypofyse producerer det overordnede kønshormon FSH der påvirker fiskens æggestok til at danne kønshormonet østrogen (1). Efter østrogenernes frigivelse til fiskens blodårer, føres dette med blodet til leveren (2). Her sidder der nogle celler med østrogenreceptorer som påvirkes til at danne blommeprotein vitellogenin. Efter dannelsen føres blommeprotein med blodet fra leveren til fiskens æggestok hvor det bruges til produktionen af æggeblomme (3).

Ligesom hos andre hvirveldyr er 17  $\beta$ -østradiol det betydende østrogen. Se også faktaboksen om steroidfamilien side 7.

Hanfisk, som ikke skal producere æg, danner normalt kun blommeprotein vitellogenin i forsvindende små mængder. Hvis hanfiskene udsættes for østrogen eller østrogenlignende stoffer som nonylfenoler, begynder de at producere vitellogenin. Et højt indhold af vitellogenin kan påvirke hanfiskenes formeringsevne, fx fordi der sker ændringer i deres testikler. Det kan medføre at de ikke danner sædceller, men forstadier til æg.



Figur 17. Hormonal styring af dannelsen af blommeprotein vitellogenin hos hunfisk.

I Danmark har en gruppe forskere i laboratorieforsøg testet en række kemikalier for deres østrogene virkning. Testene har bestået i at udsætte unge ikke-kønsmodne regnbueørreder for forskellige kemikalier, herunder nonylfenoler og oktylfenoler. Hvis fiskene efterfølgende får et stort indhold af vitellogenin i blodet, er de undersøgte kemikalier med stor sandsynlighed i stand til at virke som østrogen.

Generelt var nonylfenolerne og oktylfenolerne de kemikalier som havde den kraftigste østrogene virkning. Nogle af dem var i stand til at øge mængden af blommeprotein mere end tusinde gange i de testede fisk.

Hvis forskere måler en stigning af blommeprotein vitellogenin hos hanfisk i naturen, er det altså et godt tegn på at de er påvirket af østrogen eller kemikalier med østrogen virkning.

## Undersøgelse af fisk i engelske floder

Engelske forskere har undersøgt østrogene stoffers effekter på fisk i britiske floder og søer.

I en undersøgelse af nærområdet omkring spildevandsudledninger i fire forskellige engelske floder (Aire, Arun, Chelmer og Stour) blev koncentrationen af blommeprotein i blodet målt hos regnbueørredhanner. Undersøgelsen viste at umiddelbart efter udløbet steg koncentrationen af blommeprotein markant i blodet hos hanfiskene i tre ud af fire floder, se figur 18. Spildevandets østrogene virkning kunne ses flere kilometer efter udledningen i to af floderne (Airefloden og Arunfloden), mens den kun kunne ses nogle få hundrede meter væk i Chelmerfloden. Der sker formentlig en forskellig fortynding af spildevandet i de fire floder. I Aire-

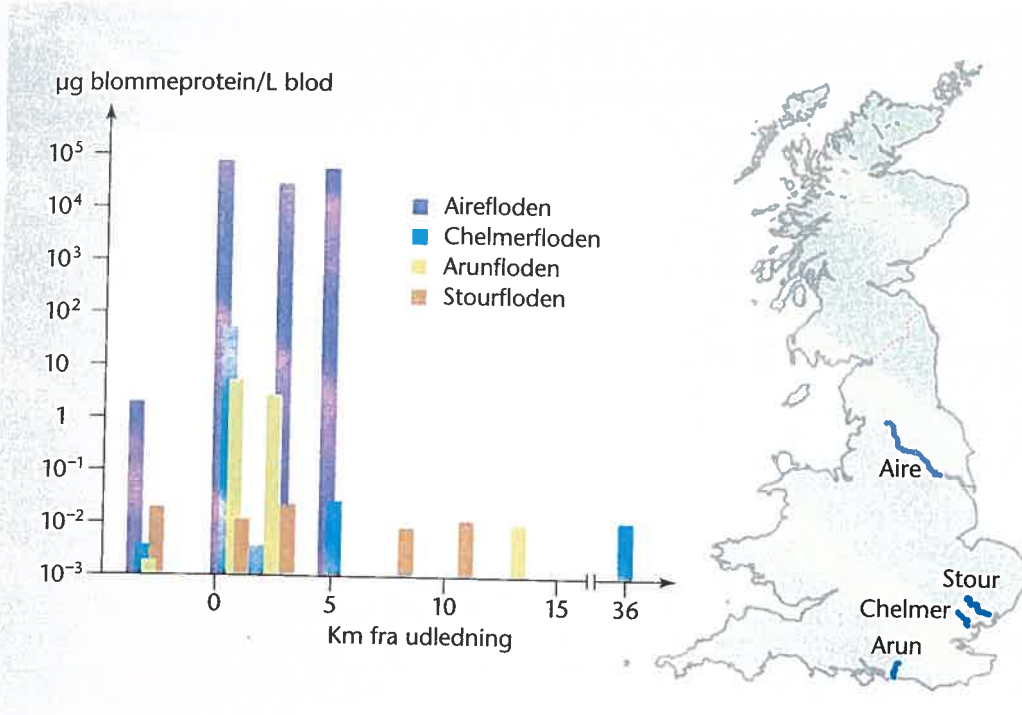
labo-  
liler  
e har  
nodne  
kalier,  
oler.  
t ind-  
nder-  
ghed i

styl-  
len  
af  
if  
nge i

om-  
ki  
it de  
er

ogene  
r og

re  
b,  
ren  
egn-  
: at  
ntra-  
lor-  
er, se  
ning  
in-  
in-  
le  
en.  
n-  
Aire-



Figur 18. Målte koncentrationer af blommeprotein i blodet hos hanner af regnbueørred. Ørrederne var udsat i netbure i tre uger i fire forskellige engelske floder.

floden hvor den østrogene effekt holder sig flere kilometer efter spildevandsudløbet, er forklaringen sandsynligvis at der er mange uldspinderier i spildevandsområdet. De bruger store mængder vaskemidler med APE-stoffer til at affedte råulden.

Stigningen af blommeprotein hos fiskene kan skyldes en række forskellige kemikalier. Foruden hormonlignende stoffer i vaskemidler mv. kan stigningen også skyldes naturlige østrogener i spildevandet og kunstige østrogener fra p-piller. Østrogener fra p-piller udskilles med urinen, og fra toiletterne når de via kloakker og renseanlæg til floderne.

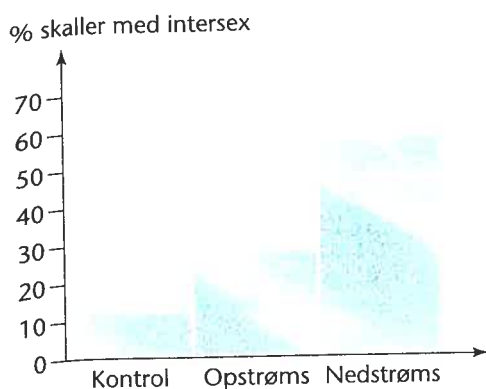
I en anden engelsk undersøgelse har forskere undersøgt om skallebestandene i otte floder var påvirket af spildevandsud-

ledninger med østrogenlignende stoffer. Forskerne undersøgte om hanfiskene viste både hunlige og hanlige træk. Hvis hanfisk fx havde dannet både testikel- og æggestokvæv, angav forskerne at de udviste *intersex* (hermafroditisme). De var kort og godt 'kønsforvirrede'. Undersøgelsen viste at en langt større procentdel af skallerne udviste *intersex* efter spildevandsudløbene (nedstrøms) end før udløbene (opstrøms). Ligeledes viste undersøgelsen at jo mere spildevand en flod modtog, jo mere 'kønsforvirrede' var hanskallerne, se figur 19, side 20.

Resultaterne af de engelske undersøgelser er gennemgået fordi de viser en tydelig feminisering af fisk i naturen, altså at hanfisk også har hunlige træk.

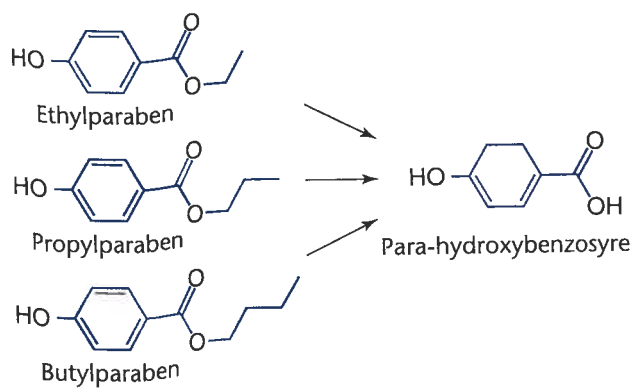
En rapport udarbejdet af den danske miljøstyrelse i 2002 viser imidlertid – og

Figur 19. Intersex hos hanner i engelske skallebestande før (opstrøms) og efter (nedstrøms) spildevandsudledninger i otte floder. Kontrollfiskene stammer fra fem vandløb der ikke modtager spildevand.



heldigvis - at England skiller sig ud som det land hvor feminisering af fisk er mest udbredt, og hvor de mest alvorlige grader af feminiseringer er observeret. I Danmark og det øvrige Europa, har man kun fundet feminiserede fisk få steder.

Observationerne af feminiserede fisk har rejst spørgsmålet hvorvidt frugtbarheden eller forplantningsevnen hos fisk er nedsat, og om der er risiko for fald i fiskebestandenes størrelse. Miljøstyrelsens konklusion i 2002 var at der ikke er tilstrækkelig viden til at svare på det. De engelske undersøgelser som er udført i



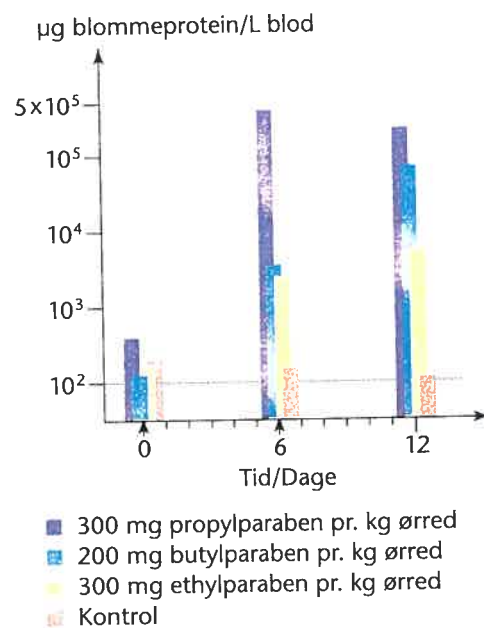
Figur 20. Tre almindeligt anvendte parabener og deres nedbrydningsprodukt para-hydroxybenzoesyre.

områder med højt belastningsniveau, viser imidlertid nedsat befrugtningsevne blandt intersex-skallehanner. En undersøgelse viste fx at kun 50% af intersex-skallehannerne var i stand til at gyde sæd.

Dertil kommer at der blev målt både nedsat sædvolumen, nedsat sædcelletæthed og nedsat bevægelighed hos de øvrige ikke-intersex ramte skallehanner.

## Kosmetik

I blommeproteinundersøgelsen testede forskerne også en stofgruppe som kaldes parabener. De anvendes især som konserveringsmidler i kosmetik, bl.a. hudplejeprodukter.



Figur 21. Testning af ethyl-, propyl- og butylparaben på ikke-kønsmodne ørreder i laboratorieforsøg. På dag 0 og dag 6 blev der sprøjtet henholdsvis 300 mg/kg af ethyl- og propylparaben og 200 mg/kg butylparaben ind i fiskene. I perioden dag 0 til dag 12 blev koncentrationerne af æggeblommeproteinets vitellogenin målt i fiskenes blod.

Parabener dræber eller hæmmer tilvæksten af bakterier, gær og mugsvampe. Som regel tilsættes produkterne en blanding af flere forskellige typer parabener for at konservere så effektivt som muligt. Figur 20 viser tre almindeligt anvendte parabener.

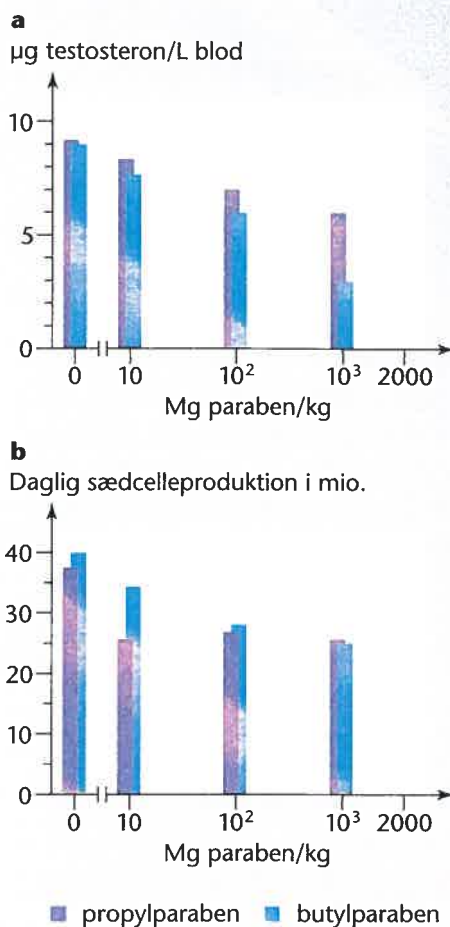
Forsøgene viste at propyl- og butylparaben har en kraftig østrogen virkning, mens ethylparaben har en svag østrogen virkning, se figur 21. I rotteforsøg har butylparaben vist sig at være østrogen når det sprøjtes ind under huden på rotterne, men ikke når det gives som føde eller smøres på huden. Andre undersøgelser har vist at parabenerne nedbrydes forholdsvis hurtigt i huden og i fordøjelseskanalen hos pattedyr, så der er usikkerhed om størrelsen af den østrogene effekt ved almindelig anvendelse i fødevarer og kosmetik.

Man har også undersøgt propyl- og butylparabens effekt på hanrotters testosteron- og sædcelleproduktion, se figur 22. Begge stoffer har her en negativ effekt.

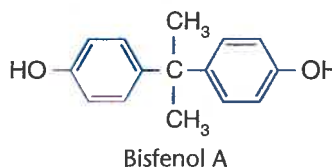
## Lim og maling

Limprodukter og malinger, herunder epoxylakker, kan indeholde rester af stoffet bisfenol A, se figur 23. Endvidere produceres der bromerede forbindelser, der er afledt af bisfenol A, som anvendes som brandhæmmere i bl.a. computere. Læs mere om bromerede flammehæmmere i næste kapitel. Bisfenol A er et af de stoffer der udviser stærkest hormonlignende effekt i forsøg med ørreder. Det har klare hormonforstyrrende effekter ved koncentrationer mellem 40 og 70 µg/L i vandet.

I faktaboksen 'Økotoksikologisk vurdering af miljøfarlige stoffer - bisfenol A som eksempel', side 22, er vist hvordan man foretager en økotoksikologisk vurdering.



Figur 22. a. Sammenhængen mellem testosteronkoncentration og parabener. b. Sammenhængen mellem sædcelleproduktionen og parabener.



Figur 23. Bisfenol A.

## FAKTABOKS

### Økotoksikologisk vurdering af miljøfarlige stoffer – bisfenol A som eksempel

Økotoksikologi handler om giftige (toksiske) stoffers påvirkninger i økosystemerne.

Det er vanskeligt at påvise miljøfarlige stoffers virkning på naturen alene ud fra observationer og målinger i naturen. Derfor foretages der kontrollerede forsøg både i laboratoriet og i naturen for at få viden om eventuelle effekter af et miljøfarligt stof.

Når man skal lave en økotoksikologisk vurdering af et miljøfarligt stof, sker dette ved fastlæggelse af en nul-effekt-værdi, *PNEC-værdi* (Predicted No Effect Concentration). Denne burde i princippet bestemmes ud fra en *NOEC-værdi* (No Observed Effect Concentration), dvs. den højeste koncentration af det miljøfarlige stof der ikke har nogen effekt, se figur 24. Sådanne effekter kan være nedsat vækst eller reduktion i antallet af afkom. I laboratorieforsøg måler man ofte også den såkaldte *LOEC-værdi* (Lowest Observed Effect Concentration), som er den koncentration hvor den første organisme bliver påvirket.

Et meget anvendt mål for et miljøfarligt stofs akutte giftighed er en bestemmelse af den såkaldte dødelighedskoncentration, *LC<sub>50</sub>* (LC står for Lethal Concentration). Det er den koncentration hvor 50% af forsøgsdyrene dør inden for fx 48 timer. I stedet for dødelighed kan man måle andre virkninger som effekt på vækst eller frugtbarhed, og man taler da om effektkoncentrationen *EC<sub>50</sub>*.

I praksis kan en *PNEC-værdi* fastlægges ved en beregning ud fra en *LC<sub>50</sub>-værdi*. Hvis beregningen baseres på få undersøgelser, vælges den laveste *LC<sub>50</sub>-værdi* som derefter bliver divideret med 1000 dvs.

$$PNEC = \text{laveste } LC_{50}\text{-værdi}/1000.$$

Hvis der er udført undersøgelser på en række arter, vælges den laveste *LC<sub>50</sub>* eller *EC<sub>50</sub>-værdi* som divideres med 100.

Som baggrund for fastlæggelse af *PNEC* for bisfenol A ved man fra forsøg at:

- Mindste *EC<sub>50</sub>* for alger er 1 mg/L.
- Mindste *EC<sub>50</sub>* for krebsdyr er 1,1 mg/L.
- Mindste *LC<sub>50</sub>* for fisk er 3,0 mg/L.
- Desuden er der påvist hormonforstyrrende effekter.

Ved algetest undersøges typisk hæmning af vækst, mens test af krebsdyr og fisk typisk består af undersøgelse af bevægelse/mobilitet, vækst og reproduktion.

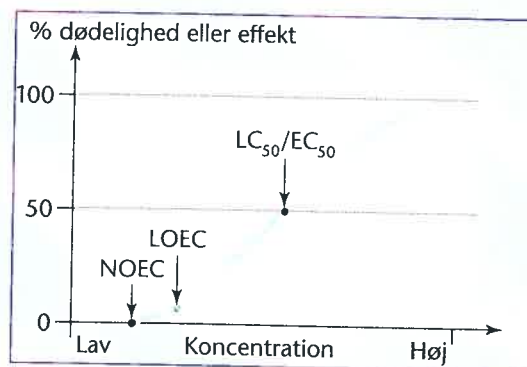
Ved beregningen af *PNEC* anvendes en sikkerhedsfaktor på 1000 fordi der endnu kun eksisterer et lille datamateriale, dvs. få forsøg og undersøgelser.

$$PNEC \text{ for bisfenol A} = \frac{1 \text{ mg/L}}{1000} = 1 \text{ } \mu\text{g/L}$$

Bemærk at der i *PNEC* er taget udgangspunkt i den mindste *EC* for alger på 1 mg/L som er den laveste kendte *EC<sub>50</sub>-værdi*.

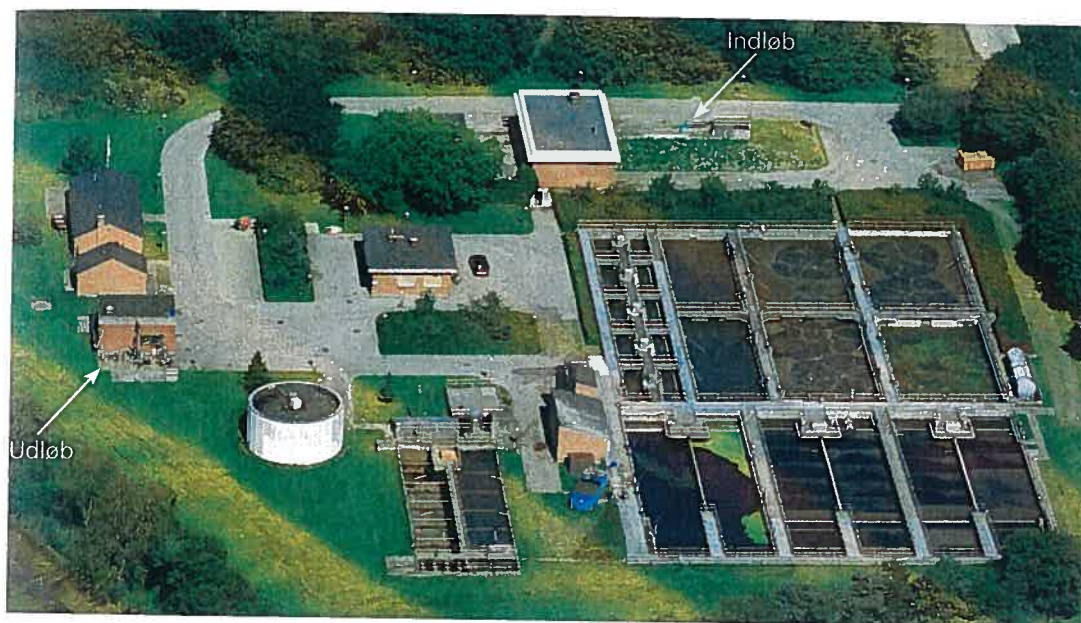
I en samlet økotoksikologisk vurdering af et miljøfarligt stof skal der endvidere foretages vurderinger af nedbrydelighed og risiko for bioakkumulation i naturen.

Se også faktaboksen 'Vurdering af stoffers giftighed', side 71.



Figur 24. Sammenhængen mellem et miljøfarligt stofs koncentration og virkning på forsøgsorganismen.

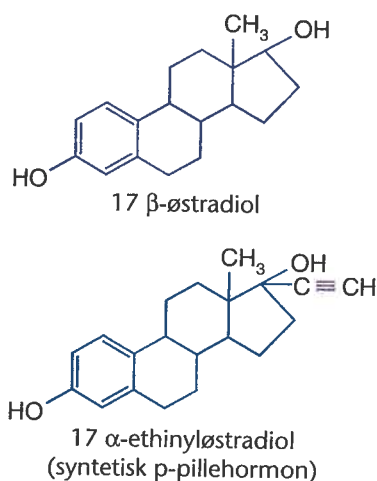
## Østrogener i renselanlæg og i miljøet



Figur 25. Luftfoto af Melby renselanlæg. Det rensede spildevand føres via et rør et godt stykke ud i Kattegat.

Som nævnt side 19, ledes der både naturlige og syntetiske østrogener til miljøet. De naturlige østrogener stammer især fra mennesker og husdyr. Undersøgelser viser at kvinder udskiller 2-12 µg af det væsentligste kønshormon østradiol (17 β-østradiol) med urinen om dagen, mens gravide kvinder i snit udskiller hele 257 µg og mænd kun 1-2 µg om dagen. Undersøgelser viser dog at skadevirkningen af de naturlige østrogener er begrænset idet størsteparten af disse nedbrydes når de passerer gennem renselanlæg. Nedbrydningstiden for østradiol er typisk 1-2 dage, og det mister således det meste af sin aktivitet inden det når ud i vandløbet, søen eller kystvandet. Derimod er nedbrydningstiden for det aktive hormon i p-piller, det syntetiske østrogen 17 α-ethinyløstradiol, meget langsomme idet det har en levetid på flere uger. Dermed kan det nå at blive optaget i vanddyrene og skade dem. Kvinder der bruger p-piller, udskiller typisk omkring 35

µg om dagen med urinen. I figur 26 vises den kemiske forskel på det naturlige og det syntetiske østradiol.



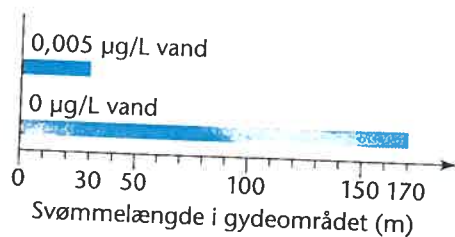
Figur 26. 17 β-østradiol er det naturlige hunlige kønshormon hos hvirveldyr, altså også hos mennesker. 17 α-ethinyløstradiol er et syntetisk p-pillehormon.

I lande med velfungerende renseanlæg er det p-pillehormonerne som er de væsentligste bidragydere til østrogen-indholdet i vandløb og søer. I Danmark er der målt koncentrationer på op til 5 nanogram ( $10^{-9}$  g) 17  $\alpha$ -ethinyløstradiol pr. liter vand i vandløb og søer. I andre europæiske lande er der målt op til 15 ng/L, og i amerikanske spildevandsbelastede floder er der målt helt op til 800 ng/L.

Er de 5 ng/L af p-pilleøstrogenet der er målt i danske vandløb og søer et problem? Det kan det være idet en koncentration på 5 ng/L  $\alpha$ -ethinyløstradiol har vist sig at påvirke hanzebrafisks parringsadfærd. Zebrafisk er en meget anvendt modelorganisme i økotoxikologiske undersøgelser.

I et forsøg viste hanzebrafisk ændret svømmelængde ved 0,005  $\mu$ g  $\alpha$ -ethinyløstradiol/liter, se figur 27. Svømmelængde er vigtig fordi hanzebrafisken lokker hunnen hen over gydeområdet ved at svømme frem og tilbage mellem hunnen og gydeområdet. De hanzebrafisk som er de mest ihærdige svømmere, vil alt andet lige have den største ynglesucces.

I samme forsøg blev zebrafiskenes kønskirtler også studeret, og de viste at ophold i vand med koncentrationer på 0,5 og 5 ng/L



Figur 27. Hanzebrafisks svømmelængde i løbet af 45 minutter ved 0 og 0,005  $\mu$ g af p-pillehormonet  $\alpha$ -ethinyløstradiol. 0,00005 og 0,0005  $\mu$ g har tilsyneladende ingen effekt. 0,005  $\mu$ g = 5 ng.

$\alpha$ -ethinyløstradiol medførte en overvægt af hunner. 5 ng/L  $\alpha$ -ethinyløstradiol bevirkede at kun 6 ud af 113 fisk kunne bestemmes til hanner mod normalt 60%. Som tidligere omtalt viste en landsdækkende undersøgelse i 2002 at der heldigvis kun findes feminiserede hanfisk i meget få danske vandløb. Derimod kan kønsforstyrrede fiskebestande ofte iagttages flere steder i udlandet.

## Hvad kan vi gøre?

Rengøringsmidler, byggematerialer, maling og konserveringsmidler er en nødvendig del af vores hverdag. Hvad kan vi gøre for at få et bedre miljø? Anvendelsen af APE-stoffer som overfladeaktive stoffer i rengørings- og vaskemidler er udfaset i EU inden for de seneste år, men APE-stofferne er ikke forsvundet helt fra de produkter der sælges i Danmark. Det er stadig inden for EU tilladt at bruge APE-stoffer i tidligere anmeldte kemiske produkter som indgår i byggematerialer som maling, lim- og lakprodukter og fugemasser.

Endvidere er der i EU vedtaget en kemikaliereform som trådte i kraft i juni 2007, den kaldes populært for *REACH*, læs om *REACH* i faktaboksen 'REACH'.

Inden for rammerne af *REACH* vil der i de kommende år blive taget en række yderligere tiltag for at udfase de hormonforstyrrende stoffer, herunder APE-stofferne og parabenerne.

Hvad kan forbrugerne gøre? Forbrugerne kan læse varedeklarerationer og derved undgå at købe de rengøringsmidler, bilpleje- og kosmetikprodukter som er mest miljøbelastende. Det kan være vanskeligt at overskue alle de kemiske betegnelser for indholdsstofferne i en varedeklARATION, fx i kosmetik. Derfor er der i de nordiske lande lavet en miljømærkeordning som sikrer forbrugerne at varer med miljømærker er

mindst belastende for miljø og sundhed. Fx kan man være sikker på at kosmetik og rengøringsmidler med miljømærket Svanen ikke indeholder APE-stoffer eller parabener. EU har en tilsvarende ordning (Blomsten).

Endvidere kan vi som forbrugere vælge at dosere rigtigt ved at følge brugsanvisningerne på varerne. Derved undgår vi et overforbrug og en unødvendig belastning af vores omgivelser.



Figur 28. Svanen – det nordiske miljømærke.

## FAKTABOKS

### REACH

Mange kemikalier kender vi ikke virkningerne af, enten fordi de er utilstrækkeligt undersøgt, eller fordi der ikke er klare regler for deres anvendelse. Derfor er der vedtaget en ny kemikaliereform i EU som trådte i kraft i juni 2007. Reformen kaldes for REACH, og det står for Registrering, Evaluering og Autorisation af Kemikalier (Chemicals).

Reformen betyder at hvis et kemikalie skal registreres, skal producenten teste kemikaliets for skadelige egenskaber,

og resultaterne skal sendes til et centralt kemikalieagentur i EU. Jo større produktionsmængde, jo flere undersøgelser kræves der, og jo hurtigere skal stofferne registreres.

Evalueringsmedfører at et kemikalieagentur i EU i samarbejde med medlemsstaternes myndigheder skal gennemgå de indsendte data og vurdere stoffernes farlighed. Endelig indebærer autorisation at de mest skadelige stoffer skal godkendes til hver enkelt anvendelse.