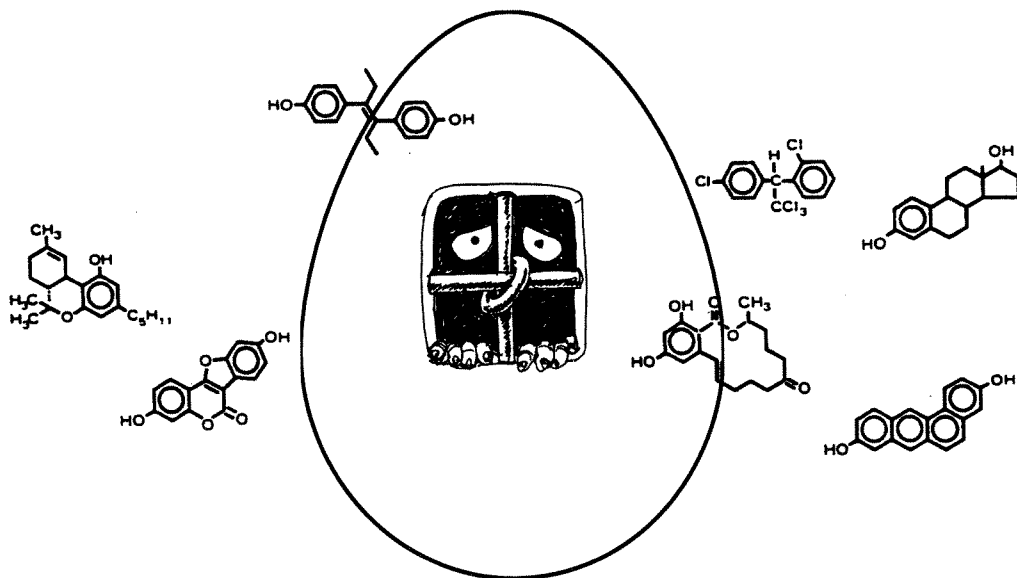


E-94456

# Hormonforstyrrende stoffer i miljøet

En oversikt over kunnskapsstatus



# NIVA - RAPPORT

Norsk institutt for vannforskning  NIVA

Prosjektnr.:	Undernr.:
E 94456	
Løpenr.:	Begr. distrib.:
3254	

<b>Hovedkontor</b>	<b>Sørlandsavdelingen</b>	<b>Østlandsavdelingen</b>	<b>Vestlandsavdelingen</b>	<b>Akvaplan-NIVA A/S</b>
Postboks 173, Kjelsås	Televeien 1	Rute 866	Thormøhlensgt 55	Søndre Tollbugate 3
0411 Oslo	4890 Grimstad	2312 Ottestad	5008 Bergen	9000 Tromsø
Telefon (47) 22 18 51 00	Telefon (47) 37 04 30 33	Telefon (47) 62 57 64 00	Telefon (47) 55 32 56 40	Telefon (47) 77 68 52 80
Telefax (47) 22 18 52 00	Telefax (47) 37 04 45 13	Telefax (47) 62 57 66 53	Telefax (47) 55 32 88 33	Telefax (47) 77 68 05 09

Rapportens tittel: Hormonforstyrrende stoffer i miljøet. En oversikt over kunnskapsstatus.	Dato:	Trykket:
	22. mai	NIVA 1995
Forfatter(e): Bjørn Braaten Torgunn Sætre	Faggruppe:	
	Miljøtoksikologi	
	Geografisk område:	
	Hele verden	
	Antall sider:	Opplag:
	41	100

Oppdragsgiver: NIVA	Oppdragsg. ref.:
------------------------	------------------

## Ekstrakt:

I de seneste år er det registrert hyppige skader på dyreliv og spesielt på reproduksjonssystemet som følge av menneskelig produserte kjemikalier som forstyrrer/ødelegger hormonsystemet. Mer enn 50 kjemikalier er beskrevet og omfatter i særlig grad persistente, fettløslige, lett flyktige og bioakkumulerbare stoffer. Skadene er særlig registrert i USA, men det er også rapportert om liknende funn i en rekke andre land. I denne forbindelse har det blitt arrangert flere konferanser for å sammenlikne de ulike resultatene og for å fastsette hva som er kjent vedrørende dette problemkomplekset. Denne rapporten gir et resymé fra ulike konferanser og fra litteratur på området. Det gis en oversikt over analysemetoder for de aktuelle stoffgruppene og hvilke deteksjonsgrenser som foreligger. Selv om de fleste av stoffene forekommer i vann, er konsentrasjonene lave. Det er størst sjanse for å påvise hormonforstyrrende kjemikalier i sediment og fettvev. Det er ikke påvist tilsvarende skader i Norge der en med sikkerhet kan si at det skyldes hormonforstyrrende stoffer, og det er vanskelig å vite om problemet i Norge er stort eller lite. Forskningsfeltet er relativt nytt, men omfatter skader på alle dyreformer inklusive mennesker. Nesten ingenting er kjent om skader på hvirvelløse dyr. Det er sterke mistanker om at mange av stoffene er årsak til visse krefttyper hos mennesker og er en av årsakene til nedsatt fertilitet hos menn. Fordi forskningen på feltet er i startfasen, er det gitt en del synspunkter på viktige forskningsstrategiske forhold. Fagområdet er så vidtomfavnende og vanskelig at det er et stort behov for internasjonalt samarbeide og koordinering av forskningen.


4 emneord, norske

1. Miljøeffekter
2. Hormonforstyrrende
3. Industrikjemikalier
4. Reproduksjonsskader

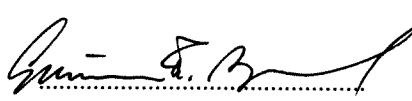
4 emneord, engelske

1. Environmental effects
2. Hormon disrupters
3. Industrial chemicals
4. Reproductive problems

Prosjektleder

  
Bjørn Braaten

For administrasjonen

  
Gunnar Fr. Aasgaard

82-577-2763-6

**NORSK INSTITUTT FOR VANNFORSKNING**

**E-94456**

**HORMONFORSTYRENDE STOFFER I MILJØET  
EN OVERSIKT OVER KUNNSKAPSSTATUS**

**OSLO APRIL 1995  
Bjørn Braaten  
Torgunn Sætre**

## Forord

*Denne rapporten er finansiert med interne forskningsmidler fra NIVA. Formålet med rapporten er å gi en oversikt over nåværende kunnskapsstatus på problemområdet - hormonforstyrrende stoffer og de konsekvenser dette har for miljøet og spesielt dyreliv. I denne rapporten er det gitt en oppsummering av problemer som rammer både fisk, fugl, krypdyr, pattedyr og mennesker, fordi effektene er like og setter problemkomplekset inn i en større sammenheng. Kunnskap om problemer i vann er lite kjent, og vi har for tiden liten oversikt over problemets størrelse i Norge. Rapporten er ment å benyttes som et grunnlag til planlegging av en norsk forskningsinnsats. Det rettes en takk til Sigrun Ringvold i Naturvernforbundet, Christian Rostock i Bellona og Professore Louis J. Guillette Jr. fra Departement of Zoology, University of Florida for hjelp til litteratur på området. Endel av informasjonen i kap. 10 og 12 kommer fra "workshop" i USA 10-13 april 1995, der en "workshop"rapport vil bli trykket senere. Fagassistent Louis Benavides har laget en intern litteraturliteatase på området, forsker Torgunn Sætre har laget en oversikt over analysemetodikken, forsker Kjetil Hylland har gått igjennom rapporten og undertegnede har sammenfattet stoffet.*

*Oslo 21 april 1995.*

*Bjørn Braaten*

# Innhold

Forord.....	2
1. Innledning .....	4
2. Consensus Statement fra Wingspreadkonferansene .....	6
3. Aktuelle hormonforstyrrende stoffer .....	11
4. Virkningen av hormonforstyrrende stoffer på dyr og mennesker.....	16
5. Effekter på vannlevende organismer .....	18
6. Effekter på krypdyr, fugl og pattedyr .....	20
7. Effekter på mennesker .....	22
8. Forekomst i vann .....	24
9. Analyse av aktuelle stoffer .....	25
10.Rapport "Workshop" i USA 10-13 april 1995.....	27
11.Mulig forekomst i norsk miljø.....	28
12.Forskningsstrategiske elementer.....	29
13.Referanser .....	31
14.Vedlegg, Tabeller .....	40

# 1. Innledning

De 10 000 kjemiske stoffene som er på markedet i Norge forekommer i 50 000 forskjellige kjemikalier som stoffer og stoffblandinger (SFT, 1994). For å forebygge helseskader er det innført krav om klassifisering og merking av helsefarlige kjemikalier. Det foregår en kontinuerlig undersøkelse og kartlegging av både gamle og nye kjemikalier for å redusere utslipp og bruk av miljøfarlige stoffer.

I løpet av de siste årene er det kommet rapporter om stoffer som har en hormonforstyrrende effekt på dyr og mennesker og som påvirker kjønnsutviklingen samt en rekke andre vitale funksjoner (Colburn og Clement, 1992). De representerer industrikjemikalier som er persistente, bioakkumulerbare, lett flyktige, fettløslige, og virker ved svært lave doser. Det er sannsynlig at man her har greidd å registrere skader på dyr og mennesker som finner sted ved lave konsentrasjoner og som vil få stor betydningen for den framtidige vurdering av hvilke stoffer som er miljøfarlige og fastsettelsen av laveste tillatte dose. Fordi denne type studier er lite kjent i Norge vises det i denne rapporten til nylig publiserte undersøkelser i USA og England, samt en vurdering av tidligere undersøkelser med tanke på forstyrrelser av hormonreguleringen og kjønnsutviklingen hos både dyr og mennesker.

Etter den annen verdenskrig har kjemisk industri utviklet seg meget raskt over hele den vestlige verden. I området rundt de store sjøer i USA ble det bygget enorme industrikomplekser som slapp ut store mengder industri- og jordbrukskjemikalier i miljøet. "The Great Lakes" rommer mer enn 20 % av verdens ferskvannsressurser og man trodde at de enorme vannmengdene hadde mer enn nok kapasitet til å ta imot avfallet. Allerede tidlig i 1950-årene kom det rapporter som viste at ikke alt sto bra til med dyrelivet i denne regionen. Selv etter at det kom forbud mot utslipp, og omsetning av mange av stoffene, finner man idag store reproduksjonsskader på topp predatorarter som omfatter fisk, fugl, pattedyr og reptiler. Enkelte bestander er helt forsvunnet.

Forandringene som ble funnet i avkommet, og som ledet til tidlig død, var resultatet av avkommets indirekte eksponering, via moren, overfor en blanding av kjemikalier som hadde blitt akkumulert i næringskjeden. Mange av de kjemikaliene som ble funnet har ikke vært vurdert som toksiske, og det har dessverre tatt mer enn 40 år før man har avdekket virkningen av disse stoffene. Hvis disse kjemikaliene er tilstede under kritiske stadier av den embryonale utviklingen, fosterutviklingen og i tidlig fase etter fødsel, kan dette forstyrre og ødelegge utviklingen og virkemåten til sentrale fysiologiske systemer som hormonbalansen, immunsystemet, nervesystemet og stoffskiftet.

Som et resultat av de hyppige rapportene om skader på dyrelivet og spesielt de ødeleggende effekter på hormonsystemet, ble det arrangert en tverrfaglig vitenskapelig konferanse i Wingspread, Racine Wisconsin 26-28 juli 1991, for å fastsette hva som var kjent vedrørende dette problemkomplekset. Det viste seg at mange av de individuelle undersøkelsene og observasjonene som ble rapportert gav likeartede og parallelle resultater selv om de var utført på ulike arter. Selve bevisførselen viste seg å være meget omfattende og overbevisende, og det var ingen tvil om konklusjonen:

**Et stort antall av de menneskelig produserte kjemikaliene som er sluppet ut i miljøet, kan forstyrre/ødelegge hormonsystemet hos dyr, inklusive mennesker.**

Hensikten med konferansen var å:

- Sammenstille og evaluere funn og resultater fra ulike vitenskapelige disipliner når det gjelder omfanget av hormonforstyrrende stoffer i miljøet.
- Bli enige om holdbare konklusjoner som kunne legges fram på grunnlag av eksisterende data.
- Bli enige om en forskningsplan for å belyse uklare resultater og funn i problemkomplekset.

I desember 1993 ble den andre Wingspreadkonferansen holdt, og det ble også her laget en "Consensus Statement". Tilsammen gir oppsummeringen fra disse to konferansene et godt bilde av situasjonen pr. desember 1993. I tillegg er det avholdt en "workshop" i København i 1994, og en "Endocrine Disruptor Research Need Workshop" i Raleigh, North Carolina, USA i april 1995. Denne rapporten oppsummerer erfaring og kunnskap fra Wingspreadkonferansene, seminaret i USA-95 og diverse rapporter og publikasjoner.

## 2. Consensus Statement fra Wingspreadkonferansene

### Concensus Statement, 1991.

Deltagerene på konferansen ble enige om følgende uttalelser:

#### 1. Konferansedeltakerne er sikre på følgende:

Et stort antall menneskeskapte kjemikalier, samt noen naturlig forekommende stoffer, kan ødelegge/forstyrre (disrupt) hormonsystemet til dyr, inklusive mennesker. Blant disse er industrikjemikalier, andre syntetiske kjemikalier og enkelte metaller samt persistente, bioakkumulerbare, organiske halogenforbindelser som omfatter endel pesticider, (fungicider, herbicider og insekticider)

Mange ville bestander er allerede påvirket av disse stoffene. Virkningene omfatter unormal funksjon til skjoldbruskkjertelen, redusert befruktning hos fugl, fisk, skalldyr og pattedyr samt nedsatt klekking hos fugl, fisk og skilpadder. Videre er det påvist normalt stoffskifte hos fugl, fisk og pattedyr, avvikende adferd hos fugl, redusert maskulinitet og feminisering av hannfisk, hanner hos fugl og pattedyr, redusert femininitet og maskulinisering hos hunnfisk og hunner av fugl og pattedyr samt et svekket immunforsvar hos fugl og pattedyr.

Mønsteret av effekter som ble funnet varierte mellom artene og mellom de kjemiske forbindelsene. Fire generelle trekk kan identifiseres:

- De kjemikalier som er i søkelyset har helt ulik virkning på embryo, foster og på nyfødte i forhold til den virkning de har på voksne individer.
- Effektene blir oftest registrert i avkommet, ikke i det voksne stadiet som påvirkes.
- Den tidsperiode som embryoet/fosteret etc utsettes for eksponering er helt avgjørende for graden av påvirkning og den framtidige skjebne.
- Selv om kritisk eksponering skjer under den embryonale utviklingen, er det ikke sikkert at skadene kommer til syne før organismen når voksen alder.

Laboratorieundersøkelser bekrefter den unormale kjønnsutviklingen som er funnet i feltundersøkelser og disse funn gir grunnlag til å forklare de biologiske mekanismer som er funnet hos ville bestander.

Mennesker er også påvirket av de samme stoffene. Virkningen til DES (diethylstilbestrol), et syntetisk behandlingsmedikament, lik mange av de forbindelser som er nevnt tidligere, har østrogen effekt. Døtre av mødre, som tok DES, lider idag av ulike underlivsproblemer og kreft, unormale svangerskap og enkelte endringer i immunforsvaret. Både sønner og døtre som er blitt utsatt for *in utero* (i livmoren) eksponering har fått unormalt utviklede reproduksjonsorganer og nedsatt fertilitet. De virkninger som er registrert hos DES-påvirkede mennesker er lik de som er funnet hos ville bestander og laboratoriedyr. Dette tyder på at mennesket er utsatt for de samme miljøforstyrrelser som ville bestander.



## 2. Konferansedeltakerne anslår med sikkerhet at:

Noen av de utviklingsforstyrrelsene som er rapportert hos mennesker idag kan sees hos voksent avkom fra foreldre som er utsatt for hormonforstyrrende stoffer (agonister, antagonist) i miljøet. Konsentrasjonen av en rekke syntetiske kjønnshormonagonister og antagonist, som er målt i USAs befolkning idag, er godt innenfor det området av konsentrasjoner som er funnet i dyreliv. Det er et faktum at eksperimentelle resultater ligger i den nedre enden av de eksisterende miljømessige konsentrasjoner.

Dersom ikke den miljømessige mengden av syntetiske hormonforstyrrende stoffer avtar og kommer under kontroll, er det mulig at storskala avvik kan oppstå i befolkningen. Omfanget av mulige trusler mot dyreliv og mennesker er stort på grunn av sannsynligheten for gjentatte og/eller konstante eksponeringer til tallrike syntetiske hormonforstyrrende kjemikalier.

Mens oppmerksomheten rettes mot dette problemet vil flere paralleller fra dyreliv, laboratorieforsøk og hos mennesker bli avdekket.

## 3. Ifølge konferansedeltagerne peker eksisterende modeller på at:

Virkemåten til kjemikaliene varierer, men de har en eller flere av de følgende egenskapene:

1. De etterligner virkningen til naturlige hormonene ved å binde til hormonreseptorer
2. De motvirker effekten til disse hormonene ved å blokkere deres interaksjoner med de fysiologiske bindingsstedene
3. De reagerer direkte eller indirekte med de aktuelle hormonene
- 4 De forandrer den naturlige rekkefølgen i syntese av hormoner, eller
- 5 De forandrer hormonreseptor nivået.

Både eksogene (ytre kilder) og endogene (indre kilder) androgener (mannlige kjønnshormoner) og østrogene (kvinnelige kjønnshormoner) kan forandre utviklingen av hjernens funksjon.

Et hvert avvik i det endokrine system, hos en organisme i utvikling kan forandre utviklingen til organismen; Disse endringene er utpreget irreversible. F.eks er mange kjønnsrelaterte egenskaper bestemt hormonelt i en kort periode (vindu) i en tidlig fase av utviklingen og kan påvirkes av små forandringer i hormonbalansen. Funn antyder at når kjønnsbestemte egenskaper er preget, er de sannsynligvis irreversible.

Virkninger på kjønnsutviklingen hos ville bestander bør gi grunn til bekymring hos mennesker når begge er avhengig av den samme ressurs, nemlig forurenset fisk. Fisk er den viktigste matkilde for fugl og hovedkilde for påvirkning. Modellen for hvordan fugl påvirkes av organiske klorforbindelser er til dags dato den best beskrevne. Den gir også grunnlag for en vurdering av hvordan annet dyreliv og mennesker påvirkes på grunn av likhetene i det endokrine system hos fugl og pattedyr.

#### 4. Konferansedeltakerne påpeker at det er mange usikkerheter i deres antagelser fordi:

Rekkevidden og omfanget av eksponeringen på mennesker er lite kjent. Det er begrenset informasjon om fordelingen av disse forurensningene hos mennesker og spesielt om data som omfatter kontaminering av embryo. Dette har forbindelse med at det mangler biologisk målbare endepunkter (biologisk anviser for eksponering og effekt), og mangel på fler-generasjonsstudier som er eksponert til omgivende konsentrasjoner.

Det finnes tilstrekkelige data som viser manglende reproduksjon i ville bestander, mens data for endringer i adferd mangler til en viss grad. Bevisene er imidlertid så overbevisende at det er nødvendig å be om øyeblikklige tiltak for å fylle igjen kunnskapshull.

Styrken til mange av de syntetiske østrogenene i forhold til naturlige østrogener har ikke blitt etablert. Kunnskap om dette er viktig fordi konsentrasjonene til mange av stoffene, som er funnet i blod, er høyere enn de indre og naturlige østrogenene.

#### 5. Konferansedeltakernes evaluering er:

Testing av produkter for vanlig bruk bør utvides til å gjelde hormonell aktivitet *in vivo* (i levende live). Det er ikke noe substitutt for bruk av dyr i forsøk til dette.

Det er tilgjengelige tester for androgeneffekt og østrogeneffekt for de stoffer som har direkte hormoneffekt. Det bør etableres "screeningtester" av alle nye produkter og biprodukter for hormoneffekt. Dersom testen er positiv bør det utføres videre tester på teratogene effekter (effekt på fosterutvikling) og bruk av fler-generasjonstester bør bli krevet. Dette bør omfatte alle persistente, bioakkumulerbare produkter og øvrige produkter som allerede er i bruk.

Det er helt påkrevet å vurdere reproduksjonsskader og funksjonell teratogenitet i første rekke, når man skal evaluere helserisiko. Kreftpåvirkning alene er utilstrekkelig fordi kjemikalier kan forårsake store skader selv om de ikke er kreftfremkallende.

En mer omfattende studie av de ulike stoffer er nødvendig ettersom de brukes i stor grad i det daglige liv og til slutt ender opp i miljøet. Denne informasjonen må gjøres mer tilgjengelig. Slik informasjon gjør det mulig å redusere eksponeringen ved styring og manipulering av næringskjeder. I stedet for å styre/regulere innholdet av forurensende stoffer i vann, luft og jord burde myndighetene se på økosystemet som en helhet.

Ved å forby produksjon og bruk av peristente kjemikalier har man ikke løst eksponeringsproblemet. Det er nødvendig å finne nye virkemidler for å redusere eksponeringen av syntetiske materialer, som allerede er tilstede i naturmiljøet, og hindre at nye produkter med liknende egenskaper slippes ut.

Virkingen på dyreliv og laboratoriedyr, som er et resultat av eksponering av slike kjemikalier, er av en slik omfattende og lumsk beskaffenhet at det er nødvendig å gjennomføre grundige studier på mennesker.

Både vitenskapelige miljøer og og helsemyndigheter mangler kunnskap og innsikt om nærværet av hormonelt aktive miljøkjemikalier, faren for teratogene effekter og overføring av skader videre til avkommet. **Dette må gjøres kjent.** Fordi funksjonelle skader og mangler ikke kan observeres ved fødsel, og kanskje ikke kommer tilsyne før man når voksenalder, vil symptomene ikke bli sett ut. leger, foreldre og myndigheter. Kjemikaliet, som er den egentlige årsaken, vil dermed forbli ukjent.

## 6. For å forbedre vår evne til forutsi hva som kan skje hevder konferansedeltakerne at følgende må gjøres:

Det settes igang en mer omfattende grunnleggende forskning på utviklingsbiologi av de organer som er mottagelig for hormoner. Som eksempel kan nevnes studier av den mengde av særskilte hormoner som er nødvendig for å sette igang en normal respons; spesifikke biologiske markører som kan gi signal om en normal utvikling av en art, et organ eller et utviklingsstadium. Hvis man hadde slik informasjon kunne det lettere fastsettes om det kunne forventes patologiske forandringer.

Det er nødvendig med et integrert samarbeid mellom de som arbeider i felt og de som arbeider i laboratorium for å kunne lage ekstrapoleringsmodeller som kan benyttes for å evaluere risiko på mennesker.

Det er behov for å identifisere nøkkelarter på alle trofiske nivå i et økosystem som kan brukes til identifikasjon av mulige mangler/skader. Samtidig er det også nødvendig å beskrive hvordan et stoff fordeler seg og beveger seg gjennom et økosystem.

Som et resultat av eksponering til de hormonødeleggende stoffene er det nødvendig å finne biologiske markører som kan fortelle om en eksponering på molekylært, cellulært organisme og populasjonsnivå. Molekylære og cellulære markører er viktige for å kunne registrere en avvikende utvikling. Normale nivå og mønster til isoenzymer og hormoner bør etableres.

Hos pattedyr er det nødvendig å ha beregninger av opptak som er fastlagt på grunnlag av kroppens forbrenning av et kjemikalium i et egg (ovum) som kan ekstrapoleres til en dose av kjemikaliet til embryo, foster, nyfødt og voksen. Det er nødvendig å gjennomføre risikoforsøk i laboratoriet som repeterer observasjoner i felt. På samme måte må det fastsettes en dose eller gradient for en påvirkning som bestemmes i lab. og som sammenholdes med eksponeringsnivåer som er funnet i naturlige bestander.

Det er nødvendig med flere beskrivende feltstudier for å forklare den årlige påvirkning i områder som er utsatt for en kjent forurensning på vandrende arter som synes å danne stabile bestander selv om de har et avkom som er utsatt.

Man bør gå igjennom tidligere studier og materiale som omfatter bruks av DES (diethylstilbestrol) og sammenholde dette med utslipp av syntetiske kjemikalier.

Virkningene av hormonforstyrrende stoffer på mennesker (med lang levetid) er ikke lett å observere til sammenlikning med kortlivete laboratoriedyr. Det er viktig å finne metoder for tidlig påvisning av skader hos mennesker samt å kunne påvise redusert reproduksjonsevne. Det er kommet metoder som omfatter bruk av lever-enzymssystemer, spermietellinger, analyse av unormal utvikling og histopatologiske skader. Disse bør utvides og følges opp av bedre metoder som omfatter biomarkører for sosial og adferdsmessig utvikling, bruk av fler-generasjonsstudier, studier av avkom og beslektede spesifikke kjemiske analyser av reproduksjonsvev og produkter inklusive brystmelk.

I desember 1993 ble det arrangert en ny konferanse i Wingspread; "Environmentally induced alterations in development: A focus on wildlife". Det eneste som foreligger skriftlig er et "Consensus Statement" fra arbeidsseminaret. En bok fra seminaret er under trykking.

Dette bekrefter og forsterker det tidligere "Consensus Statement" og går en del videre. Det beskriver bl.a. skader og effekter på 23 arter som omfatter:

Alligator, bald eagle, beluga whales, boreal toads, bottle-nosed dolphins, Caspian terns, common terns, Florida panthers, Forsters terns, great blue herons, herring gulls, leopard frogs, oldsquaw ducks, polar bears, roseate terns, scoters, sea turtles, spectacled eiders, water fleas, white croakers and wood ducks.

### 3. Aktuelle hormonforstyrrende stoffer

Det har i lang tid vært kjent at persistente organiske insekticider har en ødeleggende virkning på dyrelivet (Carson, 1962), og Rachel Carsons berømte bok om "Den tause våren" ga en økende bevissthet om problemet med ukritisk bruk av kjemikalier som vi ikke har kunnskap om. Etterhvert er det kommet rapporter om reproduksjonsskader som er forårsaket av hyppig forekommende fettløselige kjemikalier som DDT, PCB og dioksin. Først i de senere år har en fått en klarere forståelse av årsakssammenhengene (jfr. kap. 4). Fellesbetegnelsen synes å knytte seg til egenskaper som persistente (tungt nedbrytbare), lipofile (fettløslige) og som akkumulering i organismer (Colborn et al. 1993). Dette omfatter tusenvis av syntetiske forbindelser, og bare et mindre antall av disse har vært gjenstand for en grundig undersøkelse med tanke på hormoneffekter. Colborn et al. (1993) satte sammen en liste av stoffer med stor utbredelse i miljøet som er rapportert å ha skadelige effekter på reproduksjon og hormonbalanse hos dyr og mennesker

Tabell 1. Kjemikalier med vid utbredelse i miljøet og som er rapportert å ha skadelige virkninger på reproduksjon og hormonregulering (Colborn et al. 1993).

Kjemikalier	Referanser
<i>Pesticider</i>	
<i>Herbicider</i>	
2,4-D	Berwick, 1970 Hayes og Laws, 1991
2,4,5-T	Amdur et al. 1991
Alachlor	Hayes og Laws, 1991 US EPA, 1984
Amitrole	Tjälve, 1974 Jukes og Shaffer, 1960
Antrazine	Simic et al. 1991 Babic-Gojmerac et al. 1989 Kniewald et al. 1987
Metribuzin	Porter et al. 1993
Nitrofen	Gray, 1992
Trifluralin	U.S. EPA. 1987 Couch, 1984
<i>Fungicider</i>	
Benomyl	Hess et al. 1991
Hexachlorobenzene	Gocmen et al. 1989 Smith et al. 1987 Haake et al. 1987 Arnold et al. 1985
Mancozeb	U.S. EPA 1987

Tabell 1 forts.

Tabell 1. Kjemikalier med vid utbredelse i miljøet og som er rapportert å ha skadelige virkninger på reproduksjon og hormonregulering (Colborn et al. 1993). Forts.

<b>Kjemikalier</b>	<b>Referanser</b>
Maneb	U.S. EPA 1988 Laisi et al. 1985
Metiram-complex	U.S. EPA 1988
Tributyl tin	Huggett et al. 1992 Bryan et al. 1987
Zineb	Laisi et al. 1985
Ziram	Hayes og Laws, 1991
<i>Insekticider</i>	
-HCH	Van Velsen et al. 1986
Carbaryl	Amdur et al. 1991
Chlordane	Cranmer et al. 1984
Dicofol	Fry og Toone, 1981
Dieldrin	Haake et al. 1987
DDT og metabolitter	Fry og Toone, 1981
Endosulfan	ATSDR, 1990 Soto, A upublisert
Heptachlor og H-epoxide	Haake et al. 1987
Lindane (-HCH)	Chowdhury et al. 1987
Methomyl	Porter et al. 1993
Methoxychlor	Gray et al. 1989 Cummings og Gray, 1987
Mirex	A. Soto upublisert
Oxychlordane	Cranmer et al. 1984
Parathion	Rattner og Ottinger, 1992
Syntetiske pyrethroider	Eil og Nisula, 1990
Toxaphene	A. Soto upublisert
Transnonachlor	Cranmer et al. 1984
<i>Nematocider</i>	
Aldicarb	Porter et al. 1993
DBCP	Gray, 1992

Tabell 1 forts.

Tabell 1. Kjemikalier med vid utbredelse i miljøet og som er rapportert å ha skadelige virkninger på reproduksjon og hormonregulering (Colborn et al. 1993). Forts.

Kjemikalier	Referanser
<i>Industrikjemikalier</i>	
Kadmium	ATSDR, 1991a
Dioxin (2,3,7,8-TCDD)	Mably et al. 1992 Mably, Moore og Peterson, 1992 Mably, Moore, Goy og Peterson, 1992
Bly	ATSDR, 1991b Cullen, et al. 1984
Kvikksølv	ATSDR, 1988
PBBs	Allen-Rowlands et al. 1981
PCBs	Bush, Bennet og Snow, 1986 Sager et al. 1987 Dieringer et al. 1979
Pentachlorphenol (PCP)	Chowdhury, Colemn, DeRosa og Stara, 1986
Penta- til nonylphenol	Soto et al. 1992
Phthalater	Treinen et al. 1990 Wams, 1987 Lloyd og Foster, 1988 Gray og cangolli, 1986 Thysen et al. 1990 Laskey og Berman, 1993
Styrener	Soto et al. 1992 Arfini et al. 1987 Mutti et al. 1984

Clement and Colborn (1992) har gått igjennom aktuelle herbicider og fungicider og sett på hvordan mennesker kan eksponeres til disse kjemikaliene. De refererte at US Geologic Survey har rapportert om funn av herbicider i regnvann i 23 delstater og dette bekrefter at store mengder av slike stoffer fordampes og transporteres videre med nedbør. De viser også til at syremetabolitter fra dachtal er den mest vanlige registrerte pesticid i nasjonens grunnvann, og at dachtal akkumuleres i vev hos fisk.

I perioden 1948-1971 ble det syntetiske hormonet diethylstilbestrol (DES) brukt i en rekke land på gravide kvinner for å hindre for tidlig fødsel. Senere er det påvist fosterskader på både sønner og døtre av kvinner som ble behandlet, og tilsvarende skader er funnet på nyfødte mus i forsøk (Bern, 1992). Mennesker som er påvirket av DES fungerer som en modell for eksponering av kjemikalier med østrogeneffekt.

I tillegg til DES og listen i tabell 1 finnes det en rekke naturlige stoffer med østrogeneffekt som omfatter **phytoøstrogener** og visse **mycoøstrogener**. Av de mer kjente er "resorcyclic lactones", som produseres av soppen *Fusarium* og er en vanlig forurensning på korn som lagres feil (Whitten, 1992). Korn med soppkader er kjent for å gi reproduksjonsforstyrrelser hos mennesker. I en rekke grønnsaker finnes det stoffer som kan påvirke hormonbalansen og den seksuelle utviklingen hos mennesker (Whitten, 1992). De fleste av de syntetiske stoffene, som har hormonforstyrrende effekter,

er helt forskjellig i struktur fra de naturlige østrogenene, så det er ikke mulig i dag å avgjøre ut i fra kjemisk struktur om et stoff har østrogen virkning eller ikke (White et al. 1994). Derfor vil det ofte være tilfeldigheter som avgjør om det oppdages om et stoff har en hormonforstyrrende effekt eller ikke. Det blir helt nødvendig å utarbeide "screeningstester" for å vurdere slike forhold hos kjemikalier.

SFT prioriterer 32 stoffer ut fra nasjonale og/eller internasjonale målsetninger, og stoffene er rangert i fire grupper etter deres betydning som miljøgift. Fem indikatorer er benyttet for denne rangeringen. Indikatorene er a) utslipp/tilførsler i Norge, b) forekomst i miljøet, c) miljøskadelig forekomst, d) registrert skadeomfang, e) kunnskapsmangel. Ved en samlet rangering deles stoffene i fire klasser: I) stoffer som representerer et betydelig miljøproblem II) stoffer som representerer et problem, III) stoffer som representerer et mindre miljøproblem, og IV) stoffer/stoffgrupper som det mangler vesentlig kunnskap om. Tabell 2 viser en oversikt over stoffer fra alle fire grupper som er registrert med reproduksjonsforstyrrelser eller nedsatt reproduksjonsevne. Det er ikke vurdert om dette skyldes effekter på hormonsystemet.

Tabell 2. Stoffer som er rapportert å gi forstyrrelser/skader på reproduksjon. Alle stoffer som er markert med \* er registrert på oversikten til Colburn et al. 1993. Informasjonen er hentet fra SFT-rapport nr. 93:23 : Datarapport for miljøgifter i Norge, (Beck og Jaques, 1993).

Stoff	Gruppe	Art	Subakutt-kronisk effekt
Kadmium *	I	Daphnia	reprod.forstyrrelser
		Pimephales promelas	" "
		Salmo gairdneri	" "
Kobber	I	Daphnia	redusert reprod evne
		Acartia calusi	reproduksjons.forstyrr.
		Mytilus edulis	forstyr. i tidl. utvikl.stad.
		Salvelinus fontinalis	embryo/larver
Kvikksølv *	I	Daphnia	forstyrr i reprod. 3 uker
		Salmo gairdneri	(sperm) red overlevelse
Dioksiner *	I	Rhesusape	reproduksjonstoksisk
		"	embryo-toksisk
Fluor	I	Daphnia	forstyrr. i reproduksjon
		Salmo trutta	forsinket klekking
PAH	I	Mus	sterilitet hos avkom
		"	vektminsking gonader
PCB (Aroclor 1254) *	I	Cyprinodon	reproduksjonsforstyrrelser
		Brachydanio	"
" (Clopho A60)			
"	I	Mink, rotte,sel sjøløve	reproduksjonsforstyrrelser
Tinnorganiske	I	Biomphalaria (snegl)	hemmet oviposition
forbind *			
"		Nucella	imposex, sterilitet
Nikkel	II	Daphnia	reproduksjonsforstyrrelser
		Pimephales promelas	"

Tabell 2 forts.



Tabell 2. Stoffer som er rapportert å gi forstyrrelser/skader på reproduksjon. Alle stoffer som er markert med \* er registrert på oversikten til Colburn et al. 1993. Informasjonen er hentet fra SFT-rapport nr. 93:23 : Datarapport for miljøgifter i Norge, (Beck og Jaques 1993), Forts.

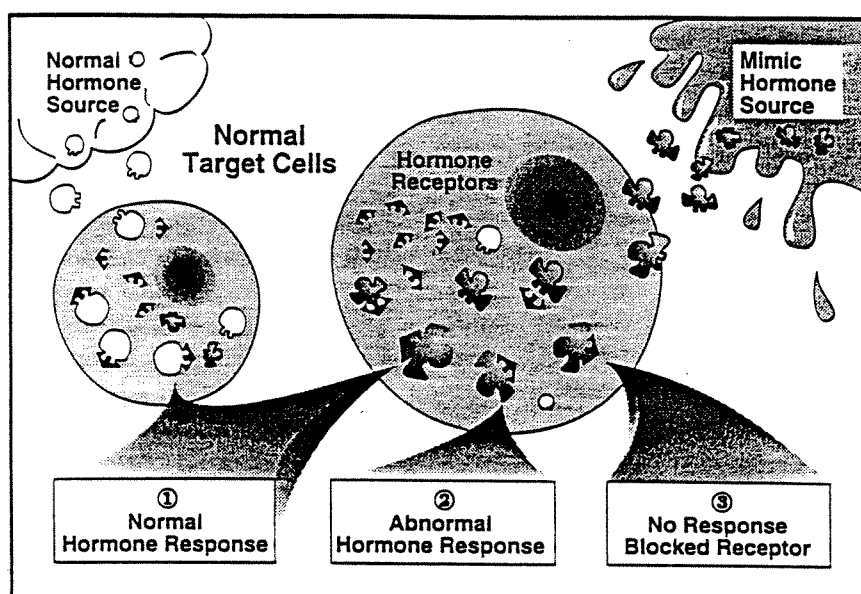
Stoff	Gruppe	Art	Subakutt-kronisk effekt
DDT *	II	Fugl Fugl	eggeskallfortynning svakere reproduksjon
Heksaklorbenzen *	II	Daphnia Vaktel Gnagere	fertilitet minsket eggproduksjon embryotoksistet
Klorerte alkylbenzener	II	Brachydanio rerio	klekking
Lindan *	II	Rotte	nedsatt fertilitet, forsinket fosterutvikling, fosterdød
Tetrakloreten	II	Daphnia Pimephales	reproduksjon embryo/larve
Tetraklormetan	II	Daphnia	reproduksjonsforstyrrelser
Arsen	III	Pontopereia Capitella	reproduksjonsforstyrrelser eggproduksjon
Krom	III	Neanthanes arenaceodontata Daphnia Salmo salar	reproduksjonsforstyrrelser " klekking, forstyrrelse
Pentaklorfenol *	III	Brachydanio Rotte	reproduksjonsforstyrrelser sterkt embryotoksisk
Triklorbenzen	III	Daphnia Rhesusape	reproduksjon hemmet embryonalvekst
Bromerte flammeretardenter (PBB) (PBDO) *	IV	Aper	reproduksjonsforstyrrelser
Klorerte parafiner	IV	Platichrys flesus	reproduksjonsforstyrrelser
Nonylfenoletoxilater *	IV	Blåskjell Krepsdyr Fisk	nedsatt befruktning redusert klekking redusert eggutvikling, red. reproduksjon

## 4. Virkningen av hormonforstyrrende stoffer på dyr og mennesker

De grunnleggende mekanismer som finner sted i utviklingsprosessen hos alle pattedyr er lik selv om tidspunktet for de ulike prosessene varierer. Dette betyr at kjemikalier som har en skadelig virkning på reproduksjonssystemet hos f.eks rotter kan antas å ha mulig skadelig virkning på mennesker. Effekter på rotter, som er et hyppig undersøkt laboratoriedyr, brukes derfor som modell for å kunne forutsi potensielle skader på mennesker, domestiserte husdyr og ville dyrebestander (Gray, 1992).

Steroidhormonene er fettoppløselige og trenger gjennom mottakercellenes overflatehinne, som vesentlig består av fettstoffer. Inne i cellen forbinder steroidhormonet seg med et mottakermolekyl (reseptormolekyl) og danner et kompleks som trenger videre inn i cellekjernen. Her finnes det genetiske materialet som inneholder "oppskriften" på de enzymer som er i cellen. Hormonkomplekset påvirker det genetiske materialet slik at dannelsen av enzymer økes eller minskes etter kroppens behov.

Reseptorer er molekyler med spesifikke egenskaper og høy affinitet for å binde seg til effektormolekyler (ligander). Denne bindingen resulterer i en funksjonell endring (McLachlan et al. 1992). En gruppe med reseptormolekyler, som reagerer med spesifikke deler av genomet, kalles for hormon-reseptorer. Disse molekylene består av en supergen familie som kjenner igjen viktige biologiske molekyler som kjønns hormoner (Parker, 1991). Hormonreseptor-komplekset binder seg til spesielle reguleringsområder hos DNA i cellekjernen, der selve reguleringen av informasjonsoverføringen skjer, og som fører til funksjonelle forandringer i celler, vev og organer (McLachlan et al. 1992). Derfor vil reseptorbindingen og virkningen som følge av det være en nøkkel til forståelse av hvordan signalene fra det ytre miljø skal tolkes. En forenklet skisse (figur 1) fra Guillette (1994) viser hvordan hormoner og kjemikalier bindes til en hormon reseptor og kan gi tre ulike reponser.



Figur 1. Det er blitt vist at miljøkjemikalier kan etterlikne/herme naturlig forekommende hormoner. Hormonene stimulerer eller hindrer ulike funksjoner i cellene ved å binde seg til et reseptormolekyl. Hormon-reseptor-komplekset reagerer deretter enten med celle-DNA eller med et sekundært budbringer system for å sette igang spesifikke prosesser (f.eks proteinsyntese). Kjemikaliene som etterlikner hormonene kan dublisere den normale hormonprosessen (1), men de kan også reagere med reseptoren på en slik måte at den stimulerer en avvikende variant (2) eller blokkerer reseptoren slik at det ikke blir noen reaksjon (3) (Guillette, 1994).

Noen av de giftige stoffene som påvirker dyrets utvikling binder seg til og aktiverer steroide hormonreseptorer og virker som hormonagonister (hormonstimulerende), mens andre har en antagonistisk virkning (hemmende) hormon effekt ved å binde seg til og hindre reseptorene. Andre kjemikalier igjen virker ved å forandre hormonnivået ved å hindre den steroide hormonsyntesen eller stimulerer nedbrytningen av steroide hormoner.

Fordi hormonaktivitet er avhengig av mRNA (budbringer RNA) og proteinsyntese, kan akutt eksponering til kjemikalier, som hindrer oversettelse eller gjengivelse av utviklingsprosessen i kritiske perioder (faser), skape permanente forandringer i den kjønnsmessige differensieringen.

I det sentrale nervesystemet (CNS) synes kjønnsbestemmelse å være avhengig av hormonelt induerte forandringer i aktiviteten til nervecellenes signalstoffer fordi signalstoffene kan virke på utviklingen av CNS hos fosteret. Herav følger at fremmedstoffer med adrenalin- serotonin virkning kan forandre på kjønnsdifferensieringen.

Reproduksjonsforstyrrelser ved påvirkning av kjemikalier på ulike arter er vist i tabell 1. Referansene det vises til er fra Guillette (1994). Tabell 2 viser til unormale effekter i reproduksjonsorganene hos mennesker, laboratoriedyr og ville dyrearter etter påvirkning fra industrikjemikalier, der data er tatt fra ulike referanser (Guillette, 1994). Tabellene er lagt inn som vedlegg.

## 5. Effekter på vannlevende organismer

Fremmedstoffer påvirker den tidlige utviklingsfasen til reproduksjonssyklusen hos de fleste representanter av det marine økosystem fra zooplankton til sel. For enkelte stoffer er utviklingen fulgt i detalj, men i de fleste tilfelle er ikke virkemåten studert. Dette er dels på grunn av det kompliserte hormonsystemet men også fordi så mange ulike stoffer er innblandet i prosessene (Reijnders og Brasseur, 1992). I en oversiktsartikkel gir Reijnders og Brasseur (1992) en kort beskrivelse av forhold som er funnet mellom en rekke fremmedstoffer (tungmetaller, klorerte hydrokarboner og polyaromatiske hydrokarboner) og hormonsystemet, samt tidlige faser av kjønnsutviklingen til ulike marine organismer.

Kjemiske forbindelser som kadmium har vist seg å hindre normal gonadeutvikling hos sjøstjernen *Asterias rubens* (Voogt et al. 1987). Johnson et al. (1988) har beskrevet gjenoppblussing av tilbakedannelse av gonade og redusert nivå av plasmaøstrogen hos engelsk tungeflyndre (*Parophrys vetulus*) på sterkt forurensede lokaliteter (PCB og aromatiske hydrokarboner AH). Hos torsk (*Gadus morhua*) ble gonadeutviklingen forstyrret og det ble funnet forhøyde hormonverdier (Freeman et al. 1982) ved påvirkning av PCB. Hos hunnfisk av Atlantisk croaker (*Micropogonias undulatus*), som ble undersøkt av Thomas (1988), ble kjønnsormonfunksjonen forstyrret etter påvirkning av bly, benzo(a)pyrene og en PCB blanding (Aroclor 1254). I en senere undersøkelse ble effekten av kadmium og Aroclor 1254 studert i detalj (Thomas, 1990) og forsøkene viste at Aroclor 1254 gav redusert nivå av plasmahormoner, redusert tilvekst av ovarier og lavere vitellogeninnhold. For kadmium var effektene helt motsatt, økt vekst av ovariene, økte plasmaøstrogenkonsentrasjoner og andre hormoner (GTH). Disse forsøkene viser med all tydelighet at ulike typer forurensning kan gi helt motsatte effekter og at de påvirker reproduksjonshormonene i stor grad.

I den vestlige delen av Wadden Sea (Nederland) sank bestanden av steinkobbe (*Phoca vitulina*) helt sammen i løpet av noen tiår, fra 3000 dyr i 1950 til under 500 i 1975. Ved å sammenlikne bestandene i den vestlige og nordlige delen av Wadden Sea, var det bare innholdet av PCB som var forskjellig. På grunnlag av epidemiologiske og eksperimentelle undersøkelser ble det vist at nedgangen i den vestlige selbestanden skyldes inntak av fisk som var forurensset av PCB. Reproduksjonen og spesielt implanteringen av egg hos hunnene var særlig sensitive stadier og ble hindret ved inntak av 25 µg PCB i fisk per dag (Reijnders, 1986).

Freeman og Sangalang (1977) studerte virkningen av metylkvikksølv, kadmium, arsen, selen og en PCB blanding (Aroclor 1254) på gråsel (*Halichoerus grypus*), og i en senere studie med metylkvikksølv på harpesel (*Phoca groenlandica*). Alle kjemikaliene bortsett fra arsen og selen stimulerte biosyntesen av testosteron, men gav forstyrrelser for andre hormoner. Hos delfiner (*Phocoenoides dalli*) sank testosteronnivået ved påvirkning av PCB og DDE (Subramanian et al. 1987).

Bergman og Olsson (1985) mente at PCB og andre organoklor-forbindelser interfererer med hormonsystemet i hunsel hos artene *Phoca hispida* og *Halichoreus grypus*.

I mange tilfeller er det imidlertid vanskelig å forklare årsaken til hvordan skader oppstår og Reijnders og Brasseur (1992) trekker inn organismenes sentrale avgiftingsmekanisme hos mikrosomer i levercellene, det såkalte cytokrom P-450 systemet. Mer enn 150 individuelle former av P-450 er beskrevet, som er i stand til å omforme og bryte ned organiske fremmedstoffer til metabolitter som lettere skilles ut. Cytokrom P-450 systemet i fisk er grundig beskrevet (Goksøyr og Førllin 1992) og er idag et nyttig verktøy til overvåking av forurensninger på molekylært nivå. Det er sannsynlig at mange av de mekanismer som er beskrevet for hormonregulerende effekter også påvirker cytochrom P-450 systemet. En dypere forståelse krever god kunnskap og innsikt i hvordan dette virker i ulike arter og organer (Reijnders og Brasseur, 1992).

En godt gjennomprøvet metode for å påvise hormoneffekt hos fisk er å måle vitellogenininnholdet i serum eller plasma. Vitellogenin er et protein som er forløper til eggeplomme (i alle eggleggende dyr) og som produseres i leveren hos hunner under kontroll av østrogen, som skilles ut fra ovariet (Purdom et al. 1994). Fra leveren transporteres det til ovariene og tas opp av de ocyttene (eggene) som utvikles (Pereira et al. 1992). Fordi leveren er et organ som tar opp fremmedstoffer og avgifter disse (cytokrom P-450 systemet) vil produksjonen av vitellogenin være en følsom prosess som lett påvirkes av fremmedstoffer.

Purdom et al. (1994) hadde fått informasjon om at det var funnet hermafroditter av fisk i laguner nedenfor renseanlegg. De satte derfor ut bur med regnbueørret i lagunene som mottok avløpsvann fra renseanlegget. Etter to til tre ukers eksponering tok de opp fisken og målte vitellogenininnholdet. En økning ville bety at leveren hadde fått tilført ekstra mengder med østrogen eller stoffer som simulerte østrogenvirkningen. De fant en 1000 gangers økning i vitellogenininnholdet hos ørreten. Deretter ble det satt i gang en landsomfattende undersøkelse i avløpet fra 15 renseanlegg og på alle steder fant de en økning fra 500 til 100 000 ganger. De fant ikke ut hvilken komponent i vannet som gav denne effekten, men de antok at det var ethynylestradiol fra befruktningshindrende piller eller alkylphenol-ethoxylater fra nedbrytning av noniontensider. I en senere undersøkelse (White et al. 1994) undersøkte de en rekke alkylphenol-etoksilater i et laboratorietestsystem på celler fra fugl og pattedyr og leverceller fra regnbueørret. De fant at en rekke av stoffene hadde østrogeneffekt, og 4-Otylfenol var det mest aktive stoffet. Det ga en biologisk respons, som var lik det naturlige østroget 17-oestradiol, men ca. 1000 ganger svakere. Hvilken betydning dette har for vannlevende organismer er vanskelig å svare på fordi man har for få opplysninger om mengder og konsentrasjoner i naturen. De skadelige effektene vil først opptre når organismene er under embryonalutvikling eller på fosterstadiet.

Hos hunner av "Atlantic croaker", som ble undersøkt av Thomas (1988, 1990), endret kadmium og PCB østrogennivået i plasma. Plasmaøstrogen regulerer produksjonen av vitellogenin, og i regnbueørret er det påvist at PCB og Mirex reduserte vitellogeninnivået i serum (Chen, et al.(1986).

Feltundersøkelser viste at børstemarken *Nereis virens* ikke greide å danne gameter i nærvær av høye konsentrasjoner av aromatiske hydrokarboner (Fries og Lee, 1984). Hos hanner av blåskjell manglet hanndyrene spermier og hunnene hadde unormale eggmasser ved påvirkning av tungmetaller og svovelsyre i miljøet.

I et modelløkosystem ble tre kjemikalier (bl.a. PCB blandinger) testet på en bestand av copepoder (Kuiper, 1982), og i alle tilfellene ble eggproduksjonen redusert i forhold til kontrollen.

Forekomsten av imposex hos snegl er et verdensomfattende problem (Ellis og Pattisina, 1990). Imposex er i hovedsak forårsaket av tributyltin (TBT)forbindelser som lekker ut i fra bergoingshindrende maling på store skip, småbåter og impregnering av nøter til fiskeoppdrett (Bryan et al. 1988). Imposex eller pseudohermafroditisme er forekomst av hannlige kjønnsorganer hos hunner. Syndromet medfører at hunnene blir sterile. Det blir vurdert å være et globalt miljøproblem og både østers og andre muslinger blir påvirket av TBT (Stephenson et al. 1986). Mekanismene for dette fenomenet er ikke beskrevet.

Reijnders og Brasseur (1992) konkluderer med at PCB er et av de viktigste forurensningsstoffene, som man må være særlig på vakt ovenfor. De har beregnet at siden 1930 er det i global skala produsert ca. 1.5 million tonn. Ca. 20 - 30 % har funnet vei inn i miljøet, og mer enn 70 % er fremdeles i bruk/omløp. De har også beregnet at +- 1 % av den totale mengde PCB har nådd havet. Fordi også zooplankton påvirkes av PCB, kan økte PCB konsentrasjoner redusere zooplanktonbestander og derved beiting av planteplankton. Dette kan igjen føre til uønskede algeoppblomstringer. Samtidig skal en være klar over at PCB er lite vannløslig.

## 6. Effekter på krypdyr, fugl og pattedyr

Krypdyr som skilpadder og alligatorer ser ut til være hyppig utsatt for skader av miljøgifter og det ble rapportert om dårlig klekkesuksess og unormal embryonal utvikling (teratogenesis) hos disse artene allerede i 1972 (Cooke, 1972). Langs bredden av "the Great Lakes" er det funnet PCB, organiske klorforbindelser, dioxiner og polyklorerte dibenzofuraner i skilpadder (snapping turtle, *Chelydra serpentina*). Virkningen av denne forurensningen på skilpaddene har ikke blitt grundig undersøkt. I en senere undersøkelse (Bishop et al. 1991) hvor det også ble det funnet PCB, dibenzo-p-dioxin og dibenzofuraner i egg i samme art, ble resultatene evaluert etter epidemiologiske kriterier. Det ble funnet statistisk ulike konsentrasjoner i skilpaddeegg på ulike steder og signifikant sannsynlige unormale egg fra Lake Ontario, som hadde det høyeste forurensningsnivå. Eggene var deformerte og hadde dårlig klekkesuksess. PCB var det kjemikaliet som ble antatt å være det mest aktuelle med henblikk på skade. Mangel på kunnskap om effekten av slike kjemikalier på egg, og det faktum at det også var en rekke andre kjemikalier tilstede, gjorde det vanskelig å verifisere at PCB gav slike skader.

Bergeron et al. (1994) var i stand til å forandre kjønn på skiladden *Trachemys scripta* (red-eared slider turtle) ved å påvirke eggene med PCB. Normalt ville egg som utviklet seg i 26 °C bli 100 % hanner, men de ble utviklet til hunner ved påvirkning av PCB. De mengdene som var nødvendig for kjønnsforandring tilsvarer gjennomsnittsnivået av PCB i brystmelk hos kvinner i industriland (Thomas og Colborn, 1992).

I Floridas fjerde største innsjø, Lake Apopka, skjedde det et utslipp av dikofol og svovelsyre i 1980 ved et uhell. Dikofol er et DDT lignende stoff og inneholder metabolittene DDD, DDE Chloro-DDT. I samme periode ble det gjennomført en større undersøkelse av alligatorer i hele Florida, og i denne forbindelse ble det observert at bestanden av alligatorer sank dramatisk (90 %) i begynnelsen og i midten av 80-årene. I tillegg ble det funnet dårlig klekking av eggene, dårlig overlevning, forandringer i reproduksjonssystemet og unormaliteter i hormonsystemet (Guillette og Cain, 1994). Selv idag, 15 år etter utslippet, er overlevelsen lav. Forfatterne refererer også til undersøkelser der eksperimentell behandling av både skilpadder og alligatorer med ulike typer hormoner har vist å påvirke kjønn og utvikling av gonadene. Guillette og Cain (1994) mener at reptiler med temperaturavhengig kjønnsbestemmelse er særlig utsatt for forstyrrelser av hormonsystemet og representerer en god modell for miljøpåvirkning. En slik modell kan utnyttes til videre studier av selve mekanismene bak de hormonelle forstyrrelsene, og dette blir diskutert inngående av Guillette et al. (1995).

Selv mange år etter utslippet viser alligatorene i Lake Apoka avvikende trekk. Selv om de ser normale ut er de det ikke. Som følge av påvirkning av DDD og en rekke metabolitter har unge hanner et lavt innhold av testosteron, høye verdier av østrogen og kjønnsorganene er små. De er blitt feminisert som følge av utslipp i 1980. Dette er et av de best dokumenterte tilfellene av kjemikalier med østrogeneffekt. Senere er det imidlertid blitt hevdet at kjemikaliene **ikke har stimulert** produksjonen av østrogen. Derimot har en forbindelse som kalles p.p'-DDE hatt en **feminiserende virkning** ved å blokkere virkningen av androgen (mannlige kjønns hormoner) (Science, 1995). Selv om mange av kjemikaliene ikke har østrogeneffekt, men i stedet blokkerer androgenreseptoren vil virkningen bli det samme - en forstyrrelse av hormonbalansen og en unormal kjønnsutvikling.

Etter at virkningen på alligatorene i Florida ble kjent er det satt igang en rekke spesialstudier for å kartlegge i detalj mekanismene bak den unormale utviklingen. Studiene bekrefter at mange av virkemåtene fortsatt er ukjente og lite forstått. I tillegg til effekter på selve mottakercellene (reseptorene) vil også nedbrytningen av hormonene i levermikrosomene bli påvirket (Guillette et al. 1995).

Fugl har vist seg å reagere spesielt på virkninger av organiske klorforbindelser. Undersøkelser av måker viste det seg at hannene ble feminisert eller døde (Fox, 1992). I redene ble det funnet dobbelt

så mange egg som vanlig og det ble funnet endringer i kjønnsutviklingen og av funksjonelle hanner. Tilsvarende problemer ble funnet i terner og sildemåker (Conover, 1984) etter påvirkning fra DDT.

Fry og Toone (1981) og Fry et al. (1987) har påvist at klorerte organiske forbindelser som DDT, metoksyklor og mirex og deres metabolitter er østrogene i fugl og er sannsynligvis årsak til den skjeve kjønnsfordelingen av hanner og hunner, økt dødelighet og den avvikende adferd ved at hunnene søker sammen i par.

Det har nylig blitt oppdaget at hormoner spiller en stor rolle i den embryonale utvikling (Bern, 1990) og denne effekten er tilstede selv om de organer som produserer hormoner ikke er utviklet (Serrano et al. 1990). Disse studier og flere andre viser at selv tidlig i den embryonale utviklingen er fosteret i stand til å reagere på signaler fra hormoner, selv om de hormonelle organer ikke er utviklet. Dette gjør at fosteret og tidlige embryonale stadier er særlig utsatt selv ved svake østrogen eller antiøstrogenliknende stoffer (Guillette et al. 1995).

I det sørlige Florida er Floridapanteren (*Felis concolor, coroy*) nesten forsvunnet, og de gjenstående dyrene er kontaminert av jordbrukskjemikalier, hvorav mange er kjent som hormonforstyrrende (Guillette et al. in press). Vaskebjørn er en populær diett for panteren og den er kjent for å inneholde store mengder kvikksølv, DDT og andre organiske klorforbindelser. Fordi det er så få gjenlevende pantere var det vanskelig å få tak i et statistisk holdbart materiale, men stikkprøver viste at flere av hannene hadde nedsatt fertilitet (få spermier med lav bevegelse) og andre skavanker (Guillette et al. in press). Man antar derfor at en av de viktigste årsakene til den reduserte bestanden er virkningen av hormonforstyrrende kjemikalier.

En annen art som også er kommet i søkelyset er mink, og det foreligger undersøkelser som viser en nedgang i forekomsten av mink (*Mustela vison*) i området rundt "the Great Lakes", hvor minken har tilgang på fisk (Giesy et al. 1994). Etter en risikoanalyse ble det antatt at dersom minken fikk tilgang til fisk fra "the Great Lakes" ville sjansen øke for at den ville få utviklingsskader. De kritiske kjemikaliene ble vurdert til å være PCB, og for enkelte områder dioksin. En spansk undersøkelse (Lopes-Martin et al. 1994) retter mistanken mot forekomsten av PCB og DDT for nedgangen i minkbestanden, men materialet er for lite til annet enn å gi vage antydninger.

## 7. Effekter på mennesker

Bruken av det syntetiske hormonet DES på kvinner for 20-30 år siden gir et grelt eksempel på de skader som kan oppstå hos fostere under utvikling i svangerskapet, og det er nærliggende å tro at andre kjemikalier kan ha tilsvarende effekter. Fordi det er meget vanskelig og tidkrevende å gjennomføre undersøkelser på mennesker blir det ofte benyttet laboratorierotter til dette. Gray (1992) hevder at de grunnleggende trekk i kjønnsutviklingen er lik hos alle pattedyr, selv om det er ubetydelige, men viktige forskjeller. Det er derfor særlig viktig å følge utviklingen hos pattedyr som påvirkes av kjemiske stoffer fordi de kan gi viktige informasjoner om problemer som kan oppstå hos mennesker.

Hos gnagere (rotter) har man vist at en rekke ikke-østrogene stoffer, medikamenter, pesticider og kjemiske stoffer gir skadelige effekter på kjønnsutviklingen. Listen omfatter stoffer som PCB, PBBs, TCDD, DBCP, stoffer som hemmer arachidonsyre-metabolisme, MSG, bly, fenobarbital, morfin, THC, spironolactone, hydrokortison og hormonet ACTH (Gray, 1992).

I menneskelig vev er det påvist målbare verdier av klorerte organiske pesticider, polyklorerte bifenyler (PCB) polybromerte bifenyler (PBB), polyklorerte dibenzodioksiner (PCDD) og polyklorerte dibenzofuraner (PCDF) (Thomas og Colborn 1992, m. flere). Med få unntak er mengden av persistente organiske halogenforbindelser omtrent den samme i melk, blod, fettvev og muskelvev når det beregnes ut i fra mengden ekstraherbart fett. Derimot vil konsentrasjonen i blod variere på grunn av mengdene som skilles ut av fett og nylige inntak av stoffene.

Hos mennesker er det godt kjent at det skjer en transport av giftstoffer fra morkaken til fosteret, og via brystmelk til den nyfødte. Virkningen av kjemikaliene vil være helt forskjellig i fosteret/nyfødte enn hos det voksne individ, og nettopp derfor vil de såkalt "sikre grenser" for voksne kunne være meget skadelige for fostere og nyfødte (Calabrese, 1982, Tilson et al. 1990). Det er gjort en rekke *in vivo* studier for å undersøke ukjente stoffer i sammenlikning med eksponering overfor en lang rekke kjemiske forurensninger. Kontaminert fisk ble føret til rotter, coho laks, mink og kyllinger hvoretter målbare skader hos dyrene (funksjonsskader og overleving) ble registrert. Man antok at skadene skyldes de akkumulerte forurensningene i fisken.

I Michigan fikk mødre som spiste forurenset fisk 2-3 ganger pr. måned i 6 år før svangerskapet barn med fødselskader. Her er det verdt å merke seg at de funksjonelle skadene hos barna ikke ble satt i forbindelse med hva mødrene spiste under svangerskapet, men i tiden før de ble gravide (Thomas and Colburn, 1992). Skadene ble antatt å skyldes PCB-innhold i mødrenes serum og brystmelk, men kan også skyldes den integrerte giftighet til antagonister, agonister, additive og synergistiske effekter i fisken og ikke PCB alene. I et omfattende arbeid gir Thomas og Colborn (1992) en rekke eksempler på forekomst av vanlige pesticider i dyr og mennesker.

Hvis man ser på utviklingen i løpet av det siste hundreåret (Whitten, 1992) har mennesker blitt eksponert for en økende mengde kjemikalier, der mange kjemikalier inneholder en aromatisk ring (benzen) som kan ha østrogene egenskaper. Det startet med destillasjon av kull og fortsatte med fargestoffer i tekstilindustrien. Etter første verdenskrig kom utviklingen av eksplosiver og gjødselindustri med produksjon av fenolforbindelser. I løpet av de siste 40 år har det vært en kjemisk revolusjon hvor særlig utviklingen av kjemiske insekticider har karakterisert miljøet. Denne kjemiske revolusjonen har vært med å prege miljøet for både dyr og mennesker og sannsynligvis gitt opphav til skader og effekter som nå etterhvert kommer til syne.

Den industrielle revolusjonen brakte ikke bare med seg nye syntetiske kjemikalier, men også store endringer i livsstil og matforbruk (Fogel, 1986). Ved tilpasning av en vestlig diett økte forbruket av kjøtt og reduserte avhengigheten av vegetabilsk protein. Disse diettforandringene har hatt flere kjente



konsekvenser. Fett og fiber forandrer tarmens opptak av østrogen. Dette resulterer i høyere nivåer av østrogen i sirkulasjon ved en diett med høyt fettnivå og lavere østrogennivå ved en diett med mye fiber (Adlercreutz, 1990). I tillegg vil en reduksjon av vegetabiliske produkter redusere eksponeringen av isoflavonider (Adlercreutz, 1990). Isoflavonider er defensive kjemikalier som produseres av erteplanter som er vanlige i mange dietter. Mange av stoffene i vegetabiliske produkter, som inngår i dietter f.eks soya, er en kilde for hormonelt aktive kjemikalier, som kan endre menneskets seksuelle utvikling. Derfor kan endringer i dietten, ved å øke kjøttmengden og redusere vegetabilisk føde, kunne resultere i et høyere indre østrogennivå, som er mer tilgjengelig for det steroid responsive vevet, mens konsentrasjoner av mindre potente, og kanskje østrogen-hindrende isoflavonider, vil gå ned. Når man vurderer effekter som har funnet sted hos mennesker er det viktig å ha klart for seg hvilke endringer som er skjedd. Det gjelder påvirkning av kjemikalier fra det ytre miljø og endringer i spisevaner og diett som påvirker det indre miljø.

Ved kjemikaliepåvirkning er det særlig faren for kreft som har vært i søkelyset. Hovedårsakene til kreft mener man er forbundet med livsstil (tobakk, alkohol, animalsk fett, fedme, ultrafiolett lys) (Henderson et al. 1991). Den utbredte oppfatningen at miljøforurensning er hovedårsaken er derfor ikke riktig i følge de samme forfattere. Kreft som skyldes hormoner gjelder en gruppe av kreftformer som utgjør nesten en tredjedel av nye tilfeller i 1990 (Henderson et al. 1982, 1988).

Det er særlig brystkreft hos kvinner som har kommet i søkelyset. I den eneste relevante studien som har vært utført pr. 1991, ble det funnet en klart økende forekomst av brystkreft hos kvinner som brukte progesteron sammen med ERT (postmenopausal estrogen replacement therapy). Kvinner med brystkreft hadde høyere østrogennivå enn friske kontrollkvinner, og østrogennivået er høyere i befolkninger som er karakterisert ved høye forekomster av brystkreft (Henderson et al. 1991). I medisinsk forskning fokuserer man idag mer på hormoner enn på fett som en mulig årsak til økt forekomst av brystkreft (Marshall, 1993).

Det har også i den senere tid kommet alarmerende meldinger om nedsatt sædkvalitet hos menn. I en undersøkelse av Carlsen et al. (1992) ble det påvist at forekomsten av unormal utvikling av mannens reproduksjonssystem hadde blitt mer enn fordoblet i løpet av de siste 30-50 år. Antall spermier hadde avtatt til det halve. Undersøkelsen omfattet en gjennomgang av 61 publikasjoner som er publisert i perioden 1938 - 1990 fra hele verden. Årsaken til nedgangen i sædkvalitet er ikke funnet, men det har vært nærliggende å knytte mistanken til en overeksponering av østrogener eller kjemikalier med østrogen effekt (Sharpe og Skakkebæk, 1993). Undersøkelsen til Carlsen et al. (1992), ble kritisert av mange fordi materialet var for spredt og kunne inneholde mange feilkilder. Derfor ble det i Frankrike satt i gang en omfattende undersøkelse av sædkvalitet hos menn fra Paris i løpet av de siste 20 år (Auger et al. 1995). Også denne undersøkelsen gav et tilsvarende resultat, der antall spermier sank med 2.6 % pr. år, en nedgang i spermienes bevegelighet på 0.3 % pr. år og en nedgang på antall normalt utviklede spermatozoer på 0.7 % pr. år, som var uavhengig av mennenes alder. Også i denne undersøkelsen er årsaken ukjent.

Selv om de ikke kan bevise sin teori, mener Sharpe og Skakkebæk (1993) at den økende forekomst av reproduksjonsskader hos menn skyldes økt eksponering til østrogen eller østrogene kjemikalier hos det ufødte fosteret. Dette fører til endringer i utviklingen av testiklene og det mannlige reproduksjonssystem både hos menneske og i dyreliv, og at dette har funnet sted i løpet av de siste 30-50 år. Skadene inkluderer redusert sædkvalitet. Hypotesen bør føre til ny fokusering på problemene og økt forskningsinnsats.

## 8. Forekomst i vann

Det har ofte vært framsatt påstander om at det finnes hormoner i drikkevann, fordi vann fra innsjøer blir brukt om igjen flere ganger etter resirkulering, men det finnes lite data som støtter denne påstanden (Fawell og Wilkinson, 1994). De fleste av de omtalte kjemikaliene (tabell 1 og 2) vil før eller senere ende i vann, men i meget lave konsentrasjoner. Mange av stoffene vil brytes ned til andre forbindelser og vil forkomme i så små mengder at de ikke registreres. Bare unntaksvis er det påvist direkte effekter på vannlevende organismer, som i de engelske undersøkelsene av elver og dammer nedenfor renseanlegg (Purdom et al. 1994). (jfr kap. 5).

Hovedmengden av alkylfenol polyetoksilater (APEOs) når vannmiljø via renseanlegg i konsentrasjoner på ca. 1 mg/l i innløpet og ca. 10 ganger lavere i utløpet. De viktigste nedbrytningsproduktene til APEO er 4-nonylfenol (NP) og 4-tert-octylfenol (OP), men fordi de er hydrofobe, blir de primært funnet i avfallsslam og sediment på elvebunnen. Disse og andre kortkjadede karboksylsyrederivater har blitt funnet i elvevann (Giger et al. 1987), grunnvann (Zoller, 1993) og drikkevann fra kran i USA (Clark et al. 1992). Clark og medarbeidere fant mer enn 20 nær beslektede alkylfenolforbindelser (alle ethokylat og karboksylsyre derivater) i drikkevann i New Jersey. Se også kap. 3 for flere informasjonen.

Dr. Peter Matthiessen fra Ministry of Agriculture Fisheries & Food (MAFF) fortalte at de hadde gjort undersøkelser i drikkevannsreservoarer, men hadde ikke funnet skadelige kjemikalier. Selv om de var tilstede var de så fortynnet at de ikke kunne registreres. Han mente at det var bedre å benytte fisk i bur som eksponeres over tid (jfr. kap 5), en teknikk som ble benyttet i en rekke elver.

Vann betraktes som en viktig eksponeringskilde, men det er meget vanskelig å finne målbare konsentrasjoner av aktuelle hormonforstyrrende stoffer. Det anbefales i stedet å se på organismer, som enten viser effekt i form av en biomarkør (utskilling av vitellogenin hos fisk), eller akkumulering av kjemikalier i fettvev.

## 9. Analyse av aktuelle stoffer

Analyse av miljøgifter, herunder stoffer som er mistenkt for å ha en østrogenlignende effekt, er tidkrevende prosesser som stiller store krav til prøveopparbeidingen og analyseinstrumenteringen. I Norge er det i dag flere laboratorier som har innarbeidet metodikk for å kunne analysere på flere av de stoffene som er nevnt som aktuelle hormonforstyrrende stoffer (kap. 3). Imidlertid foreligger det i dag ikke analysemetodikk på noen svært aktuelle komponenter, nonylfenoler og nonylfenoletoksilater. Det foreligger imidlertid mange analysebeskrivelser i litteraturen som omhandler disse forbindelsene, og metodikk er under utarbeidelse ved NIVA.

Analyse av organiske miljøgifter forutsetter arbeidskrevende prøveopparbeidelser og kvantifisering ved hjelp av ulike kromatografiske teknikker som gasskromatografi (GC) og væskeskromatografi (HPLC). Nivåene av forbindelser med hormonlignende effekter er som regel så lave at det ofte kreves mye materiale for å kunne oppkonsentrere nok til at de aktuelle forbindelsene kan detekteres med de teknikker som er tilgjengelige. (f. eks. benyttes det 10 l vann for å kunne kvantifisere PCB ned til 0.1 ng). Skadelige miljøeffekter av disse stoffene er påvist i svært lave konsentrasjoner. Det er derfor viktig at kvantifiseringsgrensene er så lave som mulig. Dette setter strenge krav til de laboratoriene som skal utføre analysene og til instrumenteringen som blir brukt. For enkelte stoffer er det faktisk ikke mulig å sette en nedre grense for mulige skader fordi uheldige virkningen kan fall skje ved at bare noen molekyler er tilstede når en organisme er under utvikling i en kritisk fase (sitat fra Endocrine disrupter workshop i USA 1995).

Miljøgiftene vil kunne forekomme i vann, sedimenter og i biologisk materiale, men er vanskelig å påvise i vann.

### **Klororganiske forbindelser:**

Klororganiske forbindelser som polyklorerte bifenyler (PCB) og klorpesticider analyseres rutinemessig ved flere laboratorier i Norge, og det vil derfor ikke være nødvendig å innarbeide ny metodikk for å kunne analysere på disse komponentene. Det er utarbeidet metodikk for alle typer prøvematrikser som vil være aktuelle å analysere på. Disse komponentene analyseres på en GC med electron capture detektor (ECD) eller masseselektiv detektor (MSD). Deteksjonsgrensene ligger med dagens metodikk på ppt nivå i vann (ng/l) og ppb (ng/g) nivå i biologisk materiale og sedimenter.

### **Bromerte flammeretardanter:**

Dette er en gruppe stoffer det ikke er gjort så mye analysearbeid på i Norge. Denne type komponenter vil det være aktuelt å analysere med GC med ECD eller MSD. Opparbeidingen av denne type stoffer forventes å være lik opparbeidingen av de tilsvarende klorerte forbindelsene, men metodikk må eventuelt innarbeides før kartlegging av disse forbindelsene kan begynne.

### **Tinnorganiske forbindelser:**

Den tinnorganiske forbindelsen tributyltinn (TBT) i ulike prøvematrikser analyseres i dag rutinemessig i Norge. TBT ekstraheres fra biologisk materiale, vann og sedimenter, og ekstraktene derivatiseres ved en såkalt Grignard reaksjon for å danne komponenter det er mulig å analysere med HRGC/MSD. Absolutt deteksjonsgrense ligger i størrelsesområdet 0.04 ng.

### **Nonylfenol og nonylfenoletoksilater:**

Disse stoffene er såkalt ikkeioniske surfaktanter, og stammer fra ulike vaskemidler. Stoffenes overflateaktive karakter gjør dem spesielle i analytisk sammenheng, i og med at de har både en lipofil og en hydrofil del. I litteraturen er det beskrevet flere ulike metoder for opparbeiding og analyse, men i hovedtrekk benytter man seg av egenskapene til den lipofile delen av molekylene for å få ekstrahert ut stoffene fra de aktuelle matriksene. Til analyse av disse komponentene er det beskrevet bruk av HPLC med UV og fluorescens detektor eller HRGC med flammeionisasjonsdetektor (FID) eller masse

selektiv detektor (MSD). Resultatet ved bruk av de ulike teknikkene vil være noe forskjellig. Nonylfenol og dets etoksilater forekommer i mange strukturisomere former. Nonylkjeden vil ha ulike forgreninger i de blandingene som har vært benyttet i vaskemidler. Ved bruk av HRGC vil man kunne analysere hver enkelt av disse isomerene, men prøveopparbeidingen vil kreve derivatisering, noe som alltid fører til usikkerheter i resultatene. Ved bruk av HPLC vil man ikke kunne separere disse isomerene, men fordelingen er at derivatisering ikke er nødvendig. Det vil imidlertid være nødvendig å analysere på to ulike HPLC-systemer, normalfase (NP) og omvendt fase (RP) for å kunne dekke alle etoksilatene. Det man mister av bestemmelse av enkeltisomere, dersom en velger å analysere med HPLC, har ingen betydning for tolkningen av miljøkonsekvensene av de nivåer som eventuelt blir funnet. Dette skyldes at den miljømessige konsekvensen til de ulike isomere regnes for å være den samme (Ahel et al. 1987, Sweetman, 1994)). Deteksjonsgrensene for de ulike metodene er rapportert å være i samme størrelses forhold, ppb nivå. (Di Corcia og Samperi 1994, Marcomini et al. 1990, Naylor et al. 1992). Denne typen analyse er pr. i dag under utarbeidelse ved NIVA.

Generelt er opparbeiding av prøver for analyse av organiske komponenter tidkrevende, og kvantifiseringen er relativt komplisert. Dette resulterer i at denne type analyser generelt er kostnadskrevende.

#### **Metaller:**

Metaller i ulike prøvmatrikser bestemmes i dag rutinemessig ved flere laboratorier i Norge. Det vil derfor ikke være nødvendig å utvikle ny metodikk for å kunne analysere disse. Det benyttes ulike instrumentering for å bestemme metallinnhold, som atomabsorpsjon med ulike deteksjons metodikker og ICP. Deteksjonsgrensene ligger på ppb nivå.

## 10. Rapport "Workshop" i USA 10-13 april 1995

U.S.Environmental Protection Agency (EPA) arrangerte i perioden 10-13 april 1995 et arbeidsseminar "Endocrine Disruptor Research Needs Workshop" med over 300 deltagere, der 96 var eksperter fra USA, noen få deltagere kom fra europeiske land (England, Tyskland, Finland) og de resterende 200 var observatører. Fra Norge deltok forskningsleder Bjørn Braaten fra NIVA, Christian Rostock fra Bellona og Sigrun Ringvold fra Naturvernforbundet. Hensikten med seminaret var å skape et forum for kommunikasjon og informasjon mellom spesialister fra ulike fagområder og ulike organisasjoner. Det andre hovedmålet var å utvikle en nasjonal strategi for kortsiktige og langsiktige prosjekter som er nødvendig for å forstå omfanget og rekkevidden av de ulike aspekter av problemområdet hormonforstyrrende stoffer.

Seminarledelsen slo fast at det ikke er noen uenighet om at det eksisterer et verdensomfattende problem der både naturlige og syntetiske kjemikalier kan forstyrre naturlige hormonprosesser hos dyr og mennesker og gi irreversible skader av alvorlig karakter. Målet for EPA var å få fram informasjon som kunne sikre helse for dyr og mennesker og de arbeidet nå med politiske tiltak for å få bevilget 100 millioner dollar til dette arbeidet. Etter seminaret ville EPA nedsette en arbeidsgruppe til å evaluere metodene som ble diskutert og prioritert. Det ble bestemt at "Endocrine Disruptor" ville bli et hoved-satsingsområdet i årene framover. Satsingen skulle ikke bare være nasjonal, men også internasjonal. Dr. Lynn Goldman fra EPA ønsket samtaler mellom USA og EU om et framtidig samarbeide og hun mente en "Water agenda" ville bli utarbeidet. EPA har allerede oppdatert sine retningslinjer for testing av kjemikalier og dette arbeidet ville fortsette.

Etter at arbeidsseminaret ble offisielt åpnet, med innledende kommentarer fra EPA ble det gitt ett innledningsforedrag av Dr. Howard Bern fra UC Berkley om "Endocrine disruptors" og det særlig utsatte foster.

Deretter ble det gitt rapporter fra arbeidsseminarene i England (Dr. Peter Matthiesen, MAFF), fra Tyskland (Dr. Andreas Geis, Umveldt Bundes Amt) og Danmark/Finland (Dr. Jorma Toppari, University of Turku).

Etter de innledende foredrag ble diskusjonene delt opp i fire aktuelle fagfelt, Carcinogenesis, Reproductive Toxicity, Immunotoxicity, og Neurotoxicity. Etter felles rapportering fra de fire helseeffekt områdene ble seminaret delt opp i fire "Concurrent Risk Assessment Methodologies Discussions": Hazard Identifications, Dose Response Analysis, Exposure Analysis og Risk Characterization. Seminaret ble avsluttet med en omtale og diskusjon av "Risk Assessment Methodology Needs".

Fullstendige rapporter fra seminaret vil bli publisert om noen måneder. Alle innlegg ble registrert, og fra alle fellesdiskusjoner ble gjort lydbåndopptak. Totalt sett gav seminaret en meget god oversikt over hva man vet pr. idag og hvordan en tenker seg det videre arbeid framover. Det er et stort og vanskelig forskningsfelt som krever et utstrakt samarbeid over landegrensene. Vi diskuterte et videre samarbeid både med europeiske og amerikanske eksperter, og det er god anledning til å få hjelp til å utarbeide en norsk strategi for satsing på dette feltet.

## 11. Mulig forekomst i norsk miljø

Forekomst og skader av østrogenforstyrrende stoffer er en ny problemstilling i Norge, selv om fenomenet i seg selv har vært tilstede hele tiden. Det har med stor sannsynlighet blitt registrert symptomer på skader uten at man har vært klar over årsaken til skadene. Det finnes imidlertid ingen systematisk oversikt over reproduksjonsskader bortsett fra SFTs datarapport der reproduksjonsskader er en av mange subletale effekter. Observasjonene omfatter for en stor del utenlandske undersøkelser.

De aller fleste aktuelle stoffer finnes i meget små kvanta i vann, og stort sett under deteksjonsnivå. Kjemikaliene vil først bli registrert ved akkumulering i fettvev eller i sediment.

Med unntak av skader på snegl (imposex), som skyldes forekomst av TBT, kjenner ikke NIVA til forekomst av skader på det biologiske liv som med stor sannsynlighet skyldes hormonforstyrrende stoffer. Det er mulig at man ved en systematisk gjennomgang av tidligere undersøkelser kan komme på sporet av slike ting, men det har vi ikke hatt anledning til å gjøre i denne studien.

På det nåværende tidspunkt er det derfor vanskelig å vite om hormonforstyrrende kjemikalier representerer et stort problem i Norge eller ikke.

Selv om problemet har begrenset omfang i Norge i dag, er de observasjoner som er gjort i en rekke land alarmerende, og bør vekke til økt innsats. Først når vi har egnet metodikk til å analysere problemet, og vi vet hva vi skal se etter er det mulig å få en mer realistisk oversikt. Fordi store deler av problemene er knyttet til bruk og utslipp av kjemikalier som vi omgir oss med daglig, er det mulig å begrense problemet. Innsatsen fra norsk side bør være tverrfaglig med sterke kontakter internasjonalt. Mange av stoffene transporteres via nedbør og representerer et stort internasjonalt problem.

## 12. Forskningsstrategiske elementer

Selv om dette forskningsfeltet er nytt i Norge, har en i en rekke land gjennomført detaljerte og omfattende studier, først og fremst i USA, men også i England, Nederland og Danmark. De erfaringene som er kommet fram gjennom eksperimenter og feltundersøkelser har blitt presentert på seminarer, workshops og i fagartikler, men er fortsatt lite tilgjengelige for de fleste fagmiljøer. I "Consensus Statement" fra Wingspreadkonferansene har man satt opp hva man sikkert vet, hva man anslår som aksepterte sannheter, og hva modeller, antagelser og evalueringer bygger på.

Seminaret i USA i april 1995 slo fast at problemet i høyeste grad er aktuelt og at en massiv innsats på dette feltet vil komme i de nærmeste årene. Hovedinnsatsen vil bli lagt på helse hos mennesker og økologiske oversikter. En del av de viktigste konklusjonene var:

- Det må legges særlig stor vekt på utviklingsstadier. Organismene er da ytterst sårbare, og spesielle perioder ("windows") vil være mer utsatt enn andre. For disse periodene er det vanskelig å sette en nedre grense for skadelig eksponering.
- Selv om man kjenner en del av mekanismene bak skadene gjenstår det fortsatt å etablere en grunnleggende kunnskap om hvordan hormoner og enzymesystemer styrer kjønnsutviklingen hos dyr og mennesker. Ved effekt av fremmedstoffer er det nødvendig å kjenne til de spesielle virkemåtene som stoffene har og dose- responsen ved aktivering av reseptorene, fordi dette vil gi kjennskap til et ikke-effekt nivå. Virkningene kan være varierende østrogen aktivitet, antiøstrogen aktivitet, androgen aktivitet og antiandrogen aktivitet. Ved påvirkning av embryo og foster kan det også påføres irreversible skader på det neurologiske system, immunsystem, metabolisme og kjønnsutvikling. I tillegg har en også sett en rekke andre vitale forstyrrelser.
- Det finnes informasjon om skader på en rekke former for dyreliv som omfatter fisk, fugl, krypdyr, pattedyr og mennesker. En rekke av de mest kjente eksemplene er beskrevet tidligere i rapporten. Derimot vet en nesten ingenting om effekter og skader på hvirvelløse dyr. Effekten på mennesker er lite kjent, bortsett fra virkningen av det syntetiske hormonet DES på kvinner og deres avkom. Derimot er det en rekke antagelser som er vanskelig å bevise fordi det mangler tilstrekkelige data. Skadelige effekter på mennesker må sannsynligvis bevises gjennom ulike typer undersøkelser som epidemiologiske studier, komparative studier av dyreliv, laboratorieforsøk med rotter og mer nøyaktige undersøkelser på transport av og nivåer på kjemikalier i mennesker.
- Det har vært mye diskusjon om hvilke stoffer som har østrogen effekt. Det ble anbefalt å se på stoffgrupper for å klarlegge visse likhetstrekk. Det har også blitt benyttet en datamodell som beskriver konfigurasjonen av stoffene tredimensjonalt. Stoffe som har tilnærmet samme konfigurasjon som naturlige hormoner kan ta plassen ved hormonreseptorene. Tidligere liste som er publisert av Colborn et al. (1993) er fortsatt gyldig. I tillegg bør fytoøstrogener tas med på listen.
- Analyser i vann er generelt meget vanskelig fordi konsentrasjonene er meget lave og oftest under deteksjonsgrensen til stoffene. Samtidig vurderes vann som en viktig eksponeringskilde.
- I England, hvor en har utført en rekke studier av elver og drikkevann, benyttes fisk i bur og vitellogenintesten som bevis på tilstedeværelsen av østrogenliknende stoffer (nonylfenol etoksylater)
- Det er viktig å gjennomføre en generell monitoring av miljøet for å registrere bakgrunnsnivået av aktuelle miljøkjemikalier. Det gjelder studier av vann, sediment og dyreliv.

- I naturen er de fleste organismer eksponert til mange kjemikalier på en gang. Det gjør det vanskelig å vite hvilke stoff som er aktivt. Det er også viktig å vite om stoffene har additiv effekt, synergistisk effekt eller antagonistisk effekt.
- Det er viktig å kjenne de arter man jobber med godt, og spesielt kjønnsutviklingen og faktorer som påvirker den. Det er bl.a. kjent at enkelte fisk og reptiler kan utvikle seg til et spesielt kjønn under påvirkning av ytre faktorer (f.eks temperatur).
- Det er ikke nok bare å se på enkeltindivider. Like viktig er studier av dyresamfunn. Her bør man se etter forandringer på artssammensetning, fertilitet, kjønnsutvikling, kjønnsfordeling og adferd. Det er særlig viktig å se om enkelte arter er forsvunnet.
- Tester bør gjøres på utviklingsstadier. Særlig viktig er studier på andre generasjon eller endog tredje generasjon.
- Det er ikke noe enkelt lineært dose-respons forhold for østrogenforstyrrende stoffer. Det er forskjeller for ulike typer responser til de samme hormoner i ulike arter etc. Det er derfor meget vanskelig eller nærmest umulig å etablere enhetlige dose-respons forhold for denne type kjemikalier.
- Bruk av biomarkører og bioassaytester ble vurdert som særlig viktig. Det er viktig å etablere *in vivo* modelltester av kort varighet (28 dager eller mindre) som kan brukes til å evaluere flere endokrine systemer. For å få bedre greie på hvilke mekanismer som påvirker organismen er det nødvendig å benytte *in vitro* (test på lab. med celler eller vev) tester, eller en samling av *in vitro* tester. *In vitro* tester må alltid verifiseres av *in vivo* tester.
- Det finnes ingen eksisterende retningslinjer/protokoller som klart og presist definerer de økologiske problemer som er forbundet med hormonforstyrrende stoffer, og heller ingen retningslinjer for evaluering av "endokrine effekter". EPA har nylig utarbeidet retningslinjer (protokoll) som vil være en stor forbedring. De nåværende retningslinjer for toksikologisk testing er ikke anvendbare.

De ovennevnte punktene er bare et kort forenklet sammendrag av noen sentrale problemstillinger til hjelp i planlegging av forskningsprosjekter.



## 13. Referanser

Adler, M., J. Conrad, W. Giger. (1987) Persistent organic chemicals in sewage effluents. III. Determination of nonylphenoxy carboxylic acids by high resolution gas chromatography/mass spectrometry and high-performance liquid chromatography. *Environ Sci Technol* :21:697-703.

Adlercreutz, H. (1990) Western diet and western diseases: Some hormonal and biochemical mechanisms and associations. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 50 Suppl. 201: 3-23

Allen-Rowlands, C.F., V.D. Castracane, M.G. Hamilton, J. Seifter. (1981) Effect of polybrominated biphenyls (PBB) on the pituitary-thyroid axis of the rat (41099). *Proc Soc Exp Biol Med* :166:506-514.

Amdur, M.O., J. Doull, and C.D. Klaasaen. (1991) *The basic science of poisons*. New York: Pergamon Press. eds. Casarett and Doull's toxicology.

Arfini, G., A. Mutti, P. Vescovi, F. Claudio, M. Ferrari, C. Giaroli, M. Passeri, I. Franchini. (1987) Impaired dopaminergic modulation of pituitary secretion in workers occupationally exposed to styrene: Further evidence from PRL response to TRH stimulation. *J Occup Med* :29:826-830.

Arnold, D., C. Moodie, S. Charbonneau, H. Grice, P. McGuire, B. Collins, Z. Zawidzka, D. Krewski, E. Nera, I. Munro. (1985) Long-term toxicity of hexachlorobenzene in the rat and the effect of dietary vitamin A. *Food Chem Toxicol* :23:779-793.

ATSDR. (1988) Toxicological profile for mercury. Atlanta, GA: Agency for Toxic Substances and Disease Registry.

ATSDR. (1990) Toxicological profile for endosulfan alpha, endosulfan beta, endosulfan sulfate. Atlanta, GA: Agency for Toxic Substances and Disease Registry.

ATSDR. (1991a) Toxicological profile for cadmium. Atlanta, GA: Agency for Toxic Substances and Disease Registry.

ATSDR. (1991b) Toxicological profile for lead. Atlanta, GA: Agency of Toxic Substances and Disease Registry.

Auger, J., J.M. Kunstman, F. Czyglik, P. Jouannet. (1995) Decline in semen quality among fertile men in Paris during the past 20 years. *New Engl. J. Med.* 332: 281-285.

Babic-Gojmerac, T., Z. Kniewald, J. Kniewald. (1989) Testosterone metabolism in neuroendocrine organs in male rats under atrazine and diethylatrazine influence. *J Steroid Biochem* :33:141-146.

Beck, P.Å., R. Jaques. (1993) Datarapport for miljøgifter i Norge. SFT-Rapport Nr 93:23, 313 pp

Beland, P., DeGuise, S., R. Plante. (1992). *Toxicology and Pathology of St. Lawrence Marine Mammals*, p. 110. (Montreal, Canada: Wildlife Toxicology Fund, Worldwide Fund for Nature)

Bergeron, J.M., D. Crews, J.A. McLachan. (1994) PCBs as environmental estrogens: Turtle sex determination as a biomarker of environmental contamination. *Environmental Health Perspectives* :102 (9) 780-781.

Bergman, A., M. Olsson. (1985) Pathology of Balyic Grey Seal and Ringed Seal with special reference to adrenocortical hyperplasia: is environmental pollution the cause of a widely distributed disease syndrome? *Finnish Game Res* :44:47-62.

Bern, H.A. (1990) The "New" endocrinology: its scope and its impact. *Amer Zool* :30:877-885.

Bern, H. (1992) The fragile fetus. In Colborn, T. and Clemnet, C. (eds) *Chemically-induced Alterations in Sexual and Functional Development: The Wildlife/Human Connection*. *Adv.Modern Environ.Toxicol.* :21:9-15.

Berwick, P. (1970) 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid poisoning in man. *J Am Med Assoc* :214:1114-1117.

Biessman, A. (1982). Effects of PCBs on gonads, sex hormone balance and reproduction processes of Japanese quail *Coturnix coturnix japonica* after ingestion during sexual maturation. *Environ. Pollut. (Series A)*, 27, 15-30.

Bishop, C.A., R.J. Brooks, J.H. Carey, J. Ng, R.J. Norstrom, D.R.S. Lean. (1991) The case for a cause-effect linkage between environmental contamination and development in eggs of the common snapping turtle (*Chelydra s. serpentina*) from Ontario, Canada. *J Toxicol Environ Health* :33:521-47.

Bowerman, W. B., D. Best, T. Kubiak, S. Postupalsky, D. Tillett. (1991). Bald eagle reproduction impairment around the Great Lakes: association with organochlorine contamination. In S.Schneider and R. Cambell (eds). *Cause-Effect Linkages II - Symposium Abstracts*, pp. 31-2 (Ann Arbour: Michigan Audubon Society)

Bryan, G.W., P.E. Gibbs, G.R. Burt, L.G. Hummerstone. (1987) The effects of tributyltin (TBT) accumulation on adult dog-whelks, *Nucella lapillus*: long-term field and laboratory experiments. *J Mar Biol Ass* :67:525-544.

Bryan, G.W., P.E. Gibbs, G.R. Burt. (1988) A comparison of the effectiveness of tri-N-butyltin chloride and five other organotin compounds in promoting the development of imposex in the dowhelk, *Nucella lapillus*. *J Mar Biol Ass* :68:733-744.

Bush, B., A. Bennett, A. Snow. (1986) Polychloro-biphenyl congeners, p,p'-DDE, and sperm function in humans. *Arch Environm Contam and Toxicol* :15:333-341.

Calabrese, E.J. (1982) Human breast milk contamination in the United States and Canada by chlorinated hydrocarbon insecticides and industrial pollutants: Current status. *J Am College of Toxicol* :1 (3) :91-98.

Carlsen, E., A. Giwercman, N. Keiding, N.E. Skakkebaek. (1992) Evidence for decreasing quality of semen during past 50 years. *British Medical Journal* :305:609-613.

Carson, R. (1962) *Silent Spring*. Boston: Houghton Mifflin.

Chambers, J.E. (1984) Oestrogenic effects of organochlorine insecticides in channel catfish. *American Chemical Society*. p.103.

Chen, T. T., P. C. Reid, R. van Beneden, R. A. Sonstergard (1968). Effect of Aroclor 1254 and Mirex on estradiol-induced vitellogenin production in juvenile Rainbowtrout *Salmo gairdneri*. *Can. J. Fish. Aq. Sci.*, 43, 169-173.

Chowdhury, A., H. Venkatakrishna-Bhatt, A. Gautum. (1987) Testicular changes of rats under lindane treatment. *Bull Environ Contam Toxicol* :38:154-156.

Chowdhury, H., J. Coleman, C. DeRosa, J. Stara. (1986) Pentachlorophenol: health and environmental effects profile. *Toxicol Ind Health* :2:483-571.

Clark, L.B., R.T. Rosen, T.G. Hartman, J.B. Louis, I.H. Suffet, R.L. Lippincott, J.D. Rosen. (1992) Determination of Alkylphenol ethoxylates and their acetic acid derivatives in drinking water by particle beam liquid chromatography/mass spectrometry. *International J Environ Anal Chem* :47:167-180.

Clemens, M.J. (1978) Regulation of egg protein synthesis by steroid hormones. *Prog Biophysical Molecular Biology* :28:71-108.

Clement, C., T. Colborn. (1992) Herbicides and fungicides: A perspective on potential human exposure. In: Colborn, T. and Clement, C. (eds) *Chemically-induced Alterations in Sexual and Functional Development: The Wildlife/Human Connection*. *Adv. Modern Environ. Toxicol.* :21:347-364.

Colborn, T. E., A. Davidson, S. N. Green, R. A. Hodge, C. I. Jackson, R. A. Liroff (1990). *Great Lakes Great Legacy ?* (Washington DC: The Conservation Foundation)

Colborn, T. and C. Clement. (1992) *Chemically-induced Alterations in Sexual and Functional Development: The Wildlife/Human Connection*. Princeton, N.J. Princeton Scientific. 403pp.

Colborn, T., F.S. Vom Saal, A.M. Soto. (1993) Developmental effects of endocrine-disrupting chemicals in wildlife and humans. *Environmental Health Perspectives* :103:378-384.

Conover, R.M. (1984) Occurrence of supernormal clutches in Laridae. *Wilson Bull* :96:249-267.

Cooke, A.S. (1972) The effects of DDT, dieldrin and 2,4,-D on amphibian spawn and tadpoles. *Environ Pollut* :3:51-68.

Couch, J.A. (1984) Histopathology and enlargement of the pituitary of a teleost exposed to the herbicide trifluralin. *J Fish Dis* :7:157-163.

Cranmer, J., M. Cranmer, P. Goad. (1984) Prenatal chlordane exposure: effects on plasma corticosterone concentrations over the lifespan of mice. *Environ Res* :35:204-210.

Cullen, M.R., R.D. Kayne, J.M. Robins. (1984) Endocrine and reproductive dysfunction in men associated with occupational inorganic lead intoxication. *Arch Environ Health* :39:431-440.

Cummings, A.M., L.E. Gray. (1987) Methoxychlor effects the decidual cell response of the uterus but not other progesterational parameters in female rats. *Toxicol Appl Pharmacol* :90:330-336.

Dieringer, C.S., C.A. Lamartiniere, C.M. Schiller, G.W. Lucier. (1979) Altered ontogeny of hepatic steroid-metabolizing enzymes by pure poly-chlorinated biphenyl congeners. *Biochem Pharmacol* :28:2511-2514.

Di Corcia, A. and Samperi, R. (1994) Monitoring Aromatic Surfactants and Their Biodegradation Intermediates in Raw and Treated Sewages by Solid-Phase Extraction and Liquid Chromatography. *Environ. Sci. Technol.* 28: 850-858.

Eil, C., B.C. Nisula. (1990) The binding properties of pyrethroids to human skin fibroblast androgen receptors and to sex hormone binding globulin. *J Steroid Biochem* :35:409-414.

Ellis, D.V., L.A. Pattisina. (1990) Widespread neogastropod imposex: a biological indicator of global TBT contamination. *Mar Pollut Bull* :21:248-253.

Fawell, J.K., M.J. Wilkinson. (1994) Oestrogenic substances in water : A review. *J Water SRT-Aqua* :43 (5) :219-221.

Fogel, R. V. (1986) Physical growth as a measure of the economic well-being of populations: The eighteenth and nineteenth centuries. In *Human Growth. A Comprehensive Treatise. Volume 3. Methodology. Ecological, Genetic and Nutritional Effects on Growth*, ed. F. Falchner and I. J. M. Tanner. Plenum, New York, 2 nd Edition, pp. 263-282.

Fox, G.A. (1992) Epidemiological and Pathobiological evidence of contaminant-induced alterations in sexual development in free-living wildlife. In: *Chemical-induced Alterations in Sexual and Functional Development: The Wildlife/Human Connection*. Ed. T. Colborn and C. Clement. *Adv. Modern Environ. Toxicol.* :21:147-158.

Freeman, H.C., G.B. Sangalang. (1977) A study of the effects of methyl mercury, cadmium, arsenic, selenium, and a PCB (Aroclor 1254) on adrenal and testicular steroidogenesis in vitro, by the Grey seal *Halichoerus grypus*. *Arch Environm Contam and Toxicol* :5:369-383.

Freeman, H.C., G.B. Sangalang, B. Flemming. (1982) The sublethal effects of polychlorinated biphenyl (Aroclor 1254) diet on the Atlantic cod *Gadus morhua*. *Sci Tot Environm* :24:1-11.

Fries, C.R., R.F. Lee. (1984) Pollutant effects on the mixed function oxygenase (MFO) and reproductive systems of the marine polychaete *Nereis virens*. *Mar Biol* :79:187-193.

Fry, D.M., C.K. Toone. (1981) DDT-Induced Feminization of Gull Embryos. *Science* :213:922-924.

Fry, D.M., C.K. Toone, S.M. Speich, R.J. Peard. (1987) Sex ratio skew and breeding patterns of gulls: demographic and toxicological considerations. *Stud. Avian Biol.* :10:26-43.

Giesy, J.P., D.A. Verbrugge, R.A. Othout, W.W. Bowerman, M.A. Mora, P.D. Jones, J.L. Newsted, C. Vandervoort, S.N. Heaton, R.J. Aulerich, S. J. Bursian, J. P. Ludwig, G. A. Dawson, T. J. Kubiak, D. A. Best, D. E. Tillitt. (1994) Contaminants in fishes from Great Lakes-Influenced sections and above dams of three Michigan rivers. II: Implications for health of mink.. *Arch. Environm. Contam. Toxicol* :27: 213-223.

Giger, W., M. Ahel, M. Koch, C. Laubscher, C. Schaffner, J. Schneider. (1987) Behaviour of alkylphenol-polyethoxylate surfactants and of nitriloacetate in sewage treatment. *Water Sci Technol* :19:449-460.

Gocmen, A., H.A. Peters, D.J. Cripps, G.T. Bryan, C.R. Morris. (1989) Hexachlorbenzene episode in Turkey. *Biomed Environ Sci* :2:36-43.

Goksøyr, A., L. Førlin. (1992) The cytochrome P-450 system in fish, aquatic toxicology and environmental monitoring. *Aquat Toxicol* :22:287-312.

Gray, L.E. (1992) Chemical-induced alterations of sexual differentiation: a review of effects in humans and rodents. In Colborn, T. and Clement, C. (eds) *Chemically-induced Alterations in Sexual and Functional Development: The Wildlife/Human Connection*. *Adv. Modern Environ. Toxicol.* :21:203-230.

Gray, T.J.B., S.D. Cangolli. (1986) Aspects of the testicular toxicity of phthalate esters. *Environmental Health Perspectives* :65:229-235.

Guillette, L.J.J. (1994) Endocrine-disrupting environmental contaminants and reproduction: lessons from the study of wildlife. *Women's Health Today: Perspectives on Current Research and Clinical Practice*. New York: Parthenon Publ. Group. pp 201- 207 .

Guillette, L.J.J. (1995) Endocrine disrupting environmental contaminants and developmental abnormalities in embryos. *J Human and Ecological Risk Assessment* :(in press)

Guillette, L.J.J., T.S. Gross, D.A. Gross, A.A. Rooney, H.F. Percival. (1995) Gonadal steroidogenesis in vitro from juvenile alligators obtained from contaminated or control lakes. *Environmental Health Perspectives*

Guillette, L.J.J., T.S. Gross, G.R. Masson, J.M. Matter, H.J. Percival, A.R. Woodward. (1994) Developmental abnormalities of the gonad and abnormal sex hormone concentrations in juvenile alligators from contaminated and control lakes in Florida. *Environmental Health Perspectives* :102:680-688.

Haake, J., M. Kelley, B. Keys, S.T. Safe. (1987) The effects of organochlorine pesticides as inducers of testosterone and benzo(a)pyrene hydroxylases. *Gen Pharmacol* :18:165-169.

Hayes, W.J. and E.R. Laws. (1991) *Handbook of pesticide toxicology*. San Diego, CA. Academic Press, Inc.

Henderson, B. E., R. K. Ross, M. C. Pike. (1982) *Cancer Res.* 42, 3232.

Henderson, B. E., R. Ross, L. Bernstein. (1988). *Cancer Res.* 48, 246.

Henderson, B.E., R.K. Ross, M.C. Pike. (1991) Toward the primary prevention of cancer. *Articles* :22:1131-1137.

Hess, R.A., B.J. Moore, J. Forrer, R.E. Linder, A.A. Abuel-Atta. (1991) The fungicide benomyl (methyl 1-(butylcarbamoyl)-2-benzimidazole-carbamate) causes testicular dysfunction by inducing the sloughing of germ cells and occlusion of efferent ductules. *Fund Appl Toxicol* :17:733-745.

Hose, J. E., J. N. Cross, S. G. Smith, D. Diehl (1989). Reproductive impairment in a fish inhabiting a contaminated coastal environment off of Southern California. *Environ. Pollut.* 57, 139-48

Huggett, R.J., M.A. Unger, P.F. Seligman, A.O. Valkirs. (1992) The marine biocide tributyltin: assessing and managing the environmental risks. *Environ Sci Technol* :26:232-237.

Johnson, L.L., E. Casillas, T.K. Collier, B.B. McCain, U. Varanasi. (1988) Contaminant effects on ovarian development in English sole *Paraphys vetulus*, from Pudget Sound, Washington. *Can J Fish and Aq Sci* :45:2133-2146.

Jukes, T.H., C.B. Shaffer. (1960) Antithyroid effects of aminotriazole. *Science* :132:296

Kniewald, J., M. Peruzovic, T. Babic-Gojmerac, K. Milkovic, Z. Kniewald (1987) Indirect influence of s-atrazies on rat gonadotrophic mechanism at early postnatal period. *J. Steroid Biochem.* : 27: 1095-1100.

Kuiper, J.(1982) The use of model ecosystemsfor the validation of screening tests for biodegradation and acute toxicity. The Netherlands. TNO, The Hague. Cl 82/01. p.1

Laisi, A., R. Tuominen, P. Mannisto, K. Savolainen, J. Mattila. (1985)The effect of maneb, zineb, and ethylenethiourea on the humoral activity of the pituitary-thyroid axis in rat. *Arch Toxicol* :8:253-258.

Laskey, J.W., E. Berman. (1993)steroidogenic assessement using ovary culture in cycling rats: Effects of bis(2-diethylhexyl)phtalate on ovarian steroid production. *Reprod Toxicol* :7:25-33.

Leatherland, J. F. (1992). Endocrine and reproductive function in Great Lakes salmon. In: Colborn, T. and Clement, C. (eds) *Chemically-induced Alteration in Sexual and Functional Development: The Wildlife/Human Connection*. *Adv.Modern Environ.Toxicol.* pp. 129-46.

Lloyd, S.C., P.M.D. Foster. (1988)Effect of mono-(2-ethylhexyl)phtalate on follicle-stimulating hormone responsiveness of cultured rat sertoli cells. *Toxicol Appl Pharmacol* :95:484-489.

Lopez-Martin, J.M., J. Ruiz-Olmo, S. Palazon-Minano. (1994) Organochlorine residue levels in the European mink (*Mustela lutreola*) in northern Spain. *Ambio* :23 (4-5) :294-295.

Mably, T.A., D.L. Bjerke, R.W. Moore, A. Gendron-Fitzpatrick, R.E. Peterson. (1992)In utero and lactational exposure of male rates to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin: 3. Effects on spermatogenesis and reproductive capacity. *Toxicol Appl Pharmacol* :114:118-126.

Mably, T.A., R.W. Moore, R.W. Goy, R.E. Peterson. (1992)In utero and lactational exposure of male rates to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin: 2. Effects on sexual behavior and the regulation of leuteinizing hormone secretion in adulthood. *Toxicol Appl Pharmacol* :114:108-117.

Mably, T.A., R.W. Moore, R.E. Peterson. (1992)In utero and lactational exposure of male rates to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin: 1. Effects on androgenic status. *Toxicol Appl Pharmacol* :114:97-107.

MacLachlan, J.A., R.R. Newbold, C.T. Teng, K.S. Korach. (1992)Environmental estrogens: orphan receptors and genetic imprinting. In: Colborn, T. and Clement, C. (eds) *Chemically-induced Alteration in Sexual and Functional Development: The Wildlife/Human Connection*. *Adv.Modern Environ.Toxicol.* :21:107-12.

Marcomini, A., Pavonim B., Sfriso, A. and Orio A. A. (1990). "Persistent Metabolites of Alkylphenol Polyethoxylates in the Marine Environment" *Mar. Chem.* 29: 307-323.

Marshall, E. (1993) Search for a killer : Focus shifts from fat to hormones. *Science* :259:618-621.

Mutti, A., P. Vescovi, M. Falzoi, G. Arfini, G. Valenti, I. Franchini. (1984)Neuroendocrine effects of styrene on occupationally exposed workers. *Scand J Work Environ Health* :10:225-228.

Naylor, G.C., J.P. Mierure, J.A. Weeks, R.J. Castaldi, R.R. Romano. (1992)Alkylphenol ethoxylates in the environment. *J Amer Oil Chem Soc* :69:695-703.

- Newbold, R. R., J. A. McLachlan (1985). Diethylstilbestrol associated effects in murine genital tract development. In J. A. McLachlan (ed.) *Estrogens in the Environment*, pp288-318. (New York: Elsevier).
- Parker, M.G. (1991) *Nuclear hormone receptors*. Academic Press, London.
- Pereira, J.J., J. Ziskowski, R. Mercaldo-Allen, C. Kuropat, D. Luedke, E. Gould. (1992) Vitellogenin in winter flounder from Long Island Sound and Boston Harbor. *Estuaries* :15:289-297.
- Porter, W.P., S.M. Green, N.L. Debbink, I. Carlson. (1993) Groundwater pesticides: interactive effects of low-level concentrations of carbamates, aldicarb, methomyl, and the triazine metribuzin on thyroxine and somatotropin levels in white rats. *J Toxicol Environ Health* :40:15-34.
- Pulliaainen, E., K. Korhonen, L. Kankaanranta, K. Maki (1992). Non-spawning burbot on the northern coast of the Bothnian Bay. *Ambio*, 21, 15-30
- Purdom, C.E., P.A. Hardiman, V.J. Bye, N.C. Eno, C.R. Tyler, J.P. Sumpter. (1994) Estrogenic effects of effluents from sewage treatment works. *Chemistry and Ecology* :8:275-285.
- Ratner, B.A., M.A. Ottinger. (1992) Reduced plasma LH concentration in quail exposed to the organophosphorous insecticide parathion. *J Steroid Biochem* :20:1568
- Reijnders, P.J.H. (1986) Reproductive failure in common seals feeding on fish from polluted coastal waters. *Nature* :324:456-457.
- Reijnders, P.J.H., S.M.J.M. Brasseur. (1992) Xenobiotic induced hormonal and associated developmental disorders in marine organisms and related effects in humans; An Overview. In: Colborn, T. and Clement, C. (eds) *Chemically-induced Alterations in Sexual and Functional Development: The Wildlife/Human Connection*. *Adv. Modern Environ. Toxicol.* :21:159-174.
- Sager, D.B., W. Shih-Scaroeider, D. Girand. (1987) Effect of early postnatal exposure to polychlorinated biphenyls (PCBs) on fertility in male rats. *Bull Environ Contam Toxicol* :38:946-953.
- Science. (1995) St. Louis meeting showcases "Creature Features". *Science* :267:330-331.
- Serrano, J., A.R. Shuldiner, C.T. Roberts, D. Le Roith, F. De Pablo. (1990) The insulin-like growth factor I (IGF-I) gene is expressed in chick embryos during early organogenesis. *Endocrinology* :127:1547-1549.
- SFT. (1994) *Forurensning i Norge 1994*. SFT TA-1079/1994 :58pp.
- Sharpe, R.M., N.E. Skakkebaek. (1993) Are oestrogens involved in falling sperm counts and disorders of the male reproductive tract? *The Lancet* :341:1392-1395.
- Simic, B., Z. Kniewald, J.E. Davies, J. Kniewald. (1991) Reversibility of the inhibitory effect of atrazine and lindane on cytosol 15 alpha-dihydrotestosterone-receptor complex formation in rat prostate. *Bull Environ Contam Toxicol* :46:92-99.
- Smith, A., D. Dinsdale, J. Cabral, A. Wright. (1987) Goitre and wasting induced in hamsters by hexachlorobenzene. *Arch Toxicol* :60:343-349.

Soto, A.M., T. Lin, H. Justicia, R.M. Silvia, C. Sonnenschein. (1992) An "In Culture" bioassay to assess the estrogenicity of xenobiotics (E-Screen). In: Colborn, T. and Clement, C. (eds) Chemically-induced Alterations in Sexual and Functional Development: The Wildlife/Human Connection. *Adv. Modern Environ. Toxicol.* :21:295-309.

Stephenson, M.D., D.R. Smith, J. Goetzl, G. Ichikawa, M. Martin. (1986) Growth abnormalities in mussels and oysters from areas with high levels of tributyltin in San Diego Bay. *Proc. Oceans* :86: 1246-1251.

Subramanian, A., S. Tanabe, R. Tatsukawa, S. Saito, N. Miyazaki. (1987) Reduction in the testosterone levels by PCBs and DDE in Dall's porpoises of northwestern North Pacific. *Mar. Poll. Bull.* :18: 643-646.

Sweetman, 1994. Development and Application of a Multi-residue Analytical Method for the Determination of n-Alkanes, Linear Alkylbenzenes, Polynuclear Aromatic Hydrocarbons and 4-Nonylphenol in Digested Sewage Sludges. *Wat. Res.* 28, (2), 343-353.

Thomas, K.B., T. Colborn. (1992) Organochlorine endocrine disruptors in human tissue. In: Colborn, T. and Clement, C. (eds) Chemically-induced Alterations in Sexual and Functional Development: The Wildlife Connection. *Adv. Modern Environ. Toxicol.* :21:365-394.

Thomas, P. (1988) Reproductive endocrine function in female Atlantic croaker exposed to pollutants. *Mar Environm* :24:179-183.

Thomas, P. (1990) Effects of Aerochlor 1254 and cadmium on reproductive endocrine function and ovarian growth in Atlantic croaker. *Mar Environm* :28:499-503.

Thyssen, B., P.L. Morris, M. Gatz, E. Bloch. (1990) The effect of mono(2-ethylhexyl)phthalate on sertoli cell transferrin secretion in vitro. *Toxicol Appl Pharmacol* :106:154-157.

Tilson, H.A., J.L. Jacobson, W.J. Rogan. (1990) Polychlorinated biphenyls and the developing nervous system: Cross-species comparisons. *Neurotoxicol Teratol* :12:239-248.

Tjälve, H. (1974) Fetal uptake and embryogenic effects of aminotriazole in mice. *Arch Toxicol* :33:41-48.

U.S.EPA. (1984) Guidance for the registration of pesticide products containing as the active ingredient Alachlor (090501). Washington DC: Office of Pesticide Programs, U.S. Environmental Protection Agency.

U.S.EPA. (1987) Guidance for the registration of pesticide products containing mancozeb as the active ingredients. Washington DC: Office of Pesticides and Toxic Substances, U.S. Environmental Protection Agency.

U.S.EPA. (1988) Guidance for the registration of pesticide products containing maneb as the active ingredient. Washington DC: Office of Pesticides and Toxic Substances, U.S. Environmental Protection Agency.

Van Velsen, F.L., L.H.J.C.F. Danse, F.X.R. Van Leeuwen, J.A.M.A. Dormans, M.J. Van Logten. (1986) The subchronic oral toxicity of the B-isomer of hexachlorocyclohexane in rats. *Fund Appl Toxicol* :6:697-712.



Voogt, P.A., P.J. Den Besten, G.C.M. Kusters, M.W.J. Messing. (1987) Effects of cadmium and zinc on steroid metabolism and steroid level in the sea star *Asterias rubens* L.. *Comp Biochem Physiol* :84B:83-89.

Wams, T.J. (1987) Diethylhexylphthalate as an environmental contaminant.- a review. *Sci Tot Environm* :66:1-16.

White, R., S. Jobling, S.A. Hoare, J.P. Sumpter, M.G. Parker. (1994) Environmentally persistent alkylphenolic compounds are estrogenic. *Endocrinology* :135:175-182.

Whitten, P.L. (1992) Chemical revolution to sexual revolution: Historical changes in human reproductive development. In: Colborn, T. and Clement, C. (eds) *Chemically-induced Alterations in Sexual and Functional Development: The Wildlife/Human Connection*. *Adv. Modern Environ. Toxicol.* :21:311-334.

Zoller, U. (1993) Groundwater contamination by detergents and polycyclic aromatic hydrocarbons-a global problem of organic contaminants: is the solution locally specific? *Water Sci. Technol* :27:187-194.

## 14. Vedlegg, Tabeller

Tabell 1 Organisasjonsmessige og antatt aktiviserende virkninger av miljøforstyrrende kjemikalier hos ville dyr <sup>a</sup> (Guillette, 1994).

Referanser: Leatherland, 1992 (72), Davis og Bortone, 1992 (75), Purdome et al. 1994 (76), Hose et al. 1989 (77), Bishop et al. 1991 (30), Guillette et al. 1994 (13), Fry og Toone, 1981 (52), Bowerman et al. 1991 (78), Biessman, 1982 (79), Subramanian et al. 1987 (80) og Beland et al. 1992 (81).

Species	Organizational Effect <sup>b</sup>	Activational Effect <sup>b</sup>	EDCs <sup>c</sup>	Refs
<b>Fish</b>				
Salmon	premature sexual maturity loss of sexual dimorphism ↑ embryo mortality	↓ fertility ↓ estradiol-17 $\beta$ ↓ dihydroxyprogesterone	PCBs, DDT, Dioxans, Furans metals	(72)
Mosquito-fish	?	masculinization of females: anal fin modifications, mating behavior	Kraft Mill effluent	(75)
Trout	?	↑ plasma vitellogenin (yolk protein) in males	Sewage Works effluent	(76)
White Croaker	↑ embryonic mortality	↓ fecundity & fertility ↑ ovarian follicular atresia	DDT	(77)
<b>Reptiles</b>				
Snapping Turtle	↑ embryonic deformities	?	PCBs Dioxin Furans	(30)
American Alligator	↓ testosterone (male); abnormal testicular cells ↑ estradiol-17 $\beta$ (female) ↑ polyovular follicles & polynuclear oocytes	poor quality eggs	DDE	(13)
<b>Birds</b>				
Western gulls	retained Müllerian ducts; abnormal gonadal morphology	female-female pair bonds; abnormal mating behavior	DDT, DDE	(52)
Bald Eagle	↑ embryonic mortality and deformities	↓ fertility	PCBs DDE dieldrin	(78)
Japanese quail	?	↓ Estradiol-17 $\beta$ prior to sexual maturation delayed oviposition; ↓ laying capacity	PCBs	(79)
<b>Mammals</b>				
Dall's porpoises	?	↓ plasma testosterone	p,p'-DDE	(80)
Beluga	?	↓ follicular activity mammary carcinoma	DDT, Mirex, PCBs	(81)

<sup>a</sup>Partial, representative listing only.

<sup>b</sup>As the mechanisms underlying many of these effects are unknown or under study, the phenomenon listed as activational may be due to a organizational effect not apparently obvious at birth.

<sup>c</sup>The contaminant(s) listed is that found to compose the greatest body burden in the animals studied.

Tabell 2. Unormaliteter i reproduksjonsorganene hos kvinner, laboratoriedyr og ville dyr som er forbundet med eksponering til miljøetterliknede eller -forstyrrende kjemikalier under den embryonale utviklingen. DES = diethylstilbestrol, DDT = 2,2-bis (p-klorfenyl)1,1,1,-triklor-etan, PAHs = polysykliske aromatiske hydrokarboner, TCDD = 2,3,7,8-tetraklordibenzo-p-dioksin. Dette er en delevis opplisting, der data er samlet fra utvalgte referanser (Colborn et al. 1990 (2), Colborn og Clement, 1992, (3) Gray, 1992 (5), Bern, 1992 (7), Newbold og McLachlan, 1985 (21) og Leatherland, 1992 (23)). (Fra Guillette, 1994).

<i>Effect</i>	<i>Human</i>		<i>Laboratory animal</i>		<i>Wildlife</i>	
Reproductive tract malformations	yes	DES	mouse rat hamster Western gulls	DES TCDD TCDD DDT	Western gulls herring gulls Baltic ringed seals	DDT DDT, DDE and PCBs PCBs
Polyovular ovarian follicles	yes	DES	mouse	DES	alligator	DDE and Dicofol
Polynuclear oocytes	?		mouse	DES	alligator	DDE and Dicofol
Paraovarian cysts	yes	DES	mouse	DES	?	
Polycystic ovary	yes	DDT				
Carcinoma	vagina mammary*	DES DDT	mouse (vagina, mammary)	DES	Beluga whale (mammary)*	DDT, PCBs, Mirex
Abnormal gonadotropin synthesis	?		rats quail	TCDD Parathion	?	
Abnormal steroid synthesis	yes	PCBs	rats primates	TCDD TCDD	quail salmon alligator	PCBs PCBs, DDT, TCDD and furans DDE and Dicofol
Irregular menstrual cycle	yes	PCBs	rats	DDT	?	
Persistent vaginal estrus		and	hamster	TCDD		
Irregular vaginal estrus		PCDFs	rats and mice	Chlordecone		
Oocyte destruction/atresia	?		mice chicken	PAHs DDT	white croaker	DDT
Endometriosis	?		Rhesus monkey	TCDD	?	
Sub- or infertility	yes	DES	mice hamster	DES TCDD	Beluga whale white croaker	DDT, PCBs and Mirex DDT

\*Correlative relationship only. †All relationships indicated are correlations between reproductive abnormalities and contaminants present in tissues or eggs at the greatest concentration

---

**NIVA**



**Norsk institutt for vannforskning**

Postboks 173 Kjelsås, 0411 Oslo

Telefon: 22 18 51 00 Fax: 22 18 52 00

ISBN 82-577-2763-6