



UPPSALA
UNIVERSITET

Hormonstörande ämnen

Anna Norder

Independent Project in Biology
Självständigt arbete i biologi, 15 hp, höstterminen 2009
Institutionen för biologisk grundutbildning, Uppsala universitet

Hormonstörande ämnen

Anna Norder

Självständigt arbete i biologi 2009

Sammanfattning

Det finns många miljögifter som kan göra skada i människan och miljön. En av de specifika grupperna som kan urskiljas är hormonstörande ämnen. Ett hormonstörande ämne är antingen ett enskilt ämne eller en blandning av ämnen som tillförts kroppen utifrån och som ändrar funktionen/funktioner i det endokrina systemet, vilket kan orsaka allvarlig skada i en organism. Syftet med den här uppsatsen är att ge en samlad bild av vad hormonstörande ämnen är och vilka effekter de kan ha.

Det endokrina systemet är i stort sett ett hormonbaserat system som till största del har till uppgift att upprätthålla homeostas i kroppen. De hormonnivåerna som det endokrina systemet programmeras att reagera på ställs oftast in i fosterstadiet. Om det finns för höga halter av ett hormon kan den bli fel programmerad, vilket i sin tur kan leda till skadliga effekter för en organism. Därför är det viktigt att ta med i beräkningen under vilken period i livet en organism blir utsatt för ett hormonstörande ämne, då responsen kan var olika.

Det har länge varit känt att det finns ämnen med hormonstörande egenskaper, bland annat visste man redan 1938 att bisfenol A och DES (dietylstilbestrol) hade östrogenliknande effekter. Det finns flera typer av hormonstörande ämnen, där de som främst blivit studerade är de som hämmar, som bisfenol A och DES, eller blockerar naturligt förekommande hormoner genom att binda till en receptor.

Det finns flera exempel från naturen där hormonstörande ämnen är den orsakande faktorn som till exempel vid äggskalsförtunning hos fåglar. Dessa fältstudier stöds i sin tur av en mängd laboratoriestudier som påvisar hormonstörande ämnens negativa inverkan.

Hormonstörande ämnen återfinns i en mängd olika produkter i allt från plastbehållare till smink. Det är därför viktigt att dessa ämnen uppmärksammas och att mer forskning görs, då vi ständigt exponeras av dessa i vår omgivning.

Inledning

”It was a spring without voices. On the mornings that had once throbbed with the dawn chorus of robins, catbirds, doves, jays, wrens, and scores of other bird voices there was now no sound; only silence lay over the fields and woods and marsh.”

I Rachel Carsons bok *Tyst vår* från 1962 (*Silent spring* 2002), inleder hon med att berätta om den imaginära staden där människor, djur och växter lever och frodas tillsammans, tills allt plötsligt förändras. Märkliga sjukdomssymtom dyker upp hos både människor och djur. En morgon är allt tyst, man kan inte längre höra kören av fåglar. Carson ville med detta påvisa effekterna av vad som i vis mån var och kunde bli verklighet i ett samhälle där vi förlitar oss allt mer på kemikalier. *Tyst vår* fick en enorm genomslagskraft och fick miljöfrågor att hamna på den politiska agendan. Idag vet vi att många av de kemikalier vi använder kan orsaka skada i människor och miljön. Ett problem är dock att vi ofta inte vet helt säkert vilka ämnen det är, eller framför allt exakt hur de verkar. I denna grupp hamnar hormonstörande ämnen. Ett hormonstörande ämne är ett ämne som på ett eller annat sätt ändrar hormonbalansen (Damstra

et al. 2002). Heath *et al.* (1969) gjorde redan i slutet av 60-talet kopplingen mellan det hormonstörande ämnet DDT och förtunnade äggskal, som kunde ses hos många fåglar i naturen. Trots att det är 40 år sedan den upptäckten gjordes, är det fortfarande inte helt klart hur DDT påverkar äggskalen. Det finns dock många hypoteser, där den troligaste är framlagd av Lundholm (1997). Det här visar på den problematik som finns hos många miljögifter och kanske hos hormonstörande ämnen i synnerhet. Att även om man ser en koppling mellan ett ämne och en viss effekt är verkningsmekanismen ofta helt eller delvis okänd. En annan del av problematiken är att ett ämne som till exempel DDT kan ge olika effekter hos olika djur. Rapporter från floridasjön Apopka visar på förändringar i hormonbalansen och morfologiska förändringar i sjöns alligatorer (Guillette *et al.* 1994). En av orsakerna till detta är förmodligen ett utsläpp av DDT som skett i sjön.

Syftet med den här uppsatsen är att ge en samlad bild av vad ett hormonstörande ämne är och vilka effekter de kan ha. Att beskriva några av de olika verkningsätt som är kända för hormonstörande ämnen. Många beteenden initieras av hormoner, vilket gör att de kan påverkas av hormonstörande ämnen som därmed kan ge beteendeförändringar. Det kommer därför även ligga en speciell fokus på hur hormonstörande ämnen kan påverka beteenden. De flesta ämnena är studerade i laboratorier, men för att se vilken effekt de kan ha på miljön kommer även observationer under naturliga förhållanden att finnas med.

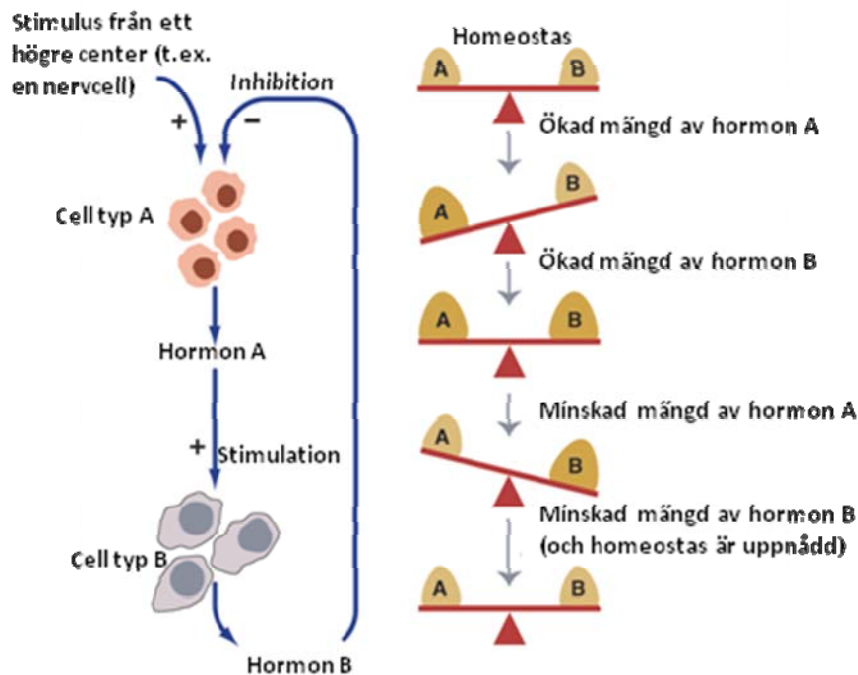
Endokrina systemet

Det systemet som framförallt påverkas av hormonstörande ämnen är det endokrina systemet. Under en lång tid var vår uppfattning om det endokrina systemet att det enbart bestod av hormonsekreterande körtlar som med hjälp av blodet transporterade hormoner till målorgan, det vill säga de organ som hormonerna är riktade mot. Där binder de till en receptor, varefter en kaskad av kedjereaktioner följer (Damstra *et al.* 2002). Numera inkluderar vår uppfattning av det endokrina systemet även andra ämnen som kan reglera organ, som till exempel neurohormoner. Neurohormoner fungerar på liknade sätt som hormoner, med den skillnaden att det är nervcellerna som utsöndrar dem till blodet (Damstra *et al.* 2002). Det endokrina systemet handlar om kommunikation och kontroll mellan olika kroppsdelar med hjälp av kemiska budbärare. Den största delen består av att upprätthålla homeostas, det vill säga en stabil inre miljö oberoende av yttre påfrestningar. Ett bra exempel är upprätthållandet av en jämn glukoshalt i blodet med hjälp av insulin. Variationen av insulin i blodet kan motverka att glukoshalten blir för låg eller för hög. För låg halt kan leda till medvetslöshet medan för hög halt skulle innebära att ovärderlig glukos går förlorad i urinen.

Det endokrina systemet består av många olika system som interagerar med alla delar av kroppen, som till exempel det respiratoriska-, nerv- samt hjärt- och kärlsystemet (Becker *et al.* 2001).

Det endokrina systemet regleras oftast av en så kallad vippbrädeprincip, vilket innebär att målcellerna sänder tillbaka information till de hormonproducerande cellerna (Figur 1). Det rör sig antingen om positiv- eller negativ-feedback, vilket i sin tur får de reglerande cellerna att antingen öka eller minska sitt hormonutsöndrande (Figur 1) (Darlington & Dallman 2001). Detta är dock en förenklad bild och visar endast hur ett endokrint system fungerar, i verkligheten kommunicerar de flesta endokrina system med varandra (Damstra *et al.* 2002). Detta leder till att de olika endokrina systemen påverkar varandra. Ett exempel på varför detta är viktigt är frågan om och när reproduktionen ska ske. För att ett djur ska kunna reproducera sig måste olika faktorer tas med i beräkningen som till exempel ålder, näringsintag och i

många fall även vilken årstid det är (Damstra *et al.* 2002). Allt detta regleras och ”kontrolleras” av olika endokrina system, som måste kommunicera med varandra för att öka chanserna för en lyckosam reproduktion.



Figur 1. Beskrivning av vippbrädemekanismen. Celltyp A utsöndrar hormon A, vilket stimulerar utsöndrandet av hormon B. Hormon B utövar en negativ-feedback på celltyp A och hämmar utsöndrandet av hormon A. På det här viset kan fluktuationer i utsöndrandet av hormon B minimeras och homeostas upprätthållas (se höger sida av figuren). Detta är en generell och förenklad bild av det endokrina systemet och i verkligheten är det många fler faktorer som spelar in (Omritad efter Damstra *et al.* 2002).

Programmering av det endokrina systemet

Balansen som finns i vippbrädemekanismen är mycket relevant för det endokrina systemets funktion och måste bli programmerad ”rätt” för att fungera korrekt. Programmering sker för de flesta endokrina system under den fetala/neonatala utvecklingen. Skulle ett fel ske i det här stadiet, på grund av onormala hormonnivåer, leder det till en felaktig programmering och att balansen blir felinställd (Welberg & Seckl 2001).

Ett exempel på detta är vad som kan hända med funktionen i hypotalamus hos honor. Den är programmerad att reagera på en gradvis ökning i östrogennivån, vilket via frisättning av hormonet LH leder fram till ägglossning. Programmeringen av hypotalamus sker perinatalt, vid tiden omkring födelsen, hos däggdjur. Om en hona blir utsatt för måttligt förhöjda nivåer av manliga könshormoner i det stadiet förhindras programmeringen, vilket senare i livet leder till infertilitet i och med att ägglossningen uteblir (anovulation) (Dohler 1991). Om en vuxen hona skulle bli utsatt för samma mängd hormoner skulle detta inte ändra programmeringen utan enbart tillfälligt avbryta ägglossningen (Damstra *et al.* 2002).

Med dessa fakta i åtanke finns det fem punkter som är viktiga att tänka på när det gäller hormonstörande ämnen.

1. Om man blir utsatt för hormonstörande ämnen i vuxen ålder kan kroppen kompensera för att upprätthålla homeostas, vilket kan innebära att inga påtagliga förändringar sker.

- Om exponeringen istället sker under den kritiska programmeringsperioden av det endokrina systemet, kan detta ge upphov till permanenta förändringar i hur responsen till ett hormon blir.
- Beroende på i vilket stadium i livet en organism befinner sig i eller till och med vilken årstid det är, kommer reaktionen vara olika på samma mängd hormonstörande ämnen.
- Då olika endokrina system interagerar med varandra kan det ske följd effekter i många olika system, trots att endast ett blivit påverkat från början.
- Med hänseende till de komplexa interaktionerna (nr. 4) kan det vara svårt att dra säkra slutsatser från experiment *in vitro* och överföra dem till situationer *in vivo*.

(Damstra *et al.* 2002)

Dosresponskurvor

Inom toxikologi används ofta dosresponskurvor för att beskriva förhållandet mellan den givna dosen och den biologiska responsen. I experiment används därför oftast olika koncentrationer av ett ämne, detta är viktigt vid fastställandet av hur toxiskt det är.

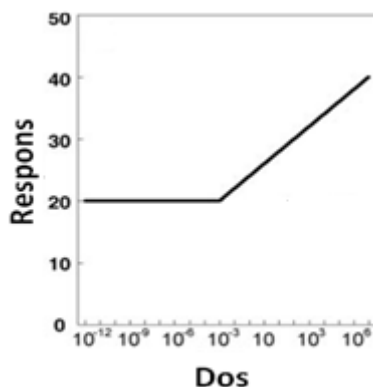
“Poison is in everything, and nothing is without poison. The dosage makes it either a poison or a remedy.”

Paracelsus 1493-1541

Detta är ett klassiskt citat inom toxikologin som ligger till stor grund för hur man ser på ämnen med troliga toxiska effekter. Huvudsatsen är att ju större dos desto större skada.

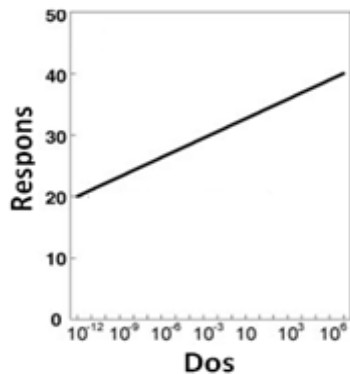
När det gäller hormonstörande ämnen är frågan om dosresponskurvor mycket omdiskuterad. En av anledningarna är att de ofta antingen hämmar eller blockerar naturligt förekommande hormoner (Damstra *et al.* 2002). Effekterna av låga doser kan därför vara svåra att avgöra, eftersom det redan finns hormoner i en fungerande fysiologisk koncentration.

För icke cancerogena ämnen använder man sig inom toxikologin oftast av dosresponskurvor med ett tröskelvärde (Figur 2). Doserna fram till tröskelvärdet anses som säkra och ska inte ge några negativa biologiska effekter. Tröskelvärdet uppskattas genom att man undersöker ett stort antal doser tills man får fram värdet på NOEL (No Observed Effect Level), den högsta dosen som inte ger någon effekt samt LOEL (Lowest Observed Effect Level), den lägsta dosen vilket ger effekt. Det är således emellan NOEL och LOEL som tröskelvärdet finns.



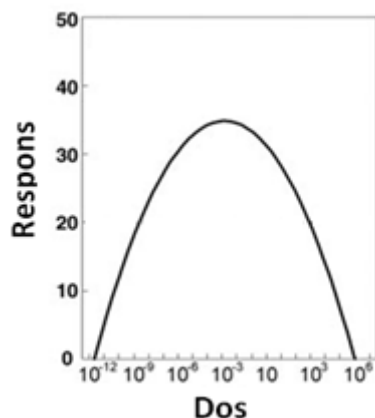
Figur 2. Dosresponskurva med ett tröskelvärde. Omritad efter Vandenberg *et al.* (2009).

För cancerogena ämnen använder man sig istället av en linjär dosresponskurva (Figur 3), där man tar med i beräkningen hur skadligt ämnet är vid olika doser och extrapolerar sedan detta till låga doser. Det är en monotonisk kurva då den ökar eller minskar över hela dosintervallet.



Figur 3. En linjär dosresponskurva. Omritad efter Vandenberg *et al.* (2009).

Det andra som gör dosresponskurvor omdiskuterad för hormonstörande ämnen är att det finns ytterligare en typ av dosresponskurva som är formad som ett U eller som ett inverterat U (Figur 4), icke-monotoniska kurvor. En U-formad kurva innebär att man ser effekter vid låga och höga doser, vilket nödvändigtvis inte behöver vara samma typ av effekter, medan det inverterade U:t innebär att de högsta effekterna ses däremellan (Conolly & Lutz 2004). För att upptäcka U-formade dosresponskurvor är det viktigt hur experimentet är utformat. Det är viktigt att använda doser långt under det redan etablerade LOAEL-värdet (Lowest Observed Adverse Effect Level), den lägsta dosen som har gett negativa effekter. Detta är dock något som inte är vanligt förekommande i experiment. Calabrese och Baldwin (2001) gjorde en metaanalys, där de kombinerade resultaten från 20 285 toxikologiska studier utförda mellan åren 1962 och 1998 för att ta reda på frekvensen av U-formade kurvor. De fann att endast 1 % av alla experiment hade en utformning som kunde visa ifall det var en U-formad dosresponskurva eller inte. De fick även fram att utav dessa 1 % hade hela 40 % klara tendenser som visade på att de skulle ha U-formade kurvor, vilket kan tyda på att det är mer vanligt än man tidigare trott. Ett hormonstörande ämne som verkar ha en U-formad dosresponskurva är bisfenol A, som har uppvisat olika effekter vid låga respektive höga doser (Richter *et al.* 2007).



Figur 4. Dosresponskurva formad som ett inverterat U. Omritad efter Vandenberg *et al.* (2009).

Olika effekter under olika perioder i livet

Under vilken tidsperiod i livet exponeringen för hormonstörande ämnen sker kan vara mycket kritisk för vilken effekt de kommer att ha. Till exempel kan ett hormonstörande ämne i en hjärna under utveckling ge beteendeförändringar, medan en liknande exponering av en fullt utvecklad hjärna kanske inte ger några effekter alls (Damstra *et al.* 2002). Ett välkänt exempel är hur dietylstilbestrol (DES) påverkar fostret, men inte modern. DES skrevs ut till gravida kvinnor främst under 1950-1960 för att motverka missfall (Figur 5). Det har senare visat att döttrarna till de kvinnor som använde DES har haft en högre frekvens av vaginalcancer (Herbst *et al.* 1971), medan det hos mödrarna inte visat sig finnas några liknande effekter.



Figur 5. Reklambild för dietylstilbestrol (DES) som användes för att motverka missfall. Omritad bild efter en reklam för DES av Grant Chemical Company, Brooklyn, NY, tryckt i American Journal of Obstetrics & Gynecology, 1957.

Det har också visat sig att dessa DES-döttrar har en signifikant högre frekvens av bröstcancer vid 40-års ålder eller högre, än kvinnor som inte blev utsatta av DES under fosterstadiet (Palmer *et al.* 2002).

Hormonstörande ämnen

IPCS, International Programme on Chemical Safety (Damstra *et al.* 2002), definierar ett hormonstörande ämne på följande vis: "Ett hormonstörande ämne är antingen ett enskilt ämne eller en blandning av ämnen som tillförts kroppen utifrån, som ändrar funktionen/funktioner i det endokrina systemet, vilket kan orsaka allvarlig skada i en organism, dess avkomma eller i hela populationen."

Störningen kan ske på olika sätt, men det som tros vara vanligast är att hormonstörande ämnen antingen binder till eller blockerar receptorer. Senare forskning har även visat att förändringar i andra funktioner, som hormonsyntes, transport och metabolism, kan vara minst lika viktiga (Damstra *et al.* 2002). Vanligtvis är dock själva mekanismen för hur hormonstörande ämnen verkar ofullständigt klarlagd, trots att man kan se en tydlig koppling mellan exponering och biologiska förändringar. Detta gör att det kan vara svårt att urskilja direkta och indirekta effekter. Trots att mycket kunskap saknas för hur hormonstörande ämnen påverkar det endokrina systemet, finns det ämnen vars verkningsätt är väl dokumenterade (Damstra *et al.* 2002).

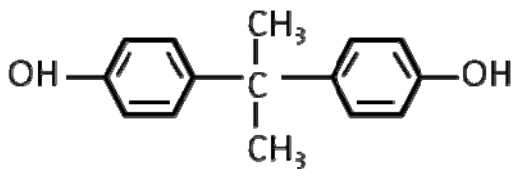
Östrogenliknande ämnen

Det har länge varit känt att det finns antropogena ämnen med östrogenliknande effekter. Redan 1938 visste man till exempel att DES och bisfenol A hade östrogenliknande effekter (Dodds & Lawsson 1938). Dessa ämnen är östrogenagonister, vilket innebär att de binder till östrogenreceptorn (ER= estrogen receptor) och efterliknar vanligt östrogen (Damstra *et al.*

2002). Många östrogenliknande ämnen har identifierats med hjälp av analyser *in vitro*. Det är undersökningar som visar till exempel bindning till ER, cellproliferering hos bröstcancer celler samt transkriptionsaktivering. Flera av dessa ämnen visar även på östrogena effekter *in vivo*, som bisfenol A och DES (Damstra *et al.* 2002).

Bisfenol A

Bisfenol A (BPA) (Figur 6) är med över 3 miljoner ton producerat varje år en av de mest producerade kemikalierna i hela världen (Vandenberg *et al.* 2009). BPA används bland annat som ett utgångsämne för framställning av plasterna polykarbonater och polysulfoner (KemI 2007a). Polykarbonater är plaster som är vanligt förekommande och används både i hemmen och inom industrin, främst på grund av att de är slagtåliga och sega. Dessutom är de temperaturtåliga och klarar av temperaturer mellan ca -40°C och ca +145°C (KemI 2007a). Det finns rapporter om att BPA läcker från dessa produkter bland annat från nappflaskor (Wong *et al.* 2005). Wong *et al.* (2005) påpekar dock att detta troligtvis inte är någon fara för nyfödda då nappflaskorna endast läckte stora mängder när de var utsatta för onormalt höga temperaturer under långa tider. Att BPA läcker mer när plasten utsatts för höga temperaturer är något man bör tänka på, speciellt när många förpackningar är gjorda för att användas i mikrovågsugn.



Figur 6. Den kemiska strukturen för bisfenol A. Omritad efter Vandenberg *et al.* (2009).

Det finns två typer av östrogenreceptorer, ER α och ER β . Undersökningar har visat att BPA både binder till ER α och ER β , men med en högre affinitet till ER β (Gould *et al.* 1998, Kuiper *et al.* 1998). Vilken receptor ett ämne binder till kan ge olika effekter (Patisaul & Bateman 2008).

Palanza *et al.* (2008) har sammanställt mycket av den forskning som har gjorts på hur exponering av BPA på modern påverkar avkommorna hos husmus (*Mus musculus domesticus*). Den mesta forskningen visar på att det sker in förändring i de utvecklande fostren som ger effekter upp i vuxen ålder. Bland annat kunde man se att när mössen utmanades att utforska en ny omgivning fanns det en signifikant skillnad i aktiviteten mellan könen i kontrollgruppen, medan skillnaden i den exponerade gruppen var borta. En annan effekt som också kunde ses var att honmössen fick ett förändrat mödrabeteende. Det fanns ingen skillnad i om exponeringen skedde i vuxen ålder eller under fosterstadiet, utan förändringar i mödrabeteende uppstod oavsett tidpunkten för exponeringen.

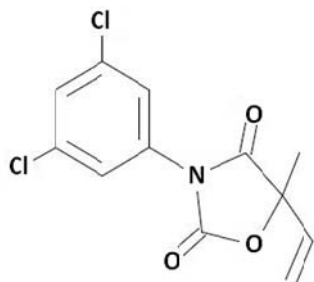
Blockare av androgenreceptor

Androgenreceptorn (AR) är en receptor som naturliga androgener, som till exempel testosteron, binder till. Ämnen som binder till receptorn, utan att efterlikna androgener, blockerar den därför för de naturliga hormonerna. Troligtvis finns det endast en variant av AR hos däggdjur (Quigley *et al.* 1995).

Vinklozolin

Vinklozolin är en fungicid som bland annat har används mot svampangrepp i växthusodlingar av tomat och gurka (KemI 1992). Det används inte längre i Sverige och det sista preparatet

förbjöds 1996 (KemI 2009). Det är en dicarboximid (Damstra *et al.* 2002) med följande strukturformel (Figur 7).

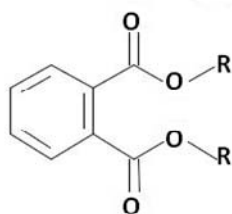


Figur 7. Den kemiska strukturformeln för vinklozolin. Omritad efter ESIS (2009).

Effekterna av vinklozolin är relativt väldokumenterade och man vet att det främst är metaboliterna M1 och M2 som blockerar AR (Kelce *et al.* 1994). M1 och M2 har visat sig ha förmåga att inhibera AR-beroende genuttryck både *in vitro* och *in vivo* och vinklozolin har i kastrerade subadulta testosteronbehandlade hanråttor visat sig inhibera funktionen hos androgenberoende vävnader (Damstra *et al.* 2002). I en studie exponerades gravida råttor för relativt låga doser varierande mellan 3 och 100 mg kg⁻¹ dag⁻¹ från dag 14 av graviditeten till 3 dagar efter födelsen. I samtliga grupper påvisades effekter av exponeringen. Effekterna var främst reducerat anogenitalt avstånd, (avståndet mellan anus och penisroten) och bibehållna bröstvärtor hos den hanliga avkomman. I de grupper som fick de högsta doserna, 50 respektive 100 mg kg⁻¹ dag⁻¹, observerades missbildningar av hanliga genitalia (Damstra *et al.* 2002).

Ftalater

Ftalater är ett samlingsnamn på en stor grupp av kemikalier som används som mjukgörare i polymerer som plast och gummi (KemI 2007b). De är billiga och tillämpningarna är många. De används främst tillsammans med PVC, men de återfinns även i golvbeläggningar, tapeter, folie och vävplaster (KemI 2007b). Ftalater är diestrar av orto-ftalsyra och består av en aromatisk ring och två sidokedjor (Figur 8).



Figur 8. Gemensam strukturformel för ftalater. Omritad efter KemI 2007b.

Den 16 januari 2007 trädde nya gemensamma EU regler i kraft i Sverige för de sex vanligaste ftalaterna. De tre farligaste ftalaterna di(etylhexylftalat) (DEHP), dibutylftalat (DBP) och butylbensylftalat (BBP) är nu totalt förbjudna i leksaker och barnvårdsartiklar. För de tre övriga diisononylftalat (DINP), diisodecylftalat (DIDP) och di-n-oktylftalat (DNOP) är det nu en hårdare reglering än tidigare och de är förbjudna i leksaker och barnvårdsartiklar som kan stoppas i munnen (KemI 2007c).

Ftalater kan förorsaka både östrogena och androgena effekter. De östrogena effekterna har dock endast påvisats *in vitro* med höga koncentrationer (Damstra *et al.* 2002). Detta tyder på att de effekter som man kan se av ftalater *in vivo* troligtvis endast är androgena.

En studie av Gray *et al.* (2000) visar att gravida råttor behandlade med $0,75 \text{ g kg}^{-1} \text{ dag}^{-1}$ BBP eller DEHP orsakade stora förändringar i genitalierna hos den hanliga avkomman. Det var bland annat en signifikant minskning av det anogenitala avståndet med 30 % vid 2 dagars ålder hos den hanliga avkomman, men inte den honliga, jämfört med obehandlade kullar.

Ftalater binder troligtvis inte till androgenreceptorn i däggdjur (människor eller råttor) (Damstra *et al.* 2002), trots tydliga antiandrogena effekter som missbildningar i androgenberoende vävnader. Även om verknings sättet för ftalater fortfarande är okänt, verkar det minska testosteronnivåerna hos foster (Gray *et al.* 2000).

Agonister till AhR (Aryl hydrocarbon receptor)

En del av de effekterna som AhR-agonister är ansvariga för, uppfyller inte tydligt kriterierna för vad som är hormonstörande. Det finns dock vissa effekter som är hormonstörande och då AhR-agonister är ett mycket välkänt exempel på hur miljögifter kan påverka kroppen, kommer dessa att tas upp. De mest välkända agonisterna till AhR är TCDD (dioxin), PCBer (polyklorerade bifenyler) och PCDFer (dibensofuraner), troligen är dock alla ämnen med en TCDD-liknande struktur möjliga agonister (Damstra *et al.* 2002).

AhR är inte en klassisk receptor utan ett proteinkomplex som finns i cytosolen i cellerna och som normalt är inaktiv (Damstra *et al.* 2002). Då en ligand som TCDD tar sig igenom cellväggen och binder till AhR-komplexet sätts en process igång, vilket till slut leder fram till gentranskription (Damstra *et al.* 2002). Liganden aktiverar AhR-komplexet, som där efter upplöses och de återstående delarna, inklusive TCDD, förflyttas in till cellkärnan. I cellkärnan binder det till AhR nuclear translocator (ARNT) (Hankinson 1995, Probst *et al.* 1993), vilket ger en ökning eller minskning i transkriptionen av de bestämda generna (Nebert *et al.* 1993, Schmidt & Bradfield 1996). Det är denna ökning eller minskning som är orsaken till de olika effekter som kan ses. Några av dessa effekter har studerats av Gray *et al.* (1997). De visade att hanråttor som exponerats *in utero* (i livmodern) för TCDD hade försenad pubertet, reducerad fertilitet och en reducerad vikt av reproduktionsorganen. Fostren exponerades på graviditetens 15:e dag för 0; 0,05; 0,20 eller 0,80 $\mu\text{g TCDD kg}^{-1}$. Endast vid den högsta dosen (0,80 $\mu\text{g TCDD kg}^{-1}$) var tillväxten reducerad. Tiden från födelsen till ögonens öppnande förkortades hos ungarna i alla dosgrupper. Det ejakulerade spermieantalet var reducerat med 45 % i den högsta dosgruppen och med 25 % i de grupper som exponerats för 0,05 eller 0,2 $\mu\text{g TCDD kg}^{-1}$. En förändring i det totala antalet spermier var däremot opåverkad i alla dosgrupperna (Gray *et al.* 1997).

Studier som visar på beteendeförändringar

Det finns många studier utförda i laboratorier som visar på hur hormonstörande ämnen påverkar djur. De som kommer tas upp här är de som påvisar beteendeförändringar.

Reproduktionsbeteende hos sandstubb (*Pomatoschistus minutus*)

Saaristo *et al.* (2009) utförde en studie på sandstubb (*Pomatoschistus minutus*), en liten fisk som lever i marint och bräckt vatten vid Nordeuropas kust. I studien utsattes endast hanar för det farmaceutiska östrogenet, etinyöstradiol (EE2). Valet av EE2 motiverades av att tämligen höga koncentrationer av detta ämne har uppmätts i miljön. De exponerade hanarna utsattes för

4 ng EE2 L⁻¹ under en period från 7 till 24 dagar, medan en kontrollgrupp hölls under samma förutsättningar dock endast i sjövattnen utan EE2. Saaristo *et al.* (2009) fann att de exponerade hanarna hade en klart reducerad möjlighet till lyckad reproduktion i konkurrens med icke exponerade hanar. Detta visade sig genom att de exponerade hanarna hade det svårare att skaffa sig bon och försvara dessa mot kontrollhanar. De exponerade hanarna spenderade mindre tid med uppvaktning, vilket gjorde att de ansågs mindre attraktiva av honorna. Detta gjorde att honorna valde att para sig med kontrollhanarna istället för de EE2-exponerade hanarna, vilka därmed fick en lägre reproduktionsframgång.

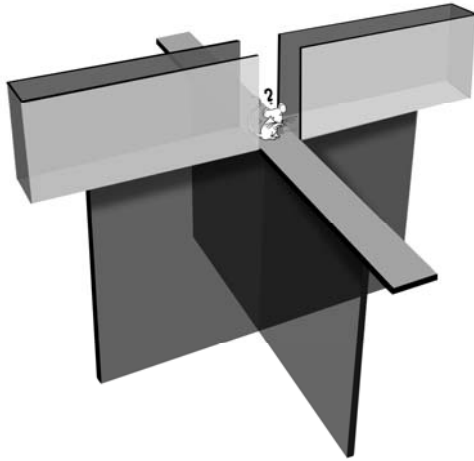
Sexuellt beteende hos råtta (*Rattus norvegicus*)

I en studie av Faass *et al.* (2009) undersöktes hur det sexuella beteendet hos Long Evans honrättor påverkades av två olika xenoöstrogener, som båda verkar via ER. De substanser de använde sig av var två UV-filter, 4-metylbenzylidene kamfer (4-MBC) och 3-benzylidene kamfer (3-BC), som bland annat används i kosmetika för att skydda huden mot UV-ljus. I human bröstmjölk har 4-MBC detekterats, vilket kan vara en potentiell exponeringsväg för barn. I studien av Faass *et al.* (2009) började man behandlingen med 4-MBC (7 eller 24 mg kg⁻¹ kroppsvikt dag⁻¹) eller 3-BC (2,4 eller 7 mg kg⁻¹ kroppsvikt dag⁻¹) till föräldragenerationen 10 dagar innan de parade sig och sedan under hela återstående graviditeten och digivningsperioden. Avkommorna exponerades även upp till vuxen ålder. När den honliga avkomman var 10-13 veckor gammal, observerades deras sexuella beteende i närvaro av en erfaren hanne. I jämförelse med en kontrollgrupp minskade parningsbeteendet hos alla behandlade honor. Honorna visade också ett aggressivt beteende mot hanarna, vilket inte kunde observeras hos kontrollhonorna.

Ångest och aggression hos råtta (*Rattus norvegicus*)

I en studie av Patisaul & Bateman (2008) var fokuset på hur hormonstörande ämnen, speciellt östrogenreceptoragonister påverkade ångest och aggression hos hanrättor. I experimentet användes det syntetiska ämnet BPA och den naturligt förekommande fytoöstrogenmetaboliten equol. Då det finns studier som visar att ångest och aggression kan förekomma som effekter av xenoöstrogener, fanns det ett speciellt fokus på att ta reda på om det var α - eller β -östrogenreceptorn (ER α eller ER β) som var inblandad. Detta innebar att man även använde specifika ER α - och ER β -agonister. Som specifik ER α -agonist användes PPT (1,3,5-tris(4-Hydroxyphenyl)-4-propyl-1H-pyrazole) och som ER β -agonist användes DPN (Diarylpropionitrile). Hanarna blev injicerade första gången under den första dagen efter att de fötts och injiceringen fortsatte sedan tre dagar till på liknande sätt.

Efter åtta veckor utfördes ångest- och aggressionstester, med hjälp av 'the elevated plus maze' och 'the resident intruder test'. The elevated plus maze består av en labyrint med fyra armar som sträcker sig ut från en mittpunkt, vilket formar ett plustecken (Figur 9). Armarna är 10 cm breda och 50 cm långa. Två av armarna saknar väggar, medan de andra har en 40 cm hög vägg på vardera sidan. I 'the resident intruder test' användes hanrättor (Wistar) med liknande vikt och längd som testrättorna.



Figur 9. The elevated plus maze som används för att testa ångest. Bilddesign Siri Johansson.

Det råttor som hade blivit behandlade med DPN, equol eller BPA, vistades signifikant kortare tid i de öppna armarna i labyrinten än vad opåverkade råttor gjorde. Det tyder på en större tendens till ångest. De som hade blivit behandlade med DPN eller equol visade också mer aggressivitet än kontrollråttor. Resultatet av detta visar att hanråttor som neonatalt blir exponerade för en ER β -agonist kan komma att visa beteendeförändringar som ökad ångest och aggression i vuxen ålder.

Effekter i naturen

Att studera effekterna av hormonstörande ämnen i naturen är inte helt enkelt. Några av anledningarna är att det kan vara svårt att avgöra exakt vad det är som orsakar förändringar och hur dessa sker. Nedan följer några fall där kopplingen mellan ett hormonstörande ämne och effekter i naturen är tydliga och några fall där kopplingen är mer osäker.

***p,p'*-DDE – äggskalsförtunning**

Äggskalsförtunning hos fåglar är kanske ett av de mest kända exemplen på hur ett hormonstörande ämne kan ge effekter i naturen. Att det förekommer äggskalsförtunning hos vissa fågelarter har varit dokumenterat sedan 1967 (Ratcliffe 1967). Redan i slutet av 60-talet gjordes kopplingen mellan användandet av DDT och förtunnade äggskal, bland annat genom undersökningar av Heath *et al.* (1969). Numera är det välkänt att fenomenet orsakas av DDT-metaboliten *p,p'*-DDE (Damstra *et al.* 2002). Däremot är det inte helt klart hur verkningsmekanismen ser ut. Det har framförts att äggskalsförtunningen endast skulle vara en bieffekt medan minskning i storleken av äggen skulle vara den verkliga orsaken (Moriarty *et al.* 1986). Mycket tyder dock på att det inte är fallet, vilket bland annat stöds av undersökningarna som Blus *et al.* (1997) gjort. De undersökte och jämförde ägg från sparvfalkar (*Falco sparverius*) som fått föda innehållande DDT eller DDE med ägg från sparvfalkar som inte fått en kontaminerad födda. De använde sig också av insamlade ägg från brun pelikan (*Pelecanus occidentalis*) från tidsperioderna innan 1946 och efter 1945, då DDT började användas och blev frekvent i miljön. De fann att både för brun pelikan och sparvfalk var förekomsten av DDE och frekvensen av äggskalsförtunning sammankopplade. De kunde däremot inte se något samband mellan DDE och äggens storlek, massa eller form.

p,p'-DDE orsakar inte äggskalsförtunning hos alla fåglar, vilket har gjort det möjligt att jämföra och försöka förstå hur mekanismen för äggskalsförtunning fungerar. Lundholm

(1997) har gjort jämförelser mellan ankor, där *p,p'*-DDE orsakar äggskalsförtunning och höns där *p,p'*-DDE inte orsakar någon äggskalsförtunning. Slutsatsen han drar är att *p,p'*-DDE inhiberar prostaglandinsyntesen, vilket leder till reducerade nivåer av prostaglandin E₂ och reducerat upptag av Ca i skalkörtels slemhinna, vilket innebär att äggskalen blir förtunnade.

Det kan poängteras att detta är en av de ledande hypoteserna för hur mekanismerna av äggskalsförtunning fungerar, men det finns även andra hypoteser.

Förändrat beteende hos gråtrut (*Larus argentatus*)

Observationer från de Stora sjöarna (The Great Lakes), vid den amerikansk-kanadensiska gränsen, har visat på onaturliga beteenden i kolonier av gråtrut (*Larus argentatus*) (Fox *et al.* 1978). Fox *et al.* (1978) fann att gråtrut vid en av de Stora sjöarna, Ontariosjön, hade ett onormalt föräldrabetende. Det visade sig bland annat i minskad tid i både hur länge de ruvade och försvarade sina bon. Då Ontarioområdets gråtrut var kraftigt kontaminerad av PCB och andra organiska klorföreningar (Gilman *et al.* 1977) och föräldrabetendet står under hormonell kontroll, antyder Fox *et al.* (1978) att fåglarna troligen var påverkade av ett hormonstörande ämne. Senare laboratoriestudier har bekräftat att det kan vara en trolig hypotes. En liknande komposition av miljögifter som återfanns i Ontarioområdet under 70-talet gavs till skrattduvor (*Streptopelia risoria*) i olika doser under en 90-dagars period (McArthur *et al.* 1983), vilket ledde till att duvorna visade onaturliga beteenden. Dieten gav upphov till förändringar i parningsbeteendet och osynkroniserade responser vid uppvaktningen mellan honorna och hannarna. De par som fått den högsta dosen spenderade minst tid med att mata sina ungar. McArthur *et al.* (1983) fann vidare att ungarna till de par som hade fått den högsta dosen vägde mindre och att det var en dos-relaterad minskning i antalet ungar som lämnade boet. Då förändringar i reproduktionsframgången kan ses i laboratoriestudier, kan hormonstörande ämnen troligtvis även förändra reproduktionsframgången hos individer och populationer i det vilda.

Populationsstudie över vitfotad mus (*Peromyscus leucopus*)

Batty *et al.* (1990) studerade två olika populationer av vitfotad mus (*Peromyscus leucopus*). Testpopulationen kom från ett område med höga PCB- och kadmiumkoncentrationer medan kontrollpopulationen var från ett ”rent” område. Det första de kunde konstatera var att mössen från det kontaminerade området hade halter mellan 0,42–4,17 ppm av PCB i kroppen, medan mössen från det icke förorenade området inte hade några halter av PCB eller så låga halter att de inte gick att upptäcka. Mössen från det förorenade området hade en signifikant lägre testikelvikt. Effekter på hela populationen kunde ses då andelen av juveniler och subadulter under sommaren ökade i kontrollpopulationen medan det i den kontaminerade populationen inte kunde ses någon sådan ökning. Även om kopplingen mellan miljögift och förändringarna är tydlig, är det inte helt klart vilket av de båda ämnena, PCB eller kadmium, som orsakade detta. Det är inte heller klart hur den exakta verkningsmekanismen för ämnet/ämnena är.

Apopka alligatorer

Apopka är en sjö i Florida som är kraftigt förorenad. Föroreningarna kommer främst från den höga jordbruksaktiviteten runtomkring i området, ett reningsverk tillhörande staden Winter Garden och ett stort utsläpp av pesticider från tidigare Tower Chemical Company (Guillette *et al.* 1994). Utsläppet av pesticider innehöll bland annat DDT och dess metaboliter DDD och DDE. Tower Chemical Company är registrerat som en EPA Superfund plats, vilket innebär att EPA (Environmental Protection Agency, U.S) har märkt ut platsen som kontaminerad av miljöfarligt avfall och kommer se till att området blir sanerat (EPA 2009a, EPA 2009b).

De främsta effekterna av att Apopka är en förorenad sjö är den nedsatta reproduktionsframgången bland sjöns alligatorer. Orsaken till detta har undersökts av Guillette *et al.* (1994) som gjort jämförelser mellan Apopka och den närliggande sjön Woodruff, som är tämligen fri från föroreningar. De fann att honalligatorer från Apopka hade två gånger så hög plasmakoncentration av östradiol, det könshormon som dominerar i honor, än honalligatorer från Woodruff vid en ålder på sex månader. Guillette *et al.* (1994) fann även att juvenila hanalligatorer från Apopka hade onormalt låga plasmakoncentrationer av testosteron, vilket liknade de halter som fanns hos honalligatorerna från Woodruff. De var dock tre gånger lägre än plasmakoncentrationerna av testosteron hos de hanliga alligatorerna från Woodruff. Både hon- och hanalligatorerna från Apopka hade morfologiska förändringar. Honorna hade onormala äggstockar med bland annat oocyter, omogna ägg, med flera cellkärnor. Hanarna hade förändringarna i testiklarna och onormalt små penisar. Genom att tillsätta LH (luteiniseringshormon), som framkallar ägglossning hos honor och bildandet av östrogener samt stimulerar bildningen av testosteron i testiklarna, kunde Guillette *et al.* (1994) ta reda på om förändringen var irreversibel. Tillförseln av LH saknade emellertid effekt, vilket tyder på att det är permanenta förändringar som har skett under fostrets utveckling i ägget. Undersökningen visade att alligatorerna i Apopka inte hade en normal könsmodnhet, vilket kan vara anledningen till den nedsatta reproduktionsframgången.

Andra effekter har också påvisats från Apopka. En studie av Lind *et al.* (2004) visar på en skillnad i bensammansättningen mellan juvenila honalligatorer från Apopka och Woodruff. Det fanns en signifikant skillnad mellan Apopka och Woodruff alligatorerna i det spongiösa benvävnadens benthäthet (BMD, bone mineral density) med en ökad BMD hos Apopka alligatorerna. Att benvävnader påverkas av könshormoner vet man sedan tidigare och med detta vill författarna påpeka att Apopka alligatorerna är utsatta av östrogenlika ämnen.

Diskussion

Det finns många ämnen som har hormonstörande effekter och det börjar bli allt mer tydligt att alla inte delar samma verkningsmekanism. De kan bland annat blockera den androgena receptorn (Kelce *et al.* 1994), binda till östrogenreceptorn (Gould *et al.* 1998, Kuiper *et al.* 1998) eller öka/minska transkriptionen av olika gener (Nebert *et al.* 1993, Schmidt & Bradfield 1996). Det de har gemensamt är att de ger en förändrad hormonbalans. Denna förändrade hormonbalans kan i sin tur ge upphov till olika effekter. Det kan vara allt från ett förändrat reproduktionsbeteende hos sandstubb (Saaristo *et al.* 2009), ett onormalt föräldrabeende hos gråtrut (Fox *et al.* 1978), ökad ångest och aggressivitet hos råttor (Patisaul & Bateman 2008) till äggskalsförtunnning hos sparvfalk (Blus *et al.* 1997). Detta är ett försök att få en samlad bild av hormonstörande ämnen och hur de påverkar oss och vår miljö. Trots att det finns mycket forskning i ämnet finns det fortfarande mycket som är höjt i dunkel och nya ämnen med hormonstörande effekter dyker ständigt upp. Vi omger oss med en mängd produkter, allt från plast till kosmetika, som innehåller hormonstörande ämnen, vilket medför en kontinuerlig exponering. Trots detta är det relativt oklart hur de direkt påverkar oss människor. Det är därför viktigt att ytterligare forskning görs i ämnet.

Det skulle kunna ses som om Carson (2002) imaginära stad har blivit verklighet. En verklighet som inkluderar fågelungar som krossats av sina föräldrar på grund av förtunnade äggskal (Heath *et al.* 1969), morfologiska förändringar hos hon- och hanalligatorerna (Guillette *et al.* 1994), aggressiva råttor (Patisaul & Bateman 2008) och döende fågelungar då föräldrarna har ett onormalt föräldrabeende (Fox *et al.* 1978). Detta är visserligen en verklighet som finns, men den går inte obemärkt förbi. Problemen uppmärksammas av

allmänheten och forskarvärlden. Det innebär att medvetenheten ökar om dessa substanser och förändringar samt förbjud mot hormonstörande ämnen kan införas. Allt detta är viktigt för att se till att vi aldrig ska få uppleva en tyst vår.

Tack

Tack till mina medstudenter Iwa Lee, Karolina Vikström och Kajsa Linder för hjälp under arbetets gång och till Katariina Kiviniemi Birgersson för vägledning. Ett stort tack till Siri Johansson för den underbara bilden av 'The elevated plus maze' och Jan Örberg för sina ovärderliga kommentarer på arbetet.

Referenser

- Batty J, Levitt RA, Biondi N, Polin D. 1990. An ecotoxicological study of the white footed mouse (*Peromyscus leucomus*) inhabiting a polychlorinated biphenyls-contaminated area. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* **19**: 283-290.
- Becker KL, Nylén ES, Snider RH Jr. 2001. Endocrinology and the endocrine patient. I: Becker KL (red.) Principles and practice of endocrinology and metabolism [Elektronisk resurs]. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, Pa.
- Blus LJ, Wiemeyer SN, Bunck CM. 1997. Clarification of effects of DDE on shell thickness, size, mass, and shape of avian eggs. *Environmental Pollution* **95**:67-74.
- Calabrese EJ, Baldwin LA. 2001. The frequency of U-shaped dose responses in the toxicological literature. *Toxicological Sciences* **62**: 330-338.
- Carson, R. 2002. A Fable for Tomorrow i Silent Spring. 1:a uppl. Mariner Books, USA.
- Conolly RB, Lutz WK. 2004. Nonmonotonic dose-response relationships: Mechanistic basis, kinetic modeling, and implications for risk assessment. *Toxicological Sciences* **77**: 151-157.
- Damstra T, Barlow S, Bergman Å, Kavlock R, Van Der Kraak G (red.). 2002. Global assessment of the state-of-the-science of endocrine disruptors. IPCS- International Program on Chemical Safety. WWW-dokument 2002: http://www.who.int/ipcs/publications/new_issues/endocrine_disruptors/en/. Hämtad 2009-10-29.
- Darlington DN & Dallman MF. 2001. Feedback control in endocrine systems. I: Becker KL (red.) Principles and practice of endocrinology and metabolism [Elektronisk resurs]. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, Pa.
- Dodds EC, Lawson W. 1938. Molecular structure in relation to oestrogenic activity. Compounds without a phenanthrene nucleus. *Proceedings of the Royal Society of London Series B- Biological Sciences* **125**:222-232.
- Dohler KD. 1991. The prenatal and postnatal influence of hormones and neurotransmitters on sexual-differentiation of the mammalian hypothalamus. *International Review of Cytology-a Survey of Cell Biology* **131**: 1-57.
- EPA 2009a, Environmental Protection Agency, WWW-dokument 2009-11-10: <http://www.epa.gov/region4/waste/npl/nplfls/towercfl.htm>. Hämtad 2009-12-04.
- EPA 2009b, Environmental Protection Agency, WWW-dokument 2009-07-17: <http://www.epa.gov/region4/waste/sf/aboutus.htm>. Hämtad 2009-12-04.
- ESIS, European chemical Substances Information System, WWW-dokument 2009: <http://ecb.jrc.ec.europa.eu/structure/50471448.jpg>. Hämtad 2009-12-13.
- Faass O, Schlumpf M, Reolon S, Henseler M, Maerkel K, Durrer S, Lichtensteiger W. 2009. Female sexual behavior, estrous cycle and gene expression in sexually dimorphic brain

- regions after pre- and postnatal exposure to endocrine active UV filters. *Neurotoxicology* **30**: 249-260.
- Fox GA, Gilman AP, Peakall DB, Anderka FW. 1978. Behavioral Abnormalities of Nesting Lake Ontario Herring Gulls. *The Journal of Wildlife Management* **42**: 477-483.
- Gilman AP, Fox GA, Peakall DB, Teeple SM, Carroll TR, Haymes GT. 1977. Reproductive parameters and contaminant levels of Great Lakes herring gulls. *The Journal of Wildlife Management* **41**: 458-468.
- Gould JC, Leonard LS, Maness SC, Wagner BL, Conner K, Zacharewski T, Safe S, McDonnell DP, Gaido KW. 1998. Bisphenol A interacts with the estrogen receptor alpha in a distinct manner from estradiol. *Molecular and cellular endocrinology* **142**: 203-214.
- Gray LE Jr, Ostby JS, Kelce WR. 1997. A dose-response analysis of the reproductive effects of a single gestational dose of 2,3,7,8 tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD) in male Long Evans hooded rat offspring. *Toxicology and Applied Pharmacology* **146**: 11-20.
- Gray LE Jr, Ostby JS, Furr J, Price M, Veeramachaneni DN, Parks L. 2000. Perinatal exposure to the phthalates DEHP, BBP and DINP, but not DEP, DMP or DOTP, alters sexual differentiation of the male rat. *Toxicological Sciences* **58**: 350-365.
- Guillette LJ Jr, Gross TS, Masson GR, Matter JM, Percival HF, Woodward AR. 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.
- Hankinson O. 1995. The aryl hydrocarbon receptor complex. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology* **35**:307-340.
- Heath RG, Spann JW, Kreitzer JF. 1969. Marked DDE impairment of mallard reproduction in controlled studies. *Nature* **224**: 47-48.
- Herbst AL, Ulfelder H, Poskanzer DC. 1971. Adenocarcinoma of the vagina - Association of maternal stilbestrol therapy with tumor appearance in young women. *New England Journal of Medicine* **284**: 878-81.
- Kelce WR, Monosson E, Gamcsik MP, Laws S, Gray LE Jr. 1994. Environmental hormone disruptors: Evidence that vinclozolin developmental toxicity is mediated by antiandrogenic metabolites. *Toxicology and Applied Pharmacology* **126**: 275-285.
- KemI 1992, Kemikalieinspektionen WWW-dokument 1992-01-02:
<http://apps.kemi.se/bkmregoff/InfoPreparat.cfm?PrepID=1662&PrepVer=1>. Hämtad 2009-12-13
- KemI 2007a, Kemikalieinspektionen WWW-dokument 2007-07-31:
http://apps.kemi.se/flodessok/floden/kemamne/bisfenol_a.htm. Hämtad 2009-12-13.
- KemI 2007b, Kemikalieinspektionen WWW-dokument 2007-07-31:
<http://apps.kemi.se/flodessok/floden/kemamne/ftalater.htm>. Hämtad 2009-12-13.
- KemI 2007c, Kemikalieinspektionen WWW-dokument 2007-01-26:
<http://www.kemi.se/templates/PRIOPage.aspx?id=4092>. Hämtad 2009-12-13.
- KemI 2009, Kemikalieinspektionen WWW-dokument 2009-12-12:
<http://apps.kemi.se/bkmregoff/InfoAmnen.cfm?AmnID=243&visa=ja&sokval=CAS>. Hämtad 2009-12-13.
- Kuiper GGJM, Lemmen JG, Carlsson B, Corton JC, Safe SH, van der Saag PT, van der Burg P, Gustafsson JA. 1998. Interaction of estrogenic chemicals and phytoestrogens with estrogen receptor beta. *Endocrinology* **139**: 4252-4263
- Lind PM, Milnes MR, Lundberg R, Bermudez D, Örborg J, Guillette LJ Jr. 2004. Abnormal Bone Composition in Female Juvenile American Alligators from a Pesticide-Polluted Lake (Lake Apopka, Florida). *Environmental Health Perspectives* **112**: 359-362.

- Lundholm CE. 1997. DDE-induced eggshell thinning in birds: Effects of p,p'-DDE on the calcium and prostaglandin metabolism of the eggshell gland. *Comparative Biochemistry and Physiology C-Toxicology & Pharmacology* **118**: 113-128.
- McArthur M LB, Fox G A, Peakall DB, Philogène BJR. 1983. Ecological Significance of Behavioral and Hormonal Abnormalities in Breeding Ring Doves Fed an Organochlorine Chemical Mixture. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* **12**: 343-353.
- Moriarty F, Bell AA, Hanson H. 1986. Does p,p'-DDE thin eggshells? *Environmental Pollution Series a-Ecological and Biological* **40**: 257-286.
- Nebert DW, Puga A & Vasilou V. 1993. Role of the Ah receptor and the dioxin-inducible [Ah] gene battery in toxicity, cancer, and signal transduction. *The New York Academy of Sciences* **685**:624-640.
- Palanza P, Gioiosa L, vom Saal FS, Parmigiani S. 2008. Effects of developmental exposure to bisphenol A on brain and behavior in mice. *Environmental research* **108**: 150-157.
- Palmer JR, Hatch EE, Rosenberg CL, Hartge P, Kaufman RH, Titus-Ernstoff L, Noller KL, Herbst AL, Rao RS, Troisi R, Colton T, Hoover RN. 2002. Risk of breast cancer in women exposed to diethylstilbestrol in utero: preliminary results (United States). *Cancer Causes and Control* **13**:753-758.
- Patisaul HB, Bateman HL. 2008. Neonatal exposure to endocrine active compounds or an ER agonist increases adult anxiety and aggression in gonadally intact male rats. *Hormones and Behavior* **53**: 580-588.
- Probst MR, Reisz-Porszasz S, Agbunag RV, Ong MS, Hankinson O. 1993. Role of the aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator protein in aryl hydrocarbon (dioxin) receptor action. *Molecular Pharmacology* **44**:511-518.
- Quigley CA, De Bellis A, Marschke KB, el-Awady MK, Wilson EM, French FS. 1995. Androgen receptor defects: historical, clinical, and molecular perspectives. *Endocrine Reviews* **16**: 271-321.
- Ratcliffe D A. 1967. Decrease in eggshell weight in certain birds of prey. *Nature* **215**:208-210.
- Richter CA, Birnbaum LS, Farabollini F, Newbold RR, Rubin BS, Talsness CE, Vandenberg JG, Walser-Kuntz DR, vom Saal FSV. 2007. In vivo effects of bisphenol A in laboratory rodent studies. *Reproductive Toxicology* **24**: 199-224.
- Saaristo M, Craft JA, Lehtonen KK, Lindström K. 2009. Sand goby (*Pomatoschistus minutus*) males exposed to an endocrine disrupting chemical fail in nest and mate competition. *Hormones and Behavior* **56**: 315-21.
- Schmidt JV, Bradfield CA. 1996. Ah receptor signaling pathways. *Annual Review of Cell and Developmental Biology* **12**:55-89.
- Vandenberg LN, Maffini MV, Sonnenschein C, Rubin BS, Soto AM. 2009. Bisphenol-A and the Great Divide: A Review of Controversies in the Field of Endocrine Disruption. *Endocrine Reviews* **30**: 75-95.
- Welberg LAM, Seckl JR. 2001. Prenatal stress, glucocorticoids and the programming of the brain. *Journal of Neuroendocrinology* **13**: 113-128.
- Wong KO, Leo LW, Seah HL. 2005. Dietary exposure assessment of infants to bisphenol A from the use of polycarbonate baby milk bottles. *Food Additives & Contaminants* **22**: 280-8.