

Rapporten är beställd av Region Stockholm. Citera gärna innehållet i rapporten men uppge alltid källan. Även kopiering av sidor i rapporten är tillåtet förutsatt att källan anges och att spridning inte sker i kommersiellt syfte. Återgivning av bilder, foto, figurer och tabeller (digitalt eller analogt) är inte tillåtet utan särskilt medgivande. Slutsatserna i rapporten är konsultens egna och speglar inte nödvändigtvis Region Stockholms uppfattning.

Östrogener och gestagener: jämförande miljöriskbedömning



2024-12-12

Bakgrund till rapporten

På uppdrag av Region Stockholm utförde Goodpoint 2023 en systematisk prioritering av aktiva läkemedelssubstanser inför kommande fördjupade miljöriskbedömningar. Prioriteringen baserades såväl på predikterade som uppmätta halter av olika läkemedel i miljön, samt på effektnivåer från kontrollerade labbförsök, alternativt på fiskplasmamodellen. Utifrån denna prioritering föll flera östrogener ut bland de högst prioriterade substanserna. Då östrogen ofta ges i kombination med gestagen (som också kan ha en hög miljörisk) beslutades att en gemensam riskbedömning för behandlingar med östrogen och/eller gestagen var högst prioriterad. En tidigare bedömning av miljörisken kring gestagena substanser utfördes av Goodpoint 2017 och även för ulipristal. Stora delar av det underlaget är inkorporerat och uppdaterat i denna rapport och ersätter därmed tidigare bedömningar.

Syfte och avgränsningar

Syftet med rapporten är att presentera en övergripande, jämförande bedömning för de behandlingsalternativ som rekommenderas för alla indikationer under terapiområde gynekologi och obstetrik i 2024 års Kloka lista som innehåller antingen östrogener eller gestagener¹. Miljörisker kopplade till användning inom andra terapiområden (såsom onkologi) omfattas ej. Därutöver har en bedömning av antikontceptionsprodukter med estetrol (som inte är inkluderat i 2024 års Kloka lista) genomförts i relation till alternativ hormonell antikonception av kombinationstyp som anges i Kloka listan. Ingen jämförelse har gjorts mot behandlingsalternativ som inte innehåller östrogener eller gestagener.

Riskbedömningen syftar inte till att bedöma absolut eller kvantitativ risk (som t ex starkt beror av spädning i olika recipienter) utan är primärt av jämförande karaktär – dvs en rankning av risken mellan olika behandlingsalternativ. I så måtto är det inte heller en riskbedömning baserad strikt på dagens användning av olika substanser (och därmed exponeringsgrad i miljön) utan snarare en bedömning om risken skulle öka eller minska om man ändrar förskrivningen av en substans/administrationsform (och möjligen dosering) till en annan (vilket är den primära miljöriskreducerande åtgärden som hälsosektorn har rådighet över).

Bedömningen är en expertbedömning med syfte att sammanväga olika typer av evidens, och följer därför inte en strikt riskbedömningsmall baserad på exponering och effektnivåer (såsom den obligatoriska miljöriskbedömningen vid registrering av nya läkemedel i EU). Dessutom görs i många fall en jämförande bedömning av kombinationer av substanser och/eller administrationsformer mot varandra, inklusive situationer där en minskad risk kopplad till en komponent måste vägas mot en ökad risk kopplad till en annan. Med få undantag är dessutom beslutsunderlag kring exponerings- och effektnivåer för olika substanser varierande och inte rakt av jämförbara. Med sådana bedömningar följer därför också med nödvändighet en viss grad av subjektivitet.

Då den vetenskapliga litteraturen kring steroidhormoner i miljön och deras potentiella miljöpåverkan är exceptionellt omfattande kan ingen heltäckande bild av kunskapsläget ges inom ramen för detta uppdrag. Det är därför fullt möjligt att rapporter eller aspekter som

¹ Gestagener syftar vanligen på syntetiska hormoner som efterliknar effekten av det naturligt producerade hormonet progesteron. I denna rapport syftar gestagener både på syntetiska hormoner och progesteron.

skulle kunna förändrat bedömningen kan ha förbisetts. Fokus ligger på risker för fisk, vilket motiveras längre fram.

Bedömningen omfattar inte några kliniska överväganden kring risk eller nytta för patienten. Bedömningen omfattar heller inte ekonomiska överväganden.

Goodpoint har inga jäv att redovisa som skulle kunna påverka bedömningen.

Bedömda substanser

I Kloka listan 2024 listas under terapiområde gynekologi 10 gestagener (inkluderat ulipristal) och tre östrogener. Försäljningsdata för Riket under 2023 för dessa samt estetrol redovisas i tabell 1, dels i gram, dels i antal DDD. Dessutom redovisas motsvarande predikterade miljökoncentration (PEC) baserad på den europeiska läkemedelsmyndighetens (European Medicines Agency, EMA) schablonberäkning (100% exkretion, ingen avskiljning/reduktion i avloppsreningsverk, 200 L vatten per person och utspädning i recipient 10 ggr). Skillnader i försäljning per capita är måttlig (skillnad mindre än 1,5 ggr) mellan Stockholm och Riket för alla substanser, varför endast data för Riket redovisas. Tabellen redovisar även olika farmakologiska egenskaper för de olika substanserna inklusive bindning till androgenreceptorer (AR) och könshormonbindande globulin (sex-hormone binding globulin, SHBG) samt fettlöslighet (logP). Betydelsen av dessa för miljörisk diskuteras längre fram i rapporten.

Tabell 1. Bedömda substanser, försäljning och egenskaper

derivat av:	aktiv substans	försäljning 2023 (g)	försäljning (#DDD)	"DDD" µg (medel ^a)	PEC (ng/L)	human AR- agonist	bindning till fisk AR	SHBG affinitet	logP
	etinyloestradiol (EE2) ^b	2 171	75 491 220	29	0,3	nej	nej	stark	3,67-4,52
	estradiol (E2) ^{c,d}	46 576	61 009 009	763	6,0	nej	nej	stark	3,62-4,13
	estriol (E3) ^c	9 163	41 711 443	220	1,2	nej	nej	svag	2,45-2,94
	estetrol (E4) ^c	5 127	421 260	12 171	0,7	nej	nej	svag	1,87-2,21
testosteron	levonorgestrel	8 410	36 394 404	231	1,1	ja	stark	stark	3,32-3,92
testosteron	noretisteron ^e	13 992	16 330 906	857	1,8	ja	stark	stark	2,97-3,38
testosteron	desogestrel ^f	3 676	48 677 379	76	0,5	svag ^f	stark ^f	stark ^f	5,65-6,59 ^f
testosteron	etonogestrel	3 734	32 583 000	115	0,5	svag	stark	stark	3,16-4,22
testosteron	dienogest	22 097	405 748	54 461	2,9	nej ^g	data saknas	svag	1,96-2,64
spironolakton	drospirenon	109 733	42 215 208	2 599	14,2	nej ^g	nej	svag	3,15-4,71
progesteron	medroxiprogesteronacetat	76 390	18 314 830	4 171	9,9	nej	nej	svag	4,04-4,11
progesteron	progesteron ^c	712 948	8 057 299	88 485	92,6	nej	svag	svag	3,67-4,04
progesteron	nomegestrolacetat	3 289	1 731 492	1 899	0,4	nej	data saknas	svag	3,34-3,55
progesteron	ulipristalacetat	1 567	65 192	24 042	0,2	nej	data saknas	svag	4,39-5,07
testosteron	mifepriston	8 938	44 688	200 009	1,2	nej ^g	data saknas	svag	4,88-5,33

AR=androgenreceptor, SHBG=sex hormone binding globuline, logP=fettlöslighet,
 DDD=defined daily doses, PEC=predicted environmental concentration
^aej DDD från WHO utan uträknat mått från försäljning (g) delat med försälda antal DDD under 2023
^b0,4-1% av noretisteron metaboliseras i kroppen till EE2, därför kan 0,07-0,18ng/L adderas till PEC för EE2
^cproduceras även (huvudsakligen) naturligt i kroppen (E4 enbart av foster/nyfödda)
^dförsäljning inkluderar estradiol, estradiolvalerat och estradiolhemihydrat
^eadministreras som noretisteronacetat, vilket omvandlas snabbt i kroppen till aktivt noretisteron
^fprodrug till etonogestrel, riskbedöms som etonogestrel (summera PEC)

Medroxiprogesteronacetat, nomegestrolacetat och ulipristalacetat benämns vanligen förenklat som medroxiprogesteron, nomegestrol och ulipristal, så även i denna text. De senare är dock i strikt mening andra, snarlika molekyler, vilka endast återfinns i mycket marginell utsträckning som exkretionsprodukter. Det är således acetatformerna av dessa substanser

som är miljöriskbedömda. Noretisteronacetat benämns också ofta förenklat som noretisteron på motsvarande sätt. Noretisteronacetat metaboliseras dock snabbt i kroppen till aktivt noretisteron, varför riskbedömningen åsyftar noretisteron (utan acetat).

Östrogener – effekter

Forskning som inleddes under 90-talet visade att östrogen kan feminisera fisk nedströms kommunala avloppsreningsverk, med konsekvenser för fiskarnas fortplantningsförmåga (Jobling et al., 1998; Larsson et al., 1999). Denna insikt bidrog starkt till ett växande intresse och bredare fokus kring läkemedel i miljön globalt. Det finns åtskilliga läkemedel där en miljörisk är påvisad (dvs där uppmätta eller beräknade halter i miljön/biota är nära eller överstiger de halter som i kontrollerade labbexperiment ger upphov till olika typer av oönskade effekter). För östrogen finns dessutom stark evidens från fältobservationer, dvs man har i många fall kunnat observera relativt specifika förändringar i vilda (eller burhållna) fiskar som kan kopplas just till stimulering av östrogenreceptorer. Dessa specifika förändringar omfattar intersex (olika grad och stadier av ägganlag i hanfiskar), missbildade äggledare, samt syntes av ägguleprotein (vitellogenin) och äggskalsproteiner i hanfiskar, proteiner som lätt kan mätas i blodprover. Dessutom finns forskning som visar att de fiskar som utvecklats intersex också har nedsatt fortplantningsförmåga. Motsvarande stark evidens från fältobservationer finns även för diklofenak (letala njurskador hos gamar) och antibiotika (selektion av resistent bakterier i miljön).

Fenomenet med östrogenpåverkade fiskar är bäst studerat i Storbritannien. Trots att riskerna uppmärksammas i flera årtionden och avloppsreningen generellt utvecklats under denna tid kan man fortfarande observera typiska östrogena effekter, inklusive intersex, hos avloppsexponerade fiskbestånd i Storbritannien (Baynes et al., 2023). I Sverige är fältstudier som dokumenterar östrogena effekter i stort sett begränsade till vitellogenin-induktion, och ingen storskalig studie av intersex hos fisk nedströms kommunala avloppsreningsverk har genomförts. En aktuell bild av kunskapsläget kring hur svenskt avloppsvatten påverkar fisk ges i en nyligen publicerad systematisk översikt av Forskningsrådet FORMAS (FORMAS, 2022).

Det är dock omöjligt att enbart utifrån studerade effekter i miljön identifiera exakt vilken östrogenmolekyl som är orsaken, då effektbildningen av olika östrogener är mycket snarlika. Utöver en handfull östrogener som steroidhormoner, som används frekvent som läkemedel, varav flera också produceras naturligt i människokroppen (och av t ex fisk), finns det också en uppsjö med kemikalier som inte är steroidhormoner men som ändå har potential att vid (betydligt) högre halter stimulera östrogenreceptorer, t ex nonylfenol och bisfenol A. När man tar hänsyn till uppmätta halter av olika östrogena substanser i avloppsvatten/nedströms kommunala avloppsreningsverk och jämför med substansernas östrogenicitet är dock evidensen klart störst för att det är steroidhormoner som huvudsakligen orsakar observerade östrogena effekter i fisk.

Ju mer studerad en substans är, desto större är risken att det finns litteratur av tveksam kvalitet som rapporterar låga effektnivåer med resultat som ofta inte är repeterbara. För östrogener, som sannolikt är de mest studerade av alla läkemedel i miljön, finns många sådana studier, och dessa har också ifrågasatts på goda grunder, inklusive brister avseende

repetierbarhet, mekanistisk rimlighet och försöksdesign. Framför allt finns en mängd studier som rapporterar effekter av låga halter av östrogen i många ryggradslösa djur, som av allt att döma saknar funktionella östrogenreceptorer (Fodor et al., 2020). Även om det inte är uteslutet att östrogen skulle kunna ha effekter via andra receptorer visar litteraturen överlag att vattenlevande ryggradsdjur är mycket känsligare för östrogen än ryggradslösa djur, och möjliga effekter på andra djurgrupper har inte beaktats i denna rapport.

Olika östrogener – jämförelse av potens i fisk

Det mest potenta östrogenet för fisk är den syntetiska substansen etinylestradiol (EE2). Dess effekter på fisk har studerats i många hundra, om inte tusentals vetenskapliga studier som det av resursskäl inte finns möjlighet att gå igenom i denna rapport. I välgjorda studier finner man vanligen effekter på såväl reproduktion som vitellogenin-induktion kring ca 1 ng/L med en variation mellan ca 0,1 ng/L till 10 ng/L. Under terapiområde gynekologi och obstetrik i Kloka listan (2024) återfinns även estradiol (E2) och estriol (E3) som båda också produceras naturligt i kroppen, primärt hos kvinnor. Dessa, och en tredje naturligt förekommande östrogen (östron – E1), är snarlika och kan i viss utsträckning omvandlas till varandra i människokroppen, i miljön och i fisk. Även om E1 ibland används som läkemedel (mot klimakteriebesvär) är inga läkemedel med E1 rekommenderade i Kloka listan och är därför inte riskbedömt. Det finns inga läkemedel med E1 registrerade i Sverige, men det finns sannolikt ändå en viss exponering för E1 i miljön till följd av naturlig produktion hos kvinnor samt p g a omvandling från E2 och E3 i olika läkemedel.

Potensen i fisk skiljer sig mellan olika steroidöstrogener. Thorpe och medarbetare (Thorpe et al., 2003) jämförde potensen hos EE2, E1 och E2 m a p vitellogenin-induktion i regnbåge (*Onchorhynchus mykiss*) i mycket väl designade försök. Baserat på EC₅₀-värden (som utnyttjar data över flera exponeringskoncentrationer) var EE2 11–27 gånger mer potent än E2, och E2 i sin tur mellan 2,3 och 3,2 gånger mer potent än E1. Effekter av E3 i fisk är mindre studerade än E2 och EE2. En artikel som sammanställde ett stort antal studier med såväl reproduktiva endpoint som vitellogenin-induktion placerar E3 som mindre potent i fisk än övriga östrogener. De föreslår PNEC (predicted no effect concentrations) enligt följande: EE2: 0,1 ng/L; E2: 2 ng/L; E1: 6 ng/L; E3: 60 ng/L (Caldwell et al., 2012).

En mer nyttillkommen östrogen bland läkemedel är estetrol (E4) som används i kombination med gestagenet drospirenon i antikonceptionsmedel av kombinationstyp. Estetrol produceras naturligt men enbart i levern hos foster, och hormonets naturliga fysiologiska funktion är fortfarande okänd. En jämförande studie av hur EE2 och E4 påverkar reproduktion i zebrafisk (*Danio rerio*) visade att E4 var åtminstone 3 200 gånger mindre potent m a p att påverka äggproduktion (ingen effekt av högsta testade koncentration, 32 µg/L). För vitellogenin-induktion i hanfisk var LOEC (Lowest Observed Effect Concentration) 32 µg/L för E4 och 10 ng för EE2, dvs 3 200 gånger skillnad i demonstrerad potens (Baekelandt et al., 2023). Nivåerna av vitellogenin efter exponering för 32 µg/L E4 var samtidigt betydligt lägre än efter exponering för 10 ng EE2, vilket tyder på att skillnaden i potens antagligen är större än 3 200 gånger men antagligen mindre än 32 000 gånger. E4 har lägre affinitet än EE2 till östrogenreceptorer, men en sannolikt ännu viktigare anledning till den stora skillnaden i potens i fisk är antagligen att E4 är betydligt mindre fettlösligt (logP 1,87–2,21) än EE2 (3,67–

4,52; data från chemspider.com) och biokoncentrerar därmed sannolikt betydligt sämre. I motsats till EE2 binder dessutom inte E4 till sex hormone binding globulin (SHBG) som tros spela en roll för effektiv biokoncentration av såväl östrogener som gestagener (Miguel-Queralto & Hammond, 2008). Ytterligare en studie har publicerats som studerar kombinationsexponering med E4 (Baekelandt et al., 2024) men den är svårtolkad då ration av substanser oftast inte reflekteras i miljön.

Vilket PNEC som skall användas för E4 och jämföras med PNEC för övriga östrogener är inte helt självklart då underlaget för E4 är mycket begränsat. PNEC för EE2 (0,1 ng/L) baseras på andra sidan på många studier och är därför relativt robust. I studier med zebrafisk spänner NOEC för reproduktion mellan 0,2 och 1 ng/L EE2 i olika studier, medan NOEC för induktion av vitellogenin i zebrafisk spänner från 1 till 5 ng/L (Caldwell et al., 2012). För EE2 är det PNEC som tillämpas i denna jämförande bedömning (0,1 ng/L) således 2–10 gånger lägre än ett typiskt NOEC för reproduktion i zebrafisk och 10–50 gånger längre än ett typiskt NOEC för vitellogenin-induktion. Med motsvarande resonemang så skulle PNEC för E4 baserat på reproduktionsdata vara mellan 3 200 och 16 000 ng/L (NOEC 32 000 ng/L) och för vitellogenin-induktion mellan 64 och 320 ng/L (NOEC 3 200 ng/L). Detta är ett mycket stort spann. Här har ett PNEC om 320 ng/L använts för E4 (3 200 gånger högre än för EE2) med noteringen att osäkerheten är stor.

Drovelis (E4 och drospirenon) är det enda läkemedlet som innehåller E4 och som marknadsförs i Sverige. Det ingår inte bland de rekommenderade alternativen i Kloka listan (2024). Drovelis är relativt nyligen godkänt och är föremål för utökad övervakning för att identifiera ny säkerhetsinformation. Det skall också tilläggas att två av medförfattarna till (Baekelandt et al., 2023) och (Baekelandt et al., 2024) är anställda av ett företag med mycket tät koppling till det företag som marknadsför Drovelis, och studierna är också företagsfinansierade. Det diskvalificerar i sig inte resultaten, men fler och oberoende studier av vilka koncentrationer av E4 som påverkar fisk vore mycket värdefulla (Schäffer et al., 2023).

Sammantalet finns det betydande skillnader i potens och därmed miljörisk hos olika östrogener.

Gestagener – effekter och effektnivåer

Ett drygt decennium efter att riskerna med östrogen uppmärksammades publicerades experimentella studier som visade på snarlika risker med levonorgestrel, ett syntetiskt gestagen, följt av studier av andra gestagener. Levonorgestrel i halter så låga som 0,8 ng/L har visat sig stoppa äggproduktion i fisk (Zeilinger et al., 2009). I en annan studie ledde exponering för 0,5 ng/L levonorgestrel till utveckling av hanliga yttre könskaraktärer (lekvärtor) hos honfiskar (Runnalls et al., 2015). Grodor förefaller vara ungefär lika känsliga för levonorgestrel med effekter på bland annat utvecklingen av ägg (Säfholm et al., 2012).

Det finns också studier som tyder på att andra gestagener har effekter på fisk vid mycket låga koncentrationer. Gestoden har rapporterats påverka fortplantning hos den amerikanska fisken knölskallelöja (fathead minnow, *Pimephales promelas*) vid 1 ng/L (Runnalls et al., 2013). I skrivande stund tillhandahålls inget läkemedel med gestoden i Sverige varför ingen exponering förväntas. Noretisteron (eller noretindron) sänker äggproduktion hos fisken

”medaka” (*Oryzias latipes*) vid 22 ng/L och högre koncentrationer (Paulos et al., 2010). Samma studie rapporterade minskad äggproduktion hos knölskallelöja vid 1 ng/L och 100 ng/L men dos-responsmönstret var oklart med avsaknad av effekt vid 10 ng/L. Man fann dock ett tydligt dos-respons samband i knölskallelöja med avseende på ökning av sekundära hanliga könskaraktärer (fläckar på ryggen) med effekter redan vid 1 ng/L. Etonogestrel stoppade helt reproduktion hos guppy (*Poecilia reticulata*) vid lägsta testade koncentration (3,2 ng/L; (Steinbach et al., 2019).

Även andra gestagena preparat rapporteras ha effekter på fisk, men primärt vid högre koncentrationer. Många gestagener är dessutom bristfälligt testade på akvatiska organismer. Inga studier av hur ulipristal påverkar fisk har identifierats. Det är svårt att jämföra studier med varandra då de ofta utförts på olika sätt, med olika arter och då olika effekter har studerats. I studien av (Zeilinger et al., 2009) jämfördes dock levonorgestrel med drospirenon med exakt samma experimentupplägg, och medan levonorgestrel stoppade äggproduktion vid 0,8 ng/L krävdes 6 500 ng/L för att ge effekt av drospirenon. I studien av Runnalls et al (2013) gav högsta testade koncentration av drospirenon (100 ng/L) heller inga effekter, i linje med studien av (Zeilinger et al., 2009). Runnalls et al testade också effekten av desogestrel i fisk med samma försöksdesign, men författarna uppmärksammade inte att desogestrel är en prodrug som först måste metaboliseras till etonogestrel i kroppen (Runnalls et al., 2013). Avsaknaden av observerad effekt av desogestrel vid högsta testade koncentration (100 ng/L) är därför inte särskilt relevant ur miljörisksynpunkt, särskilt inte i ljuset av studien om etonogestrel och guppy som refererades till ovan (Steinbach et al., 2019).

Sammantaget finns det betydande skillnader i potens och därmed miljörisk hos olika gestagener.

Gestagener – jämförande farmakologi

Gestagener binder och aktiverar inte bara progesteronreceptorn, utan binder även till andra steroidreceptorer, särskilt androgenreceptorn, och kan leda till stimulering eller hämning av dessa. De olika gestagena substanserna i olika läkemedel skiljer sig ganska mycket härvidlag. Levonorgestrel, noretisteron, gestoden, etonogestrel och norgestimol, aktiverar alla androgenreceptorn i fisk vid mycket låga koncentrationer, medan t ex drospirenon och progesteron inte gör det (Bain et al., 2015; Ellestad et al., 2014). De förstnämnda är också strukturellt derivade från testosteron (19-nor-derivat), vilket rimmar väl med deras förmåga att binda till androgenreceptorn. Nomegestrol och ulipristal är såvitt känt inte utvärderade m a p bindning/aktivering av fiskars androgenreceptorer, men givet att de inte är derivade av testosteron och inte aktiverar den humana androgenreceptorn är sannolikheten måttlig att de binder till och aktiverar fiskars androgenreceptorer.

Steroidreceptorer finns primärt i ryggradsdjur. Fisk har, som människa, progesteron-, androgen- och östrogenreceptorer. Fisk producerar även progesteron, liksom människa, men progesteron fungerar inte som ett hormon i fisk. I stället är det två närbesläktade molekyler, 17 α ,20 β -dihydroxy-4-pregnen-3-one (DHP) och 17 α ,20 β ,21-trihydroxy-4-pregnen-3-one (20 β -S), som står för progesterons huvudsakliga fysiologiska roller i fisk. Progesteronmolekylen binder faktiskt ganska dåligt till fiskars progesteronreceptorer (vars

namn därför kan ifrågasättas), mycket sämre än de endogena liganderna. Alla olika syntetiska gestagener man använder som humanläkemedel och som man har testat i studier med fiskars receptorer binder dåligt till fiskarnas motsvarighet till progesteronreceptorer. Däremot binder vissa av dem mycket bra till fiskarnas androgenreceptorer. Detta tyder på att gestagener som inte är testosteronderivat (drospirenon, medroxiprogesteron, progesteron, nomegestrol) sannolikt har lägre potential att påverka fisk. Detta stöds av t ex jämförelsen mellan levonorgestrel, gestoden och drospirenon ovan (Zeilinger et al, 2009), studier av olika gestageners affinitet till androgen- och progesteronreceptorer i fisk och att det är just de mest androgena gestagenerna som man funnit ha störst potens i fisk (levonorgestrel, noretisteron, etonogestrel, gestoden). Det går dock inte att utesluta påverkan via andra mekanismer än fiskarnas androgenreceptorer. En studie (Hua et al, 2018) har återfunnits som rapporterar effekter av nomegestrol (ett progesteronderivat med låg affinitet till androgenreceptorn) i fisk vid 10 ng/L (t ex påverkan på hormonnivåer) efter 6 månaders exponering. Det är en betydligt högre effektnivå än för levonorgestrel, men ändå en låg koncentration. Genom vilken receptor nomegestrol verkar är oklart.

Grodor skiljer sig från fisk i att de, liksom människa, har progesteron som endogen ligand till progesteronreceptorn. För grodor finns det med andra ord mindre stöd för att gestagener som är progesteronderivat (medroxiprogesteron, progesteron, nomegestrol) skulle utgöra en betydligt lägre eller försumbar risk. Baserat på groddjurs habitatval (leker normalt i stillastående vatten, gärna mindre vattensamlingar) är det emellertid mindre sannolikt att de exponeras för syntetiska gestagener via renat avloppsvatten, särskilt under fortplantningstiden, åtminstone i mindre utsträckning än fisk. Därför baseras riskbedömningen här primärt på risken för fisk.

Hur väl gestagenerna biokoncentreras i fisk påverkar risken. En mycket hög biokoncentration av levonorgestrel har påvisats i juvenila regnbågar som exponerades för renat, svenskt kommunalt avloppsvatten, så hög att terapeutiska nivåer uppnåddes i fiskens blod (Fick et al., 2010). En anledning till den mycket höga graden av biokoncentration kan vara att levonorgestrel binder till sex hormone binding globulin (SHBG) i fiskens blod. Man tror att detta gör att jämvikten mellan vatten och blod förskjuts kraftigt åt blodet, då det levonorgestrel som tar sig in via gälarna snabbt binds till SHBG och sedan har svårt för att elimineras (Miguel-Queralt & Hammond, 2008). En mycket lägre grad av biokoncentration påvisades emellertid i hanar av knölskallelöja som exponerades för levonorgestrel löst i vatten (Runnalls et al., 2015). Man skulle därför kunna tro att (åtminstone) en av dessa studier är missvisande. Studierna skiljer sig dock antagligen kraftigt åt med avseende på förekomsten av SHBG i fiskarnas blod. Avloppsvatten innehåller ofta potenta mängder östrogen som inducerar SHBG och som därmed sannolikt möjliggör en kraftig biokoncentration. De reproduktivt aktiva honfiskarna som (Zeilinger et al., 2009) studerade hade sannolikt också höga SHBG-nivåer p g a höga endogena östrogennivåer, medan hanfiskarna som studerades av Runnalls et al, sannolikt hade låga SHBG-nivåer, vilket ledde till en begränsad biokoncentration (Runnalls et al., 2015).

Förutom att olika bindning till SHBG kan påverka möjligheten för biokoncentration skulle bindning till SHBG också kunna påverka andelen fritt/bundet endogent androgen, så till vida

att gestagener med hög affinitet till SHBG skulle kunna frigöra androgen från SHBG och därmed indirekt utöva en androgen effekt. Det senare är dock inte studerat i fisk. Olika gestagener binder olika starkt till SHBG. Levonorgestrel binder starkt, och noretisteron och etonogestrel binder också ganska starkt medan t ex drospirenon, nomegestrol och medroxiprogesteron binder betydligt svagare. Detta stämmer också väl med vilka gestagener som uppvisat störst potens i exponeringsstudier med fisk. Olika grad av bindning till SHBG kan därför vara ytterligare en faktor bakom gestagenernas olika potens i fisk, utöver deras affinitet till androgenreceptorn.

Östrogener – exponering

Såväl östrogener som gestagener har i olika studier visats kunna orsaka effekter på fisk vid koncentration kring eller t o m lägre än 1 ng/L, vilket är mycket lägre än de flesta andra läkemedelsgrupper. Exceptionellt låga effektnivåer ställer extra utmaningar på mätningar i miljön. De allra flesta rapporter kring särskilt höga nivåer av EE2 kan kopplas till bristfällig mätmetodik (Hannah et al., 2009). På grund av dessa utmaningar mäts inte östrogener (och andra steroidhormoner) i många studier av t ex avloppsvatten eller ytvatten, trots att de är högaktuella ur risksynpunkt. I andra fall mäts substanserna, men med detektionsgränser som ligger över både förväntade koncentrationer och effektnivåer. Exempelvis saknas data på uppmätta halter av östrogener och gestagener i den långa mätserien av läkemedel i avloppsvatten från tre avloppsreningsverk i Stockholm². Det finns naturligtvis även en hel del högkvalitativa mätningar, men överlag är kunskapen om exponeringsgrad fortfarande bristfällig för steroider i vattenmiljön, trots att de uppmärksammats ur miljörisksynpunkt under flera decennier.

Det finns flera exempel på när man försöker komma runt utmaningarna med kemiska analyser av steroider i avloppsvatten och ytvatten genom att använda olika "reporter assays", t ex jästceller eller andra celler som modifierats så att de bär på en steroidreceptor och att stimulering av denna receptor resulterar i ett mätbart cellsvar, t ex fluorescens. Dessa tester kan vara ganska känsliga och är mycket mindre komplicerade än kemiska mätningar. En betydande brist är dock att den relativa potensen av olika steroider i dessa cellsystem inte följer samma förhållanden som i fisk. Exempelvis behövs ofta ungefär lika hög koncentration EE2 som E2 för att generera ett svar i ett jäst-baserat reporter-system, medan EE2 är ca 20 gånger mer potent än E2 in vivo i fisk för såväl vitellogenin-induktion som direkt påverkan på reproduktion (Caldwell et al., 2012; Thorpe et al., 2003). Sannolikt beror detta åtminstone delvis på att det cellbaserade systemet inte fångar upp skillnader i biokoncentration mellan olika steroider. Dessutom kan såväl östrogener som gestagener påverka flera olika receptorer i fisken, vilket inte fångas upp i cell-baserade reporter-system med endast en steroidreceptor. Sammantaget medför detta att det blir svårt att kvantitativt bedöma halter av östrogener och gestagener i avloppsvatten som på ett relevant sätt avspeglar risk för fisk baserat på cellbaserade reportersystem. Kvalitativt har de dock ett värde (Desbrow et al., 1998).

²<https://janusinfo.se/beslutsstod/lakemedelochmiljo/miljo/provtagningaravlakemedelsresterivattensedimentoCHFiskforregionstockholm.5.7e654e8f16641fa242e4f31.html>

En översiktsartikel från 2023 redovisar rapporterade halter av E1, E2 och E3 i ytvatten i Europa (Ciślak et al., 2023). Rapporterade koncentrationer varierar över flera tiopotenser, och det ligger bortom denna rapports uppdrag att utröna vilka av dessa (och andra) mätningar som är tillförlitliga eller ej. En tjeckisk forskargrupp har publicerat en ganska omfattande studie som bedöms vara av generellt hög kvalitet, och med genomgående mer "rimliga" halter av östrogener (Jarošová et al., 2014). Medelkoncentrationerna (observationer under detektionsgräns tilldelades värdet halva detektionsgränsen för att reflektera att den verkliga koncentrationen ligger mellan noll och detektionsgränsen) i renat avloppsvatten i en lång rad länder var för E1 17,6 ng/L, för E2 5,1 ng/L, för E3 6,6 ng/L och för EE2 1,2 ng/L. Efter en schablonmässig 10 gångers utspädning i recipient skulle det betyda (i medeltal) en relativ risk mot PNEC enligt följande: E1 risk-ratio=0,29; E2 risk-ratio=0,25; E3 risk-ratio=0,011; EE2 risk-ratio=1,2.

Alla östrogener kan utsöndras som mer vattenlösliga, inaktiva konjugat med bland annat glukuronsyra. Dessa konjugat förefaller mer motståndskraftiga mot nedbrytning. Bakteriella glukuronidaser kan i avloppsreningsverken dock avlägsna glukuronid-enheten, vilket reaktiverar östrogenet till sin ursprungliga, aktiva och mer fettlösliga form (Liu et al., 2015).

Oralt intag av E2 leder till omfattande först-passage-metabolism i levern där E2 omvandlas primärt till E1 och E1-sulfat (E1S). Vid oralt intag av E2 utsöndras den stora majoriteten av dosen i urin, varav 5,2–7,5% som glukuronidkonjugat av E2 och uppemot 30% som konjugat av E1 (Stanczyk et al., 2013). Det betyder att PEC för E2 (om det baserat på enbart oralt intag) skulle kunna justeras från ca 6 ng/L till ca 0,38 ng/L. Vid transdermal administration är metabolismen till E1 dock lägre. I en välgjord italiensk studie var halterna av E2 i orenat avloppsvatten i medeltal 11,6 ng/L (Baronti et al., 2000). En grov extrapolation av detta (bland annat förutsatt liknande försäljning som i Sverige) skulle betyda att ca en tredjedel av detekterat E2 i avloppsvatten kommer från läkemedel ($0,38 \times 10 / 11,6 = 0,33$). Uppskattningen är dock osäker.

EE2 utsöndrad till ca 62% via feces och 38% via urin, primärt som glukuronidkonjugat eller oförändrad substans (Stanczyk et al., 2013).

För E4 är glukuronsyrakonjugering den dominerande metabolismvägen i människa, varför man kan räkna med att majoriteten av konsumerat E4 kommer att exkretteras i former som kan bidra till miljörisk. Inga rapporter har hittats som studerar förekomst av E4 i miljön, men i miljöriskbeskrivningen för Drovelis på fass.se så beskrivs E4 som "potentiellt persistent".

Majoriteten av exkreerad E1–E3 avlägsnas vanligen i avloppsreningsverken (Liu et al., 2015). Det betyder att PEC (baserat på bidrag från läkemedel) sannolikt är en överskattning. Sannolikt tillkommer dock en del E1–E3 från kroppsegen produktion hos kvinnor.

Mellan 0,4 och 1% av gestagenet noretisteron metaboliseras i kroppen till EE2. Administrerad daglig dos av noretisteron är ca 30 gånger större än för EE2. Varje dos noretisteron kan därför antas motsvara 12–30% av en dos EE2. Givet 2023 års försäljning av noretisteron och EE2 i Sverige kan man därför uppskatta exponeringen av EE2 i vattendrag (PEC) enligt EMAs standardmodell till 0,35–0,46 ng/L varav 0,28 ng kommer från bruk av EE2 och 0,07–0,18 ng/L (20–40% av totalhalten av EE2) från bruk av noretisteron.

En sammantagen bedömning är att E1–E4 förekommer i vattendrag i några enstaka ng/L eller ännu lägre koncentrationer. Samtidigt är östrogener, särskilt EE2, mycket potenta och kan störa fortplantning hos fisk. Störst evidens för effekter i miljön finns för EE2 med uppmätta koncentrationer som relativt ofta överstiger säkra effektnivåer. Hur risken skulle förändras vid utbyte av EE2 mot E2 eller E4 diskuteras under rubriken ”riskbedömning vid utbyte”.

Gestagener – exponering

Liksom för östrogenerna är de flesta, om inte alla, gestagener mycket utmanande att mäta i avloppsvatten och ytvatten på ett tillförlitligt sätt. I en omfattande översiktsartikel från 2015 (Fent, 2015) listas mätningar av olika gestagener i miljön, och rapporterade halter varierar ofta flera tiopotenser för varje substans, från sub-ng/L-nivåer till ibland 100-tals ng/L. Sannolikt är många av dessa mätningar otillförlitliga. En välgjord studie (Golovko et al., 2018) analyserade 17 gestagener (inklusive de flesta av gestagenerna som är aktuella i denna rapport) i ytvatten och avloppsvatten från tre kommunala avloppsreningsverk i Tjeckien. Elva av 17 analyserade gestagener återfanns i renat avloppsvatten och alla elva återfanns i koncentrationer under eller i något fall strax över 1 ng/L. Den generella bilden från såväl denna studie som teoretiskt konservativt uträknade PEC (Tabell 1) är att nivåer över ett eller möjligen något enstaka ng/L i ytvatten är osannolika. Det tyder på att endast de allra mest potenta gestagenerna utgör en potentiell miljörisk. Det kan tilläggas att just progesteron förekommer i mycket högre koncentration (upp till 110 ng/L) i orenat avloppsvatten, sannolikt också med bidrag från kroppsegen produktion. I renat avloppsvatten var dock uppmätt koncentration av progesteron endast 0,95 ng/L. Denna kraftiga reduktion rimmar väl med att man funnit mycket höga koncentrationer (1,6 µg/L) i orenat avloppsvatten från pappersmassatillverkning medan koncentrationen i renat avloppsvatten var under detektionsgränsen (10 ng/L) (Larsson et al., 2006). I avloppsvatten från massaindustri kommer inte progesteronet från human exkretion, men det kan bildas när man bryter ner de långa sterolkedjor som finns naturligt i vedmassan. Drospirenon och medroxiprogesteron(acetat), som är de syntetiska gestagener som har högst försäljning och därmed högst PEC, uppmättes som högst till 0,29 respektive 0,58 ng/L i renat tjeckiskt kommunalt avloppsvatten (Golovko et al., 2018).

En översiktsartikel från 2022 (Rocha & Rocha, 2022) redovisar halter av 12 gestagener i miljön, primärt renat och orenat kommunalt avloppsvatten. Med undantag för noretisteron som i någon enstaka studie rapporteras i halter om flera hundra ng/L (antagligen inte från användning/exkretion, alternativt felaktiga mätningar) så är rapporterade nivåer i renat avloppsvatten ofta runt 1 ng/L eller lägre.

Levonorgestrel detekterades inte i ovanstående tjeckiska studie (Golovko et al., 2018), men detta gestagen har uppmätts i kommunalt avloppsvatten i andra studier. I renat avloppsvatten i Umeå har 1 ng/L levonorgestrel rapporterats (Fick et al., 2010). I blod från fisk exponerade för Umeås renade avloppsvatten var koncentrationen 12 ng/mL och i fisk exponerad för renat avloppsvatten från Henriksdals avloppsreningsverk i Stockholm var motsvarande halt 8 ng/mL, trots att koncentrationen i avloppsvattnet där var under detektionsgränsen. Både 12 och 8 ng/mL överstiger C_{max} för levonorgestrel i människa och motsvarar en mycket kraftig

biokoncentration (också beskrivet ovan under "effekter"). Det förklarar också varför en exponering för så lite som 0,8 ng/L kan stoppa äggproduktionen i fisk (Zeilinger et al., 2009).

PEC för levonorgestrel i recipient (10 gånger utspätt avloppsvatten) är baserat på 2023 års försäljning av levonorgestrel 1,1 ng/L. Det finns dock fler källor till levonorgestrel i avloppsvatten än läkemedel innehållande levonorgestrel. Norelgestromin, som finns i p-plåstret Evra, liksom norgestimant (som finns i t ex p-pillret Amorest 28) metaboliseras delvis till levonorgestrel i kroppen (ej medräknat i PEC-beräkning). Norgestrel är en racemisk mix där hälften utgörs av den aktiva optiska isomeren levonorgestrel. Alla läkemedel med norgestrel är dock avregistrerade i Sverige.

Ulipristal är endast rekommenderat för akut antikonception (primärt val) i Kloka listan. Försäljningen är mycket låg (drygt 1 kg per år) vilket motsvarar ett PEC om 0,2 ng/L. Ulipristal kunde inte detekteras i några tjeckiska avloppsvattenprover (ungefär samma försäljning som i Sverige) (Golovko et al., 2018) och inga andra rapporter har återfunnits som rapporterar uppmätta halter i miljön. Ulipristal bedöms ej som lättnedbrytbar (teoretisk bedömning). En av urinmetaboliterna av ulipristal är aktiv (monometylerad), men övriga är det inte och kan antagligen inte reaktiveras (demetyleras) med lätthet, att jämföra med levonorgestrel som primärt utsöndras som glukuronidkonjugat, vilka lätt kan avspjälkas av bakterier i avloppsreningsverk, vilket i sin tur regenererar den aktiva substansen.

Mifepriston (även benämnt RU486) är (i kombination med misoprostol – en syntetiskt prostaglandinanalogue) rekommenderat för medicinsk abort. PEC är 1,2 ng/L men en betydande andel metaboliseras i kvinnokroppen till primärt N-desmetylmifepriston (metapriston) men också andra metaboliter. Den tyska miljömyndigheten UBAs databas över läkemedel i miljön rapporterar inga positiva mätningar av mifepriston, men ett par studier har identifierats som rapporterar 0,5–0,75 ng/L i renat kinesiskt/tjeckiskt kommunalt avloppsvatten (Golovko et al., 2018; Liu et al., 2010). Detta är mer än en tiopotens lägre än motsvarande PEC (som beräknas efter en 10-gångers utspädning i recipient), vilket antagligen delvis är en reflektion av en omfattande metabolism av mifepriston. Mätningar i miljön av metapriston saknas.

För noretisteron är förväntad exponering nedströms svenska avloppsreningsverk 2,6 ng/L givet samma förutsättningar som för levonorgestrel ovan. Eftersom läkemedel som innehåller lynestrenol (Exlutena) metaboliseras till noretisteron borde rimligen en korrekt PEC-beräkning även inkludera försäljning av lynestrenol (ej medtaget här). Rapporterade halter av noretisteron i renat avloppsvatten och i ytvatten sträcker sig från ej detekterbart till flera hundra ng/L (det senare förefaller orimligt högt) i olika internationella studier. Koncentrationer under eller omkring 1 ng/L i renat avloppsvatten dominerar (Fent, 2015; Golovko et al., 2018; Rocha & Rocha, 2022).

En sammantagen bedömning är att alla gestagener förekommer i mycket låga eller odetekterbara halter i miljöer påverkade av kommunalt avloppsvatten. Baserat på försäljning är PEC under 3 ng/L för alla studerade gestagener utom för progesteron, medroxiogestron och drospirenon, men trovärdiga internationella mätningar visar att även dessa tre gestagener detekteras i halter runt 1 ng/L i renat avloppsvatten. Samtidigt är några gestagener exceptionellt potenta med effekter observerade vid exponering under 1 ng/L. Det är dock

enbart gestagener som binder starkt till androgenreceptorn som förefaller så potenta i fisk. Av de gestagener som rekommenderas i Kloka listan uppfylls dessa kriterier av levonorgestrel, noretisteron, desogestrel samt etonogestrel, medan övriga gestagener bedöms vara mindre miljöfarliga givet dagens kunskapsläge. Det är svårt baserat på befintliga data att med god säkerhet kunna stratifiera vilka av de androgena gestagenerna som är mest eller minst miljöfarliga, även om noretisteron och levonorgestrel är något bättre studerade än desogestrel och etonogestrel. Möjligen skulle man kunna peka ut noretisteron (och lynestrenol som inte omfattas av denna rapport) som lite extra miljöfarliga då de också genom metabolism bidrar till halterna av EE2 i miljön.

Riskbedömning vid utbyte

Vid en jämförande riskbedömning behöver man ta ställning till om risken ökar, minskar eller förblir oförändrad om man byter ut ett visst antal doser av en substans mot motsvarande antal doser av en annan. För att bedöma det måste man dels jämföra substansernas *relativa* potens i miljön (t ex deras PNEC), dels ställa dessa i relation till hur exponeringsnivåerna i miljön förväntas öka/minska vid ett utbyte. Notera att PEC ofta är en överskattning (då den inte tar hänsyn till metabolism och avskiljning i avloppsreningsverk) varför bedömningen primärt utgår från uppmätta halter när sådan data finns.

För östrogenerna har vi relativt bra kunskap om deras relativa potens, men exponeringsnivån i miljön är fortfarande osäker, och mycket osäker för E4. För läkemedel med gott om högkvalitativa data dels om halter i renat avloppsvatten, dels om försäljningsvolymen kan man beräkna hur stor miljöexponering en dos motsvarar. Då data om halter i miljön är osäkra för nästan alla könssteroider **finns** en motsvarande osäkerhet m a p hur exponering påverkas vid utbyte. Dessutom produceras tre av fyra av de aktuella östrogenerna naturligt i människor (och djur), vilket ytterligare försvårar en direkt koppling mellan försäljningsnivå och koncentrationer i miljön. I sådana fall får man göra en jämförande bedömning av de olika steg som påverkar exponeringsnivån.

Det första som påverkar exponeringen är doseringen. För EE2, E2 och E4 är det primärt användning som antikontceptionsmedel som är aktuellt att jämföra (Tabell 2). En dagsdos av E2 (eller E2-valerat omräknat till rent E2) i aktuella produkter (Qlaira, Zoely) är 1,3–1,4 mg/dag, att jämföra mot 29 µg/dag för olika produkter med EE2 och ca 12 mg/dag för E4 (Drovelis). Samtidigt utsöndras E2 i betydligt lägre grad som oförändrad substans eller glukuronid-konjugat som kan reaktiveras jämfört med EE2 (Stanczyk et al., 2013) och E4. Vidare förefaller det som att E2 kan avskiljas i något högre utsträckning än EE2 i avloppsreningsverken. Baserat på internationella mätningar i renat avloppsvatten är i medeltal koncentrationerna av E2 ca fem gånger högre än för EE2 i renat avloppsvatten (Jarošová et al., 2014). Men man skall då ha i minne att koncentrationen av E2 är resultatet både av läkemedelsanvändning och kroppsegen produktion, medan EE2 endast kan kopplas till läkemedelsanvändning. För E4 saknas mätningar i avloppsvatten. Genom att jämföra faktiskt uppmätta koncentrationer i renat avloppsvatten med PEC baserat på försäljning framgår det att en betydligt större andel av försålt EE2 når recipient i jämförelse med E2. I ett scenario där 1/3 av uppmätta koncentrationer kommer från läkemedel som innehåller E2 når ca 10 gånger så stor andel av försålt EE2 miljön jämfört med andelen försålt E2 som når miljön.

För E4 är andelen som når miljön mycket osäker, men baserat på tillgängliga data kring metabolism kan andelen vara lika hög som för EE2.

Tabell 2. Jämförande riskbedömning för östrogener i kombinerade antikontceptionsmedel

Aktiv substans	EE2	E2	E4
Medel-dosering antikonception (µg/dag)	29	1 350	12 171
Omräknat försålda #DDD i riket om allt vore för antikonception (2023)	75 491 220	34 481 388	421 260
Betydande bidrag till avloppsvatten från kroppsegen produktion och/eller läkemedel med annan API	Begränsad (från noretisteron och lynestrenol)	Ja - både från läkemedel med andra API samt naturlig exkretion av E1, E2 och E3 inkl vissa metaboliter	Sannolikt ej
Exkreeras till stor del som oförändrad API eller som reaktiverbart konjugat	Ja	Betydligt lägre grad	Ja
PEC givet läkemedelsförsäljning 2023 (ng/L) ^a	0,4	6,0	0,7
Typisk koncentration i renat avloppsvatten (ng/L) ^b	1,2	5,1	?
Uppskattad % av försåld volym API som når recipient ^c	33%	< 8,5% (ca 3% ^d)	Data saknas men kan vara lika hög som för EE2
PNEC (ng/L) ^b	0,1	2	320
Uppskattad % av PNEC som uppnås i recipient av 100 miljoner doser/år ^e	160%	<73% (ca 24% ^d)	17% ^f

^a Medräknat bidrag till EE2 från noretisteron men ej lynestrol, ej inkluderat andra källor till E2 än läkemedel med E2

^b Se huvudtext för källor

^c Typisk avloppsvattenkoncentration x 0,1 (spädning) delat med PEC

^d Majoriteten (2/3?) bedöms komma från naturlig exkretion/andra API, osäker uppskattning - se huvudtext

^e $100 \times 100,000,000 / \#DDD$ enligt ovan x (koncentration i renat avloppsvatten/10)/PNEC.

^f För E4 beräknades koncentration i renat avloppsvatten som $PEC \times 10 \times 0,33$ (osäkert, men relativt konservativt)

För att slutligen jämföra hur utbyten av en dos av ett östrogen mot ett annat påverkar risk, så måste man ställa förväntad förändring i exponering i miljön i relation till PNEC. Givet ovanstående resonemang kring exponering så bör 100 miljoner doser EE2 leda till en exponering i en recipient (10 gångers spädning) motsvarande 160% av PNEC. För E2 är motsvarande siffra 73% om allt E2 i avloppsvatten kan hänföras till användning av läkemedel med E2. I det mer realistiska scenariot där 1/3 kommer från läkemedel med E2 leder 100 miljoner doser E2 till en exponering om ca 24% av PNEC. För E4 skulle 100 miljoner doser leda till en exponering om 17% av PNEC, förutsatt att försålt E4 når miljön i samma proportioner som EE2.

Den slutliga bedömningen är därför att användning av E2 i stället för EE2 i antikontceptionsmedel medför en lägre miljörisk, trots den högre doseringen av E2.

Givet dagens kunskapsläge bedöms risken för en dos E4 vara ungefär lika hög som för en dos E2 och därmed är också risken för E4 lägre jämfört med EE2, trots den mycket högre doseringen.

Mer data för E4, särskilt mätningar av halter i miljön (relaterade till försäljning) inklusive avskiljningsgrad i avloppsreningsverk men också fler oberoende studier kring effektnivåer, vore värdefullt för att uppnå en säkrare bedömning. Vid en eventuell utbytesrekommendation behöver man också ta hänsyn till miljörisker kopplade till gestagenkomponenten (se diskussion kring ranking av miljörisk för olika förskrivningsalternativ för hormonell antikontception av kombinationstyp nedan).

E3 (vaginalkräm/vagitorium) är angivet som alternativ till E2 (vaginalinlägg/vaginaltablett) för vulvovaginal atrofi. E2 är ca 30 gånger mer potent i fisk än E3 (Caldwell et al., 2012) medan uppmätta koncentrationer i renat avloppsvatten är ofta ganska lika (Jarošová et al., 2014), vilket totalt leder till en betydligt högre risk för E2 än E3 i miljön. Såväl E2 som E3 produceras dock även naturligt i kroppen vilket bidrar (i okänd grad) till miljöexponeringen, varför man inte per automatik kan sluta sig till att användning av en dos E3 medför lägre risk än en dos E2. Slutligen metaboliseras en del E2 till E3 i kroppen, vilket ytterligare komplicerar bedömningen. Intravaginal administrering undviker första-passage-metabolism för både E2 och E3 varför andelen utsöndrad moderssubstans (eller glukuroniderad moderssubstans som kan reaktiveras) sannolikt är större än för peroral administrering. En detaljerad redovisning över fördelning av metaboliter i urin och fekalier efter vaginal administrering har dock inte hittats. E2 administreras vaginalt i betydligt lägre dagliga doser (ca 5–7,5 µg/dag i underhållsdos beroende på produkt) än produkter med E3 där rekommendationen är 0,5 mg/dag initialt, därefter lägre (exempel som anges är 1 mg/vecka i underhållsdos, vilket motsvarar 143 µg/dag). Den högre doseringen för E3 förefaller ungefär kompenseras av den lägre potensen i fisk. Alternativen bedöms därför likvärdiga ur miljösynpunkt.

Doseringen (DDD) av de androgena gestagenerna (levonorgestrel, noretisteron, desogestrel, etonogestrel) är generellt lägre än för de som inte binder/aktiverar androgenreceptorn i fisk och inte binder SHBG. De androgena gestagenernas PEC (baserat på aktuella försäljningsvolym) är i flera fall lägre (Tabell 1). Dock förefaller (trovärdiga) uppmätta halter av alla gestagener i renat avloppsvatten genomgående vara under eller strax över ett eller några ng/L, även för de gestagener som har en relativt hög försäljning. Givet 2023 års försäljning – och förväntad utspädning i miljön – är det därför rimligen endast de androgena gestagenerna som utgör en hög miljörisk. En kraftigt förändrad försäljning skulle möjligen kunna leda till att vissa andra gestagener också skulle utgöra en betydande risk. Data på hur många DDD av olika gestagener som förskrivs för de olika indikationerna (antikontception, blödningskontroll, myom, postmenopausala besvär etc) har inte sammanställts, vilket gör det svårt att bedöma den exakta omfattningen av utbytesmöjligheter och effekterna av dessa.

För medroxiprogesteron och drospirenon (ej testosteronderivat) är försäljningen redan i dag hög (18 respektive 2 miljoner DDD), ungefär i paritet med de androgena gestagenerna (16–

49 miljoner DDD per substans). Det betyder att även omfattande utbyten av androgena gestagener mot medroxiprogesteron eller drospirenon skulle inte påverka användningen och därmed miljökoncentrationerna av de senare mer än maximalt några få gånger (upp till några enstaka ng/L).

Ulipristal är redan i dag förstahandsval vid akut antikonception. Andrahandsvalet (levonogestrel) har högre miljörisk.

Progesteron används inte för antikonception utan primärt som lutealfasstöd utan några angivna behandlingsalternativ, varför inga utbyten är aktuella.

Mifepriston är en kompetitiv antagonist till humana progesteron- och glukokortikoidreceptorer (och till viss del androgenreceptorn). Den desmetylerade metaboliten metapriston binder liksom mifepriston till de förstnämnda receptorerna (i lägre grad) men ingen information om affinitet till humana androgenreceptorer har återfunnits. Mifepriston kan maskulinisera fisk, i linje med att det är ett derivat av noretisteron och binder till humana androgenreceptorer, men då substansen administrerades via foder är en miljöriskbedömning relaterad till vattenexponering svår att göra. I en studie av zebrafisk exponerad via vatten rapporterades effekter på äggproduktion i fisk vid 5 ng/L (Blüthgen et al., 2013). Det fanns dock inget uppenbart dos-respons-samband vilket gör tolkningen svår. Då koncentrationerna nedströms avloppsreningsverk sannolikt är under 0,1 ng/L i de allra flesta fall (Golovko et al., 2018; Liu et al., 2010) bedöms miljörisken vara relativt låg, även om mifepriston sannolikt är potent i fisk. Inga effektdata på fisk finns för desmetyl-metaboliter av mifepriston, men sannolikt är de mindre potenta än mifepriston. För medicinsk abort finns inga angivna behandlingsalternativ till mifepriston, varför inga utbyten är aktuella.

För dienogest som t ex finns i det kombinerade antikonceptionsmedlet Qlaira (som inte innehåller EE2 utan i stället E2-valerat) är bedömningen något mer komplex. Försäljningen är idag relativt låg (ca 400 000 DDD) vilket ger utrymme för en potentiellt mångfaldigt ökad försäljning och därmed ökade miljökoncentrationer. I rapporten av (Golovko et al., 2018) rapporteras som högst 1 ng/L i renat tjeckiskt avloppsvatten. De rapporterar en nationell försäljning om 22 kg per år vilket är närmast identisk med den svenska försäljningen 2023. I Tjeckien bor dessutom ungefär lika många personer som i Sverige. Halterna i renat avloppsvatten bör därför vara relativt jämförbara med svenska förhållanden. Vid en teoretiskt 100-faldigt ökad försäljning (motsvarande ungefär de mest försålda gestagenerna aktuella för antikonception) borde därför halterna av dienogest i renat avloppsvatten kunna bli i storleksordningen 100 ng/L, vilket skulle motsvara ungefär 10 ng/L i recipienter med EMAs schablonuppskattning av spädning (10 ggr). Underlaget är dock litet och uppskattningen är därmed osäker. Ingen publik vetenskaplig litteratur har återfunnits över effekter/effektnivåer av dienogest i fisk. Företaget Bayer rapporterar dock i sin miljöriskbedömning för Qlaira i fass.se ett NOEC om 32 ng/L m a p kläckning och överlevnad för yngel av knölskallelöja exponerade för dienogest. Det är oklart hur hög lägsta observerade effektnivå (LOEC) var, men den riktlinje som refereras till (OECD, 2011) tillåter högst spädningssteg om 3,2 gånger, vilket skulle kunna översättas till att LOEC var högst 100 ng/L. Det skall noteras att OECD 201-testen omfattar inte påverkan på själva reproduktionen (t ex hormonnivåer, gonadutveckling, äggproduktion och äggmognad, spermieproduktion, lekbeteende, befruktningsgrad). Det är

osannolikt att dagens försäljning av dienogest utgör en miljörisk, men det skall inte uteslutas att en kraftigt ökad försäljning av dienogest skulle kunna förändra risken. Dienogest är ett testosteronderivat. Samtidigt är dienogest inte en agonist till den humana androgenreceptorn (men en antagonist). Dienogest binder dåligt till SHBG och har lägre fettlöslighet än alla övriga undersökta gestagener, vilket talar för begränsad biokoncentrationspotential i fisk.

Som nämnts ovan rapporterade (Hua et al., 2018) att nomegestrol(acetat) påverkar fisk vid 10 ng/L. Enligt Janusinfo ([kunskapsstödet Läkemedel och miljö](#) på Janusinfo) rapporterade Theramex Ireland tidigare i en miljöriskbedömning på fass.se för Zoely 2022-04-11 (miljöinformation för nomegestrol saknas på fass.se i dag, 2024-11-18) att nomegestrol biokoncentrerar mycket måttligt (44 gånger i zebrafisk). Det är något motsägelsefullt då logP är relativt högt (3,34–3,55). En hög biokoncentrationsfaktor är antagligen en förutsättning för hög potens i fisk in vivo efter vattenexponering. Enligt Janusinfo rapporterade Theramex ett kroniskt PNEC om 1 300 ng/L i zebrafisk, men det är oklart vilket försöksupplägget var och vilka utfallsmått som studerades. I rapporten av (Golovko et al., 2018) rapporteras som högst 0,26 ng/L av nomegestrolacetat i renat kommunalt avloppsvatten. Rapporterad årlig försäljning i Tjeckien (3 kg) liksom populationsstorlek är närmast identiska med svensk försäljning och populationsstorlek, varför man sannolikt kan extrapolera mätningarna till svenska förhållanden. I Sverige förekommer nomegestrol endast i p-pillret Zoely (som också innehåller E2 i stället för EE2). Antalet försålda DDD var dryga 1,7 miljoner 2023. Vid en teoretisk 25-dubbling av försäljningen (i paritet med de mest försålda substanserna för antikonception i Sverige) skulle det sannolikt betyda en koncentration i renat avloppsvatten om ca 6,5 ng/L och en koncentration i recipient vid 10 gångers utspädning om ca 0,65 ng/L. Det innebär att även om nomegestrol är lika potent i fisk som (Hua et al., 2018) rapporterar och försäljningen ökar radikalt verkar det finnas en viss säkerhetsmarginal. Samtidigt skall framhållas att underlaget kring förväntade halter i avloppsvatten (och därmed recipienter) är litet. Fler oberoende studier av hur potent nomegestrol är i fisk skulle också vara värdefullt.

Utbyte av det androgena och högpotenta gestagenet noretisteron skulle utöver minskad risk för direkt påverkan på fisk kunna bidra till en minskad exponering i miljön för EE2, eftersom en del noretisteron övergår till EE2 i kroppen. Om all användning i Sverige av noretisteron upphörde skulle sannolikt halterna av EE2 i vattendrag minska med 20–40%.

Överväganden kring beredningsformer

Miljörisken kopplad till ett visst läkemedel skiljer sig något åt beroende på beredningsform. Vissa beredningsformer har en mycket hög restmängd, t ex plåster (Evra) och vaginalinlägg (Nuvaring). Om dessa spolaskas ned i toaletten efter användning kan det ge en kraftigt ökad risk (Larsson, 2003), men om de återlämnas till apotek är miljörisken primärt baserad på utsöndrad mängd via urin och fekalier. Risken kopplad till utsöndring är sannolikt proportionell mot den integrerade plasmahalten över tid för de flesta läkemedel. Det innebär att om ett implantat över en längre tid ger en medelkoncentration i plasma som motsvarar medelnivån efter motsvarande perorala alternativ är miljörisken snarlik. För geler och krämer som appliceras utvärtes riskerar en del av den aktiva substansen att sköljas av vid t ex duschning utan att passera kroppen. Vid lika stor administrerad mängd peroralt eller via gel är därför sannolikt miljörisken något högre för gelen, hur mycket större är dock inte undersökt. För vissa

substanser t ex E2, leder oral administration till större första-passage-metabolism (och därmed sannolikt något lägre exponering) än transdermal administration. Samtidigt brukar detta ofta kompenseras med en större oral dos.

Rankning av miljörisk kopplat till olika förskrivningsalternativ i Kloka listan (2024)

Kombinerad hormonell antikonception

I första hand rekommenderar Kloka listan

a) levonorgestrel + EE2

I andra hand rekommenderas antingen

b) dienogest+EE2

c) drospirenon+EE2

d) etonogestrel+EE2 (vaginalinlägg), eller

e) nomegestrol+E2.

Ur miljörisksynpunkt är alternativ a (levonorgestrel) och d (etonogestrel) klart sämst. Alternativ c med drospirenon är klart bättre. Alternativ b faller mitt emellan pga en något osäkrare bedömning av miljöriskerna med dienogest. Nomegestrol är också ett bättre alternativ ur miljösynpunkt än levonorgestrel och etonogestrel givet dagens kunskapsläge, även om det finns vissa osäkerheter. Alternativ e har en lägre miljörisk än alla övriga alternativ pga östrogenkomponenten. Ur miljösynpunkt är därför rankningen (från bäst till sämst): e-c-b-(a/d). Det noteras att alternativ e inte omfattas av högkostnadsskyddet.

Drovelis (drospirenon + E4) och Qlaira (dienogest + E2-valerat) ingår inte som alternativ i Kloka listan. En jämförelse med ovanstående är ändå relevant att göra.

Qlaira är direkt jämförbar med Zoely (nomegestrol + E2) m a p östrogenkomponenten. Data om effektnivåer av dienogest är osäkra, och inte direkt jämförbara med effektnivåer för nomegestrol. För både dienogest och nomegestrol tyder de knapphändiga data som finns att dessa gestagener kan vara potenta i fisk, men sannolikt inte i paritet med de allra mest potenta gestagenerna (t ex levonorgestrel, etonogestrel, noretisteron). Högkvalitativa mätningar i miljön är knapphändiga men tyder på en exponering långt under kända effektnivåer med dagens försäljning. Ur miljörisksynpunkt bedöms därför Qlaira och Zoely ungefär likvärdiga. Båda är bättre ur miljörisksynpunkt än produkter med EE2. Mer data kring såväl exponering i miljön som effektnivåer efterfrågas dock.

Drovelis utmärker sig som det enda antikonceptionsmedlet med E4. Som beskrivits i mer detalj ovan är E4 sannolikt ett något bättre alternativ ur miljörisksynpunkt än EE2 men ungefär likvärdigt med E2, dock är underlaget kring riskerna med E4 begränsat. Mer data på exponering i miljön samt oberoende studier av effektnivåer efterfrågas för E4. Samtidig är drospirenon ett gestagen som visats ha låg potens i fisk, betydligt lägre än levonorgestrel, dienogest och etonogestrel. Givet dagens kunskapsläge bedöms Drovelis ha lägre miljörisk än kombinerade antikonceptionsmedel med EE2. Jämförelsen mot Qlaira och Zoely är svårare och skillnaden mindre tydlig.

Lågdoserade gestagenmetoder för antikonception

Här anger Kloka listan alternativen hormonspiral med levonorgestrel alternativt minipiller med noretisteron (Mini-Pe).

Båda alternativen innehåller androgena gestagener med särskilt hög miljörisk och dokumenterade effekter på fisk vid koncentrationer under 1 ng/L. För hormonspiral anges tre alternativa produkter med olika dosering (6, 9 eller 20 µg/dag). Ur miljösynpunkt är den lägre doseringen något mer fördelaktig. Det är svårt att ranka om användning av minipiller eller hormonspiral utgör störst miljörisk.

Mellandoserade gestagenmetoder för antikonception

Här anges tre alternativ – tabletter med desogestrel, tabletter med drospirenon eller p-stav med etonogestrel.

Såväl desogestrel som etonogestrel utgör hög miljörisk, medan miljörisken är mycket mindre med drospirenon. Ur miljösynpunkt förordas därför tabletter med drospirenon. Denna metod har lägre miljörisk än alla kombinationsprodukter (östrogen + gestagen).

Högdoserade gestagenmetoder för antikonception

Här anges endast ett alternativ, p-spruta med medroxiprogesteronacetat.

Medroxiprogesteron har låg miljörisk jämfört med andra gestagener och är ett bra alternativ för hormonell antikonception ur miljösynpunkt. Denna metod har lägre miljörisk än alla kombinationsprodukter (östrogen + gestagen) och är jämförbar med den låga miljörisken kopplad till användning av drospirenon som mellandoserad gestagenmetod.

Akut antikonception

Här anger Kloka listan ulipristal som förstahandsval och i andra hand levonorgestrel.

Ur miljörisksynpunkt är ulipristal ett bättre alternativ än levonorgestrel

Riklig menstruation

Här anger Kloka listan alternativen levonorgestrel i form av hormonspiral, alternativt tranexamsyra.

Miljörisken är hög för levonorgestrel. Ingen miljöriskbedömning har gjorts här för tranexamsyra, men sannolikt är risken mycket liten då det är en analog av en aminosyra och

därmed undantagen Europas läkemedelsmyndighet EMAs krav på miljöriskbedömning för läkemedel.

Reglering av menstruation

Här anger Kloka listan alternativ med medroxiprogesteron eller noretisteron

Miljörisken är hög för noretisteron och betydligt lägre för medroxiprogesteron. Behandling med medroxiprogesteron förordas därför ur miljösynpunkt.

Klimakteriebesvär

Här anger Kloka listan dels alternativ med fasta kombinationer av östrogen och gestagen (som sekventiell eller kontinuerlig behandling), dels alternativ med individuell kombination av östrogen och gestagen.

Fast kombination: Här anges alternativen estradiol med antingen noretisteron eller medroxiprogesteron för såväl sekventiell som kontinuerlig behandling

Noretisteron har hög miljörisk medan medroxiprogesteron har betydlig lägre miljörisk. Medroxiprogesteron förordas därför ur miljörisksynpunkt.

Individuell kombination: Här anges olika administrationsformer av E2 (tabletter, spray eller plåster) i kombination med antingen levonorgestrel (hormonspiral) eller medroxiprogesteron (tablett) som alternativ.

Levonorgestrel har hög miljörisk medan medroxiprogesteron har betydligt lägre miljörisk. Medroxiprogesteron förordas därför ur miljörisksynpunkt.

För östrogenbehandlingen är doseringen mellan alternativen av E2 snarlika även om administrationsformerna skiljer sig. Möjligen är risken något större att en restmängd på huden efter behandling med spray kan tvättas av och nå miljön, men det är inte dokumenterat. Alternativen bedöms därför ungefär likvärdiga ur miljösynpunkt.

Vulvovaginal atrofi

Här anges två alternativa administreringsformer för E2: vaginalinlägg, vaginaltablett och E3 i form av vaginalkräm/vagitorium.

E3 är mindre potent i fisk än E2 men det kompenseras av att E3 ges i högre dos. Ur miljösynpunkt bedöms därför behandlingsalternativ med E3 och E2 vara ungefär likvärdiga. Beredningsformerna bedöms likvärdiga.

Medicinsk abort

Här anges mifepriston i kombination med misoprostol som enda alternativ.

Misoprostol är ingen steroid och har därför inte miljöriskbedömts här.

Miljörisken för mifepriston bedöms som relativt låg.

Fertilitetsbehandling

Progesteron (vagitorium) anges som enda alternativ för lutealfasstöd.

Användning av progesteron bedöms medföra låg miljörisk

Referenser

- Baekelandt, S., Bouchat, A., Leroux, N., Robert, J.-B., Burattin, L., Cishibanji, E., Lambert, J., Gérard, C., Delierneux, C., & Kestemont, P. (2024). Estetrol/drospirenone versus 17 α -ethinylestradiol/drospirenone: An extended one generation test to evaluate the endocrine disruption potential on zebrafish (*Danio rerio*). *Environ Int*, 187, 108702. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2024.108702>
- Baekelandt, S., Leroux, N., Burattin, L., Gérard, C., Delierneux, C., Robert, J.-B., Cornet, V., & Kestemont, P. (2023). Estetrol has a lower impact than 17 α -ethinylestradiol on the reproductive capacity of zebrafish (*Danio rerio*). *Aquatic Toxicology*, 259, 106505. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2023.106505>
- Bain, P. A., Kumar, A., Ogino, Y., & Iguchi, T. (2015). Nortestosterone-derived synthetic progestogens do not activate the progestogen receptor of Murray-Darling rainbowfish (*Melanotaenia fluviatilis*) but are potent agonists of androgen receptors alpha and beta. *Aquat Toxicol*, 163, 97-101. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2015.03.021>
- Baronti, C., Curini, R., D'Ascenzo, G., Di Corcia, A., Gentili, A., & Samperi, R. (2000). Monitoring Natural and Synthetic Estrogens at Activated Sludge Sewage Treatment Plants and in a Receiving River Water. *Environmental Science & Technology*, 34(24), 5059-5066. <https://doi.org/10.1021/es001359q>
- Baynes, A., Lange, A., Beresford, N., Bryden, E., Whitlock, K., Tyler, C. R., & Jobling, S. (2023). Endocrine Disruption Is Reduced but Still Widespread in Wild Roach (*Rutilus rutilus*) Living in English Rivers. *Environmental Science & Technology*, 57(34), 12632-12641. <https://doi.org/10.1021/acs.est.3c02854>
- Blüthgen, N., Castiglioni, S., Sumpter, J. P., & Fent, K. (2013). Effects of low concentrations of the antiprogestin mifepristone (RU486) in adults and embryos of zebrafish (*Danio rerio*): 1. Reproductive and early developmental effects. *Aquatic Toxicology*, 144-145, 83-95. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2013.09.033>
- Caldwell, D. J., Mastrocco, F., Anderson, P. D., Länge, R., & Sumpter, J. P. (2012). Predicted - no - effect concentrations for the steroid estrogens estrone, 17 β - estradiol, estriol, and 17 α - ethinylestradiol. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 31(6), 1396-1406. <https://doi.org/10.1002/etc.1825>
- Ciślak, M., Kruszelnicka, I., Zembrzuska, J., & Ginter-Kramarczyk, D. (2023). Estrogen pollution of the European aquatic environment: A critical review. *Water Research*, 229, 119413. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.watres.2022.119413>
- Desbrow, C., Routledge, E. J., Brighty, G. C., Sumpter, J. P., & Waldock, M. (1998). Identification of estrogenic chemicals in STW effluent. 1. Chemical fractionation and in vitro biological screening [Article]. *Environmental Science and Technology*, 32(11), 1549-1558. <https://doi.org/10.1021/es9707973>

- Ellestad, L. E., Cardon, M., Chambers, I. G., Farmer, J. L., Hartig, P., Stevens, K., Villeneuve, D. L., Wilson, V., & Orlando, E. F. (2014). Environmental Gestagens Activate Fathead Minnow (*Pimephales promelas*) Nuclear Progesterone and Androgen Receptors in Vitro. *Environmental Science & Technology*, 48(14), 8179-8187. <https://doi.org/10.1021/es501428u>
- Fent, K. (2015). Progestins as endocrine disrupters in aquatic ecosystems: Concentrations, effects and risk assessment. *Environ Int*, 84, 115-130. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.envint.2015.06.012>
- Fick, J., Lindberg, R. H., Parkkonen, J., Arvidsson, B., Tysklind, M., & Larsson, D. G. (2010). Therapeutic levels of levonorgestrel detected in blood plasma of fish: results from screening rainbow trout exposed to treated sewage effluents. *Environ Sci Technol*, 44(7), 2661-2666. <https://doi.org/10.1021/es903440m>
- Fodor, I., Urbán, P., Scott, A. P., & Pirger, Z. (2020). A critical evaluation of some of the recent so-called 'evidence' for the involvement of vertebrate-type sex steroids in the reproduction of mollusks. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 516, 110949. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.mce.2020.110949>
- FORMAS. (2022). *Svenskt kommunalt avloppsvatten och dess påverkan på vattenlevande organismer: En systematisk översikt*. <https://formas.se/download/18.2cc73a1217f446fdb99895c/1649061134154/f1-2022-svenskt-kommunalt-avloppsvatten-vattenlevande-organismer.pdf>
- Golovko, O., Šauer, P., Fedorova, G., Kroupová, H. K., & Grabic, R. (2018). Determination of progestogens in surface and waste water using SPE extraction and LC-APCI/APPI-HRPS. *Science of The Total Environment*, 621, 1066-1073. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.10.120>
- Hannah, R., D'Aco, V. J., Anderson, P. D., Buzby, M. E., Caldwell, D. J., Cunningham, V. L., Ericson, J. F., Johnson, A. C., Parke, N. J., Samuelian, J. H., & Sumpter, J. P. (2009). Exposure assessment of 17 α -ethinylestradiol in surface waters of the United States and Europe. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 28(12), 2725-2732. <https://doi.org/https://doi.org/10.1897/08-622.1>
- Hua, J., Han, J., Guo, Y., & Zhou, B. (2018). Endocrine disruption in Chinese rare minnow (*Gobiocypris rarus*) after long-term exposure to low environmental concentrations of progestin megestrol acetate. *Ecotoxicol Environ Saf*, 163, 289-297. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.07.049>
- Jarošová, B., Bláha, L., Giesy, J. P., & Hilscherová, K. (2014). What level of estrogenic activity determined by in vitro assays in municipal waste waters can be considered as safe? *Environ Int*, 64, 98-109. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.envint.2013.12.009>
- Jobling, S., Nolan, M., Tyler, C. R., Brighty, G., & Sumpter, J. P. (1998). Widespread Sexual Disruption in Wild Fish. *Environmental Science & Technology*, 32(17), 2498-2506. <https://doi.org/10.1021/es9710870>
- Larsson, D., Adolfsson-Erici, M., Parkkonen, J., Pettersson, M., Berg, A., Olsson, P., & Forlin, L. (1999). Ethinylestradiol - an undesired fish contraceptive? *Aquatic Toxicology*, 45(2-3), 91-97. [https://doi.org/10.1016/S0166-445X\(98\)00112-X](https://doi.org/10.1016/S0166-445X(98)00112-X)
- Larsson, D. G. J. (2003). Potentiella miljörisiker med EVRA och Nuvaring. *Information från läkemedelsverket*, 14(1), 4-7.
- Larsson, D. G. J., Adolfsson-Erici, M., & Thomas, P. (2006). Characterization of putative ligands for a fish gonadal androgen receptor in a pulp mill effluent. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 25(2), 419-427. <https://doi.org/10.1897/05-177R.1>
- Liu, X., Zhang, J., Yin, J., Duan, H., Wu, Y., & Shao, B. (2010). Analysis of hormone antagonists in clinical and municipal wastewater by isotopic dilution liquid chromatography tandem mass spectrometry. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 396(8), 2977-2985. <https://doi.org/10.1007/s00216-010-3531-0>
- Liu, Z.-h., Lu, G.-n., Yin, H., Dang, Z., & Rittmann, B. (2015). Removal of Natural Estrogens and Their Conjugates in Municipal Wastewater Treatment Plants: A Critical Review. *Environmental Science & Technology*, 49(9), 5288-5300. <https://doi.org/10.1021/acs.est.5b00399>

- Miguel-Queralto, S., & Hammond, G. L. (2008). Sex hormone-binding globulin in fish gills is a portal for sex steroids breached by xenobiotics. *Endocrinology*, 149(9), 4269-4275. <https://doi.org/10.1210/en.2008-0384>
- OECD. (2011). *Test No. 201: Freshwater Alga and Cyanobacteria, Growth Inhibition Test*. https://www.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-201-alga-growth-inhibition-test_9789264069923-en
- Paulos, P., Runnalls, T. J., Nallani, G., La Point, T., Scott, A. P., Sumpter, J. P., & Huggett, D. B. (2010). Reproductive responses in fathead minnow and Japanese medaka following exposure to a synthetic progestin, Norethindrone. *Aquatic Toxicology*, 99(2), 256-262. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2010.05.001>
- Rocha, M. J., & Rocha, E. (2022). Synthetic Progestins in Waste and Surface Waters: Concentrations, Impacts and Ecological Risk. *Toxics*, 10(4). <https://doi.org/10.3390/toxics10040163>
- Runnalls, T. J., Beresford, N., Kugathas, S., Margiotta-Casaluci, L., Scholze, M., Scott, A. P., & Sumpter, J. P. (2015). From single chemicals to mixtures--reproductive effects of levonorgestrel and ethinylestradiol on the fathead minnow. *Aquat Toxicol*, 169, 152-167. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2015.10.009>
- Runnalls, T. J., Beresford, N., Losty, E., Scott, A. P., & Sumpter, J. P. (2013). Several Synthetic Progestins with Different Potencies Adversely Affect Reproduction of Fish. *Environmental Science & Technology*, 47(4), 2077-2084. <https://doi.org/10.1021/es3048834>
- Schäffer, A., Groh, K. J., Sigmund, G., Azoulay, D., Backhaus, T., Bertram, M. G., & al., e. (2023). Conflicts of Interest in the Assessment of Chemicals, Waste, and Pollution. *Environmental Science & Technology*, 57(48), 19066-19077. <https://doi.org/10.1021/acs.est.3c04213>
- Stanczyk, F. Z., Archer, D. F., & Bhavnani, B. R. (2013). Ethinyl estradiol and 17 β -estradiol in combined oral contraceptives: pharmacokinetics, pharmacodynamics and risk assessment. *Contraception*, 87(6), 706-727. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.contraception.2012.12.011>
- Steinbach, C., Čísař, P., Šauer, P., Klicnarová, J., Schmidt - Posthaus, H., Golovko, O., & Kocour Kroupová, H. (2019). Synthetic progestin etonogestrel negatively affects mating behavior and reproduction in Endler's guppies (*Poecilia wingei*). *Science of The Total Environment*, 663, 206-215. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.01.276>
- Säfholm, M., Norder, A., Fick, J., & Berg, C. (2012). Disrupted Oogenesis in the Frog *Xenopus tropicalis* after Exposure to Environmental Progestin Concentrations¹. *Biology of Reproduction*, 86(4). <https://doi.org/10.1095/biolreprod.111.097378>
- Thorpe, K. L., Cummings, R. I., Hutchinson, T. H., Scholze, M., Brighty, G., Sumpter, J. P., & Tyler, C. R. (2003). Relative Potencies and Combination Effects of Steroidal Estrogens in Fish. *Environmental Science & Technology*, 37(6), 1142-1149. <https://doi.org/10.1021/es0201348>
- Zeilinger, J., Steger - Hartmann, T., Maser, E., Goller, S., Vonk, R., & Länge, R. (2009). Effects of synthetic gestagens on fish reproduction. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 28(12), 2663-2670. <https://doi.org/10.1897/08-485.1>