

Estrogel

M R (F)

Laboratoires Besins

Transdermal gel 0,75 mg/dos
(Klar eller svagt opaliserande)

Östrogen-systemisk effekt

Aktiv substans:

Estradiol

ATC-kod:

G03CA03

Läkemedel från Laboratoires Besins omfattas av
Läkemedelsförsäkringen.

FASS-text: *Denna text är avsedd för vårdpersonal.*

Subventioneras endast som hormonersättningsterapi

Texten är baserad på produktresumé: 2024-01-12

Indikationer

Estrogel är avsett för postmenopausala kvinnor för:

- Hormonersättningsterapi (HRT) för symtom på östrogenbrist, (hos kvinnor som haft sin sista menstruation för minst 6 månader sedan.)
- Förebyggande av osteoporos hos postmenopausala kvinnor med hög risk för framtida frakturer, om de inte tål eller har kontraindikationer mot andra läkemedel godkända för att förebygga osteoporos (se även avsnitt Varningar och försiktighet).

Begränsad erfarenhet föreligger för behandling av kvinnor över 65 år.

Kontraindikationer

- Känd, tidigare genomgången eller misstänkt bröstcancer,
- Kända eller misstänkta östrogenberoende maligna tumörer (t.ex. endometriecancer),
- Odiagnostiserad genital blödning,
- Obehandlad endometriehyperplasi,
- Tidigare eller pågående idiopatisk venös tromboembolism (t.ex. djup ventrombos, lungemboli),
- Kända trombofila sjukdomar (t.ex. protein C-, protein S-, eller antitrombinbrist, se avsnitt Varningar och försiktighet),
- Aktiv eller nyligen genomgången arteriell tromboembolisk sjukdom (t.ex. angina, hjärtinfarkt);
- Leversjukdom eller tidigare leversjukdom så länge leverfunktionstester inte har återgått till det normala,
- Känd överkänslighet mot den aktiva substansen eller mot något hjälpämne som anges i avsnitt Innehåll,
- Porfyri.

Dosering

Dosering

Estrogel är en produkt med enbart östrogen som endast är indicerad för kvinnor utan livmoder. Doseringen varierar beroende på individuella behov.

För behandling av postmenopausala symtom ska den lägsta effektiva dosen på 1,25 g gel per dag (0,75 mg estradiol) vanligtvis administreras under 21 dagar (3 veckor) per månad, följt av en behandlingsfri period på 7 dagar (1 vecka).

Hos kvinnor med kvarvarande livmoder ska tillägg av ett gestagen under minst 12 till 14 dagar per månadscykel (se avsnitt Varningar och försiktighet, Endometriehyperplasi och carcinom) övervägas i enlighet med läkarens ordination och med hänvisning till motsvarande godkänd produktresumé för gestagen. Endast gestagen som godkänts som tillägg till östrogenbehandling ska rekommenderas

Menopausala symtom:

Varje uppmätt dos (varje pumptryckning) från pumpflaskan ger en dos på 1,25 g Estrogel (0,75 mg estradiol).

Vid behandlingsstart och fortsatt behandling av postmenopausala symtom ska lägsta effektiva dos under kortast möjliga period användas (se även avsnitt Varningar och försiktighet).

Den administrerade dosens lämplighet, i förhållande till fortsatta tecken och symtom på menopaus, ska utvärderas minst en gång per år, och dosjusteringar ska göras efter behov.

- Vanlig startdos är ett pumptryck (1,25 g transdermal gel, som innehåller 0,75 mg estradiol) en gång dagligen. Detta är den maximala dosen. Denna dos kommer ge effektiv lindring av menopausala symtom för de flesta kvinnor.

Vid behov kan dosen justeras efter två eller tre behandlingscykler beroende på kliniska symtom.

Om inte tidigare diagnos av endometrios föreligger rekommenderas inte tillägg av gestagen hos hysterektomerade kvinnor.

Behandlingsstart

- | | |
|---|---|
| 1. <i>Kvinnor som är postmenopausala eller har mycket oregelbundna menstruationscykler:</i> | Behandlingen med Estrogel kan påbörjas vilken dag som helst under cykeln. |
| 2. <i>Övergång från en kontinuerlig kombinerad HRT med östrogen och gestagen:</i> | Behandling med Estrogel kan påbörjas vilken dag som helst under cykeln |
| 3. <i>Byte från en cyklisk eller kontinuerlig sekventiell HRT-behandling:</i> | Avsluta det terapeutiska sekvenspreparatet innan du påbörjar behandling med Estrogel. |

Förebyggande av osteoporos:

Lägsta effektiva dos för förebyggande av osteoporos är inte känd.

- Lägsta tillgängliga dos av Estrogel är ett pumptryck (1,25 g gel som innehåller 0,75 mg estradiol).

Administreringssätt

Innan du använder en ny pumpflaska måste den aktiveras: Den första dosen med gel ska kasseras.

Gelen ska appliceras av patienten själv, inte av någon annan. Hudkontakt med andra vuxna och barn ska undvikas under en timme efter applicering.

Rätt dos gel ska tryckas ut och appliceras på rena, torra, oskadade hudområden.

Applicera ett tunt lager av gelen på hela armen på insidan och utsidan från handleden till axeln, eller största möjliga område med oskadad hud. Appliceringsområdet ska vara så stort som möjligt, (se bild 1)

Normalt ska ett pumptryck från behållaren appliceras på armen och/eller axel (och/ eller insida av låret).

Appliceringsområden:



Armar från handlederna till axlarna



Insidan av låren

Estrogel måste få torka i 5 minuter innan påklädning.

Patienterna ska informeras om att barn inte ska komma i kontakt med det område på kroppen där estradiol gel applicerats (se avsnitt Varningar och försiktighet).

Estrogel ska **INTE** appliceras på eller i närheten av bröstet eller blygdläpparna.

Patienten ska uppmanas att tvätta händerna noga med tvål och vatten efter applicering av gelen.

Tvättning av behandlad hud eller kontakt med andra hudvårdsprodukter bör undvikas tills minst en timme efter applicering av Estrogel.

Om patienten glömmer att applicera en dos och det är mer än 12 timmar till nästa dos, skall den missade dosen appliceras och normal dosering återupptas följande dag. Om det är mindre än 12 timmar till nästa dos är det bäst att bara vänta och applicera nästa dos som vanligt.

Patienter bör avrådas från att applicera två doser samtidigt.

Glömd dos kan öka sannolikheten för genombrottsblödning och småblödningar.

Patienten ska informeras om att om oavsiktlig kontakt mellan en annan person och ett behandlingsområde på patientens hud som inte har tvättats eller täckts med kläder skulle inträffa, ska den andra personen tvätta det hudområde som varit i kontakt snarast möjligt med tvål och vatten.

Pediatrisk population

Det finns ingen relevant användning av Estrogel för en pediatrisk population.

Varningar och försiktighet

- För behandling av postmenopausala symtom, ska HRT endast initieras för symtom som har en negativ inverkan på livskvaliteten. I samtliga fall ska en noggrann bedömning av risker och nytta göras minst en gång om året och behandling med HRT ska endast fortsätta så länge nyttan uppväger risken.
- Bevis gällande de risker som är associerade med HRT vid behandling av prematur menopaus är begränsade. På grund av den låga nivån av absolut risk hos yngre kvinnor kan dock förhållandet mellan nytta och risker vara mer fördelaktigt för dessa kvinnor än för äldre kvinnor.

Medicinsk undersökning och uppföljning:

Innan HRT påbörjas eller återupptas ska en fullständig anamnes tas upp, både personlig och familjär. Kropps- (som inkluderar en gynekologisk undersökning och en undersökning av bröstet) undersökning ska göras med hänsyn tagen till denna och till kontraindikationer och varningar vid behandlingen. Under behandlingstiden rekommenderas regelbundna kontroller vars frekvens och utformning bör anpassas till den enskilda kvinnan. Kvinnan ska informeras om vilken typ av förändringar i bröstet hon ska rapportera till sin läkare eller sjuksköterska (se "Bröstcancer" nedan). Undersökningar, inklusive lämplig avbildningsteknik, t.ex. mammografi, ska utföras i enlighet med gällande rutiner för screening, som anpassas efter den enskilda kvinnans kliniska behov.

Tillstånd som kräver skärpt uppmärksamhet:

Vid förekomst av något av nedan angivna tillstånd eller om patienten tidigare haft tillståndet och/eller om det förvärrats under graviditet eller tidigare hormonbehandling ska patienten övervakas

noggrant. Hänsyn ska tas till att dessa tillstånd kan återkomma eller förvärras vid behandling med Estrogel, i synnerhet:

- Leiomyom (uterin fibroid) eller endometrios,
- Riskfaktorer för tromboembolisk sjukdom (se nedan),
- Riskfaktorer för östrogenberoende tumörer (t.ex. första gradens ärftlighet för bröstcancer),
- Hypertoni,
- Leversjukdomar (t.ex. leveradenom);
- Diabetes mellitus med eller utan kärlkomplikation,
- Gallstenssjukdom,
- Migrän eller (svår) huvudvärk,
- Systemisk lupus erythematosus (SLE),
- Tidigare endometriehyperplasi (se nedan),
- Epilepsi,
- Astma,
- Otoskleros

Skäl till omedelbar utsättning av behandling.

Behandlingen ska avbrytas om en kontraindikation upptäcks och i följande situationer:

- Gulsot eller försämrad leverfunktion,
- Signifikant ökning av blodtrycket,
- Debut av migränliknande huvudvärk,
- Graviditet.

Endometriehyperplasi och carcinom:

- Hos kvinnor med kvarvarande livmoder ökar risken för endometriehyperplasi och karcinom när enbart östrogen

administreras under en längre tid. Den rapporterade ökningen av risk för endometriecancer hos kvinnor behandlade med enbart östrogen varierar mellan 2 till 12 gånger större risk i jämförelse med icke-behandlade, beroende på behandlingens längd och östrogendos (se avsnitt Biverkningar).

Efter avslutad behandling kan risken förbli förhöjd i minst 10 år.

Dosen är ett pumptryck (1,25 g transdermal gel, som innehåller 0,75 mg estradiol) en gång dagligen.

- Tillägg av ett gestagen cykliskt under minst 12 till 14 dagar per månadscykel hos icke-hysterektomerade kvinnor minskar den ökade risken associerad med HRT med enbart östrogen.
- Den endometriella säkerheten från tillägg av gestagen har inte påvisats.
- Genombrottsblödningar och småblödningar kan förekomma under de första behandlingsmånaderna. Om genombrottsblödning eller småblödning uppträder efter en viss tids behandling eller fortsätter efter avslutad behandling, ska orsaken utredas, vilket kan inkludera endometriebiopsi för att utesluta endometriemalignitet.
- Ohämmad östrogenstimulering kan leda till premaligna eller maligna förändringar av kvarvarande endometrioshärdar. Därför ska tillägg av gestagen till en östrogensubstitution övervägas hos kvinnor som genomgått hysterektomi p.g.a. endometrios om det är känt att de har kvarvarande endometrioshärdar.

Bröstcancer:

Den samlade kunskapen visar att det finns en ökad risk för bröstcancer hos kvinnor som använder HRT med en kombination av östrogen-gestagen eller med enbart östrogen. Risken är beroende av behandlingens längd.

Kombinerad östrogen-gestagen-behandling

Den randomiserade placebokontrollerade studien *the Women's Health Initiative (WHI)*, och en metaanalys av prospektiva epidemiologiska studier påvisar konsekvent ökad risk för bröstcancer hos kvinnor som behandlas med östrogen-gestagen i kombination som HRT som blir påtaglig efter ungefär 3 (1-4) år (se avsnitt Biverkningar).

Behandling med enbart östrogen

WHI-studien fann ingen ökad risk för bröstcancer hos kvinnor som genomgått hysterektomi och som använde HRT med enbart östrogen. Observationsstudier har mestadels rapporterat en liten ökad risk för bröstcancer som är lägre än risken som hittats för östrogen-progestagen-kombinationer (se avsnitt Biverkningar).

Resultat från en stor metaanalys visade att den ökade risken minskar med tiden efter avslutad behandling, och att den tid det tar för att återgå till baslinjevärdena beror på hur länge den tidigare HRT-behandlingen har varat. Om HRT tagits i mer än 5 år kan risken kvarstå i 10 år eller mer.

HRT, särskilt kombinationsbehandling med östrogen-gestagen, ökar densiteten på mammografibilder, vilket kan försvåra möjligheten att radiologiskt upptäcka bröstcancer.

Ovarialcancer:

Ovarialcancer är mycket mer sällsynt än bröstcancer. Hos kvinnor som tar HRT med enbart östrogen eller kombinerat östrogen-gestagen, finns enligt epidemiologiska belägg från en stor metaanalys, en lätt förhöjd risk som blir uppenbar efter 5 års användning och minskar med tiden efter avslutad användning. Enligt andra studier, däribland WHI-studien, kan användning av kombinerade HRT vara förknippad med en liknande, eller något lägre, risk (se avsnitt Biverkningar).

Venös tromboembolisk sjukdom:

HRT är förenad med en 1,3 till 3 gånger ökad risk för att utveckla venös tromboembolism (VTE), d.v.s. djup ventrombos eller lungemboli. Förekomsten av en sådan händelse är mer trolig under det första året med HRT än senare (se avsnitt Biverkningar).

Patienter med kända trombofila anomalier löper en ökad risk för VTE och HRT kan öka denna risk. HRT är därför kontraindicerat hos dessa patienter (se avsnitt Kontraindikationer).

Allmänt erkända riskfaktorer för VTE inkluderar användning av östrogener, hög ålder, stora kirurgiska ingrepp, långvarig immobilisering, fetma ($BMI > 30 \text{ kg/m}^2$), graviditet/postpartum-perioden, systemisk lupus erythematosus (SLE) och cancer. Det råder ingen konsensus om den möjliga rollen för åderbräck i samband med VTE.

Som hos alla postoperativa patienter bör förebyggande åtgärder för att förhindra VTE noggrant övervägas efter ett kirurgiskt ingrepp. Om längre tids immobilisering kan förväntas efter en

planerad operation rekommenderas att HRT tillfälligt avbryts 4-6 veckor innan operationen. Behandlingen ska inte återupptas förrän kvinnan är fullständigt mobiliserad.

Kvinnor utan egen anamnes på VTE, men med en förstahandssläkting med anamnes på trombos i ung ålder, kan erbjudas utredning efter noggrann rådgivning angående dess begränsningar (endast en del av trombofila defekter identifieras av en utredning).

Om en trombofil defekt identifieras som en annan typ än trombos hos familjemedlemmar eller om defekten är "svår" (t.ex. antitrombin-, protein S- eller protein C-brister, eller en kombination av defekter) så är HRT kontraindicerat.

Kvinnor som redan får långvarig behandling med antikoagulantia kräver noggrann bedömning av nytta/risk-förhållandet för användning med HRT.

Om VTE utvecklas efter påbörjad behandling ska läkemedlet sättas ut. Patienter ska uppmanas att omedelbart kontakta sin läkare vid potentiella tromboemboliska symtom (t.ex. vid smärtsam svullnad av ett ben, plötslig bröstsmärta, dyspné).

Kranskärslssjukdom (CAD)

Randomiserade kontrollerade studier har inte kunnat påvisa något skydd mot hjärtinfarkt hos kvinnor med eller utan befintlig kranskärslssjukdom som behandlats med kombinerat östrogen-gestagen eller HRT med enbart östrogen.

Kombinerad östrogen-gestagen-behandling

Den relativa risken för kranskärslssjukdom under behandling med kombinerat östrogen-gestagen HRT är något ökad. Eftersom baslinjen för absolut risk för kranskärslssjukdom är starkt kopplat till ålder, är antalet extra fall av kranskärslssjukdom på grund av användning av östrogen-gestagen väldigt lågt hos friska kvinnor nära menopaus, men ökar med stigande ålder.

Behandling med enbart östrogen

Randomiserade kontrollerade data fann ingen ökad risk för kranskärslssjukdom hos hysterektomerade kvinnor som behandlats med enbart östrogen.

Ischemisk stroke

Behandling med kombinerad östrogen-gestagen och med enbart östrogen, är associerat med upp till 1,5 gånger ökad risk för ischemisk stroke. Den relativa risken förändras inte med ålder eller tidsintervall efter menopaus. Dock ökar den övergripande risken för stroke med åldern hos kvinnor som behandlas med HRT, eftersom baslinjen för stroke-risk är starkt åldersberoende (se avsnitt Biverkningar).

Potentiell överföring av estradiol till barn

Estradiol gel kan oavsiktligt överföras till barn från det hudområde där den har applicerats.

Efter godkännandet för försäljning har rapporter förekommit om knoppande bröst och bröstknutor hos prepubertala flickor, för tidig pubertet, gynekomasti och bröstknutor hos prepubertala pojkar, efter oavsiktlig sekundär exponering för estradiol gel. I de flesta fall gick tillståndet tillbaka efter avbruten exponering för estradiol.

Patienterna ska instrueras att:

- inte låta andra personer, i synnerhet inte barn, komma i kontakt med det exponerade hudområdet och att om det behövs bära kläder som täcker appliceringsstället. Vid kontakt ska barnets hud tvättas med tvål och vatten så snart som möjligt.
- söka läkare om ett barn som oavsiktligt kan ha exponerats för estradiol gel uppvisar tecken och symtom på detta (bröstutveckling eller andra förändringar relaterade till könsmognad).

Andra tillstånd:

Östrogener kan ge vätskeretention och därför bör patienter med nedsatt hjärt- eller njurfunktion observeras noga.

Kvinnor med känd hypertriglyceridemi ska följas upp noggrant under östrogensubstitution eller hormonersättningsterapi eftersom sällsynta fall av starkt förhöjda triglyceridnivåer i plasma som kan leda till pankreatit har rapporterats vid östrogenbehandling med detta tillstånd.

Exogena östrogener kan inducera eller förvärra symtom på ärftligt och förvärvat andioödem.

Östrogener ökar mängden av tyreoidabindande globulin (TBG), vilket medför ökade nivåer av cirkulerande tyreoidahormon, mätt såsom proteinbundet jod (PBI), T4-nivåer (mätt med kolonn eller med radioimmunologisk analys) och T3-nivåer (mätt med radioimmunologisk analys). T3-resinupptaget minskar, vilket speglar de ökade nivåerna av TBG. Koncentrationerna av fritt T4 och fritt T3 är opåverkade. Även andra bindarproteiner kan öka i

serum, t.ex. kortikosteroidbindande globulin (CBG) och könshormonbindande globulin (sex hormone binding globulin, SHBG), vilket avspeglas i ökade nivåer av cirkulerande kortikosteroider respektive könssteroider. De fria eller biologiskt aktiva hormonkoncentrationerna förändras dock inte. Andra plasmaproteiner kan öka (angiotensin/reninsubstrat, alfa-1-antitrypsin, ceruloplasmin).

Användning av HRT förbättrar inte kognitiv funktion. Det finns vissa bevis för en ökad risk för trolig demens hos kvinnor som börjar använda kontinuerlig kombinerad HRT eller HRT med enbart östrogen efter 65 års ålder.

ALAT stegringar

Under kliniska prövningar med patienter som behandlas för hepatit C virus (HCV) infektioner med kombinationsregimen ombitasvir/paritaprevir/ritonavir med och utan dasabuvir, var ALAT stegringar större än 5 gånger den övre normalvärdegränsen (ULN) betydligt mer frekventa hos kvinnor som använder etinylestradiol-innehållande läkemedel såsom CHCs. Dessutom, också hos patienter som behandlas med glekaprevir/pibrentasvir, observerades ALAT stegringar hos kvinnor som använder etinylestradiol-innehållande läkemedel såsom CHCs. Kvinnor som använder medicinska produkter som innehåller andra östrogener än etinylestradiol, såsom estradiol, hade en ALAT stegring lik de som inte fått några östrogener; På grund av begränsade antal kvinnor som tar dessa andra östrogener krävs dock försiktighet vid samtidig administrering med kombinationen ombitasvir/paritaprevir/ritonavir med eller utan dasabuvir och även kombinationen glekaprevir/pibrentasvir, se avsnitt Interaktioner.

Estrogel innehåller etanol

Detta läkemedel innehåller 500 mg alkohol (etanol) per 1,25 g, motsvarande 400 mg/g (40% w/w). Det kan orsaka en brännande känsla på skadad hud. Denna produkt är brandfarlig tills den är torr.

Interaktioner

Metabolismen av östrogener kan öka vid samtidig behandling med substanser som är kända för att inducera enzym som metaboliserar läkemedel, speciellt cytokrom P450-enzym, såsom antiepileptika (t.ex. fenobarbital, fenytoin, karbamazepin) och antiinfektiva medel (t.ex. rifampicin, rifabutin, nevirapin, efavirenz). Trots att ritonavir, och nelfinavir är kända som hämmare av läkemedelsmetaboliserande enzym, har dessa substanser, när de ges tillsammans med steroidhormoner, inducerande egenskaper. Traditionella växtbaserade läkemedelinnehållande johannesört (*Hypericum perforatum*) kan också inducera metabolismen av östrogener.

Vid transdermal administrering undviks förstapassageeffekt i levern och transdermalt applicerade östrogener kan således påverkas mindre än orala hormoner av enzyminducerare.

Kliniskt kan en ökad metabolism av östrogener leda till minskad effekt och ändrad uterin blödningsprofil.

Behandling med ytaktiva medel (t.ex. natriumlaurilsulfat) eller andra läkemedel som ändrar barriärfunktionen, kan avlägsna läkemedel bundet till huden och på så vis ändra det transdermala flödet. Därför ska patienter undvika att använda starka

hudrengörare och rengöringsmedel (t.ex. produkter med bensalkonium eller bensenoniumklorid), hudvårdsprodukter med hög alkoholhalt, sammandragande medel, solskydd och keratolytika (t.ex. salicylsyra, mjölksyra).

Samtidig användning av hudläkemedel som ändrar hudproduktionen (t.ex. cytotoxiska läkemedel) ska undvikas.

Effekt av HRT med östrogener på andra läkemedel

Hormonella preventivmedel som innehåller östrogener har visat sig signifikant minska plasmakoncentrationerna av lamotrigin vid samtidig administrering på grund av inducering av lamotriginglukuronidering. Detta kan minska anfallskontrollen.

Även om den potentiella interaktionen mellan hormonersättningsterapi och lamotrigin inte har studerats, förväntas det att en liknande interaktion existerar, vilket kan leda till minskad anfallskontroll bland kvinnor som tar båda läkemedlen samtidigt.

Farmakodynamiska interaktioner

Under kliniska prövningar med läkemedelskombinationen ombitasvir/paritaprevir/ritonavir för HCV med och utan dasabuvir, var ALAT stegringar större än 5 gånger den övre normalvärdegränsen (ULN) betydligt mer frekventa hos kvinnor som använder etinylestradiol-innehållande läkemedel såsom CHCs. Kvinnor som använder medicinska produkter som innehåller andra östrogener än etinylestradiol, såsom estradiol, hade en ALAT stegring lik de som inte fått några östrogener; På grund av begränsade antal kvinnor som tar dessa andra östrogener krävs dock försiktighet vid samtidig administrering med kombinationen

ombitasvir/paritaprevir/ritonavir med eller utan dasabuvir och även kombinationen glekaprevir/pibrentasvir, se avsnitt Varningar och försiktighet.

Graviditet

Estrogel är inte indicerat under graviditet. Om graviditet inträffar eller misstänks, under medicinering med Estrogel ska behandlingen omedelbart utsättas.

Hotande missfall och hämmad amning utgör inte indikationer för östrogenbehandling.

Resultaten av de flesta epidemiologiska studier som är relevanta avseende oavsiktlig exponering av foster för östrogener tyder inte på några teratogena eller fetotoxiska effekter.

Amning

Estrogel är inte indicerat under amning.

Fertilitet

Estrogel är inte indicerat vid fertilitet.

Trafik

Estrogel har ingen eller försumbar effekt på förmågan att framföra fordon och använda maskiner.

Biverkningar

Sammanfattning av säkerhetsprofilen

Biverkningarna är i allmänhet lindriga och kräver sällan att behandlingen sätts ut. Biverkningar, om sådana förekommer, inträffar vanligtvis under de första behandlingsmånaderna.

Biverkningar som observerats hos HRT-produkter som används vid menopaus redovisas i tabellen nedan:

Biverkningarna kategoriserades som mycket vanliga ($\geq 1/10$), vanliga ($\geq 1/100$ till $< 1/10$), mindre vanliga ($\geq 1/1\ 000$ till $< 1/100$) eller sällsynta ($\geq 1/10\ 000$ till $< 1/1\ 000$).

Klassificering av organsystem		Vanliga biverkningar ($\geq 1/100$, $< 1/10$)	Mindre vanliga biverkningar ($\geq 1/1\ 000$, $< 1/100$)	Sällsynta biverkningar ($\geq 1/10\ 000$ till $< 1/1\ 000$)
Metabolism och nutrition				Glukosintolerans
Psykiska störningar			Depression Humörsvängningar	Förändringar i libido
Centrala och perifera nervsystemet		Huvudvärk	Yrsel Migrän	Förvärrad epilepsi
Magtarmkanalen		Illamående Buksmärta	Flatulens Kräkningar	
Ögon				Kontaktlinstolerans
Blodkärl			Venös tromboembolisk sjukdom	Arteriell hypertoni
Lever och gallvägar				Avvikande leverfunktionssvärden

				Kolestas och gulsot
Hud och subkutan vävnad			Klåda	Missfärgning av huden Akne
Muskuloskeletala systemet och bindväv				Skelettsmärta
Reproduktionsorgan och bröstkörtel		Svullnad/smärta i bröst Bröstförstoring Dysmenorré, Menorragi Metrorragi, Leukorré Endometriehyperplasi	Godartade bröstneoplasmer Ökad volym av myom i livmodern, Leiomyom Vaginit/vaginal candidiasis	
Allmänna symtom och/eller symtom vid administreringsstället		Viktförändring (ökning eller minskning) Vätskeansamling med perifert ödem	Asteni	Anafylaktisk reaktion (hos kvinnor med anamnes på allergisk reaktion)

Andra biverkningar har rapporterats i samband med östrogen/gestagen-behandling:

- Gallblåsesjukdom.
- Hud- och subkutana sjukdomar: kloasma, erytema multiforme, vaskulär purpura.
- Trolig demens över 65 års ålder (se avsnitt Varningar och försiktighet).

Risken för bröstcancer

- En upp till dubblerad risk för att få diagnosen bröstcancer har rapporterats för kvinnor som tagit kombinerad behandling med östrogen och gestagen i mer än 5 år.
- Den ökade risken för kvinnor som använder enbart östrogen är lägre än för de kvinnor som använder en kombination av östrogen och gestagen.
- Risknivån är beroende av användningstidens längd (se avsnitt Varningar och försiktighet).

Beräkning av absolut risk baserad på resultat från den största randomiserade placebokontrollerade studien (WHI-studien) och den största metaanalysen av prospektiva epidemiologiska studier presenteras nedan.

Den största metaanalysen av prospektiva epidemiologiska studier

Beräknad ökad risk för bröstcancer efter 5 års användning hos kvinnor med BMI 27 (kg/m²)

Ålder vid HRT-start (år)	Incidens per 1 000 kvinnor som aldrig använt HRT und	Riskkvot	Antal extra fall per 1 000

	er en 5-årsperiod (50-54 år)* ²		kvinnor som använt HRT efte r 5 år
HRT med enbart östrogen			
50	13,3	1,2	2,7
Kombination östrogen-gestagen			
50	13,3	1,6	8,0
*² Tagen från incidenstal i utgångsläget i England 2015 hos kvinnor mer BMI 27 (kg/m²). Obs! Eftersom bakgrundsincidensen för bröstcancer varierar mellan olika EU-länder, förändras även antalet extra fall av bröstcancer proportionellt.			

Beräknad ökad risk för bröstcancer efter 10 års användning hos kvinnor med BMI 27 (kg/m²)

Ålder vid HRT-st art (år)	Incidens per 1 000 kvinnor som aldrig använt HRT und er en 10-årsperiod (50-59 år)* ²	Riskkvot	Ytterligare fall per 1 000 HRT-a nvändare 10 år
HRT med enbart östrogen			
50	26,6	1,3	7,1
Kombination östrogen-gestagen			
50	26,6	1,8	20,8
*² Taget från incidenstal i utgångsläget i England 2015 hos kvinnor mer BMI 27 (kg/m²).			

Obs! Eftersom bakgrundsincidensen för bröstcancer varierar mellan olika EU-länder, förändras även antalet extra fall av bröstcancer proportionellt.

United States WHI studies - extra risk för bröstcancer efter 5 års användning

Ålder (år)	Incidens per 1 000 kvinnor i placebogrupper under 5 år	Relativ risk och 95% KI	Extra fall per 1 000 användare av HRT under 5 år (95 % KI)
CEE enbart östrogen			
50-79	21	0,8 (0,7-1,0)	-4 (-6-0) *3
CEE + MPA östrogen-gestagen‡			
50-79	17	1,2 (1,0-1,5)	+4 (0-9)
*³- WHI-studien av kvinnor utan livmoder, som inte visade på en ökad risk för bröstcancer. ‡ När analysen begränsades till kvinnor som före studien inte hade använt HRT fanns ingen uppenbar ökad risk under de första 5 behandlingsåren: efter 5 år var risken högre än hos icke-användare			

Risk för endometriecancer

Postmenopausala kvinnor med en livmoder.

Risken för endometriecancer är cirka 5 fall per 1 000 kvinnor med kvarvarande livmoder som inte använder HRT.

För kvinnor med kvarvarande livmoder rekommenderas inte användning av HRT med enbart östrogen eftersom det ökar risken för endometriecancer (se avsnitt Varningar och försiktighet).

Beroende på behandlingstidens längd och dosen östrogen, varierade riskökningen för endometriecancer i epidemiologiska studier mellan 5 och 55 extra diagnostiserade fall per 1 000 kvinnor i åldern mellan 50 och 65 år.

Tillägg av en gestagen till behandlingen med enbart östrogen i minst 12 dagar per cykel kan förebygga denna ökade risk. I studien "Million Women Study" visade fem års användning av kombinerad HRT (sekventiell eller kontinuerlig) ingen ökad risk för endometriecancer (RR av 1,0 [0,8-1,2]).

Ovarialcancer

Långvarig användning av HRT med enbart östrogen eller HRT med kombinerat östrogen-gestagen har förknippats med en lätt förhöjd risk för att få diagnosen ovarialcancer (se avsnitt Varningar och försiktighet).

Vid en metaanalys från 52 epidemiologiska studier upptäcktes en förhöjd risk för ovarialcancer hos kvinnor som för närvarande använder HRT jämfört med kvinnor som aldrig använt HRT (RR 1,43; 95-procentigt KI 1,31-1,56). För kvinnor i åldern 50 till 54 år som tar HRT i 5 år resulterar detta i omkring 1 extra fall per 2 000 användare. För kvinnor i åldern 50 till 54 som inte tar HRT kommer ungefär 2 av 2 000 kvinnor få diagnosen ovarialcancer under en 5-årsperiod.

Risk för venös tromboembolism

HRT är associerat med en 1,3-3 gånger större relativ risk för att utveckla venös tromboembolism (VTE), dvs. djup ventrombos eller lungemboli. Förekomsten av en sådan händelse är mer trolig under det första året som HRT används (se avsnitt Varningar och försiktighet). Resultat från WHI-studierna presenteras nedan:

WHI-studierna - extra risk för venös tromboembolism över 5 års användning

Ålder (år)	Incidens per 1 000 kvinnor i placebogruppern under 5 år	Risikförhållande och 95 % KI	Extra fall per 1 000 användare av HRT
Enbart östrogen (oralt) ^{*4}			
50-59	7	1,2 (0,6-2,4)	1 (-3-10)
Kombinerat östrogen-gestagen (oralt)			
50-59	4	2,3 (1,2-4,3)	5 (1-13)
^{*4} Studie på kvinnor utan livmoder			

Risk för kranskärslsjukdom

Risken för kranskärslsjukdom är något förhöjd hos användare av HRT med kombinerat östrogen-gestagen över 60 års ålder (se avsnitt Varningar och försiktighet).

Risk för ischemisk stroke

Användning av enbart östrogen och kombinerad östrogen-gestagenbehandling är associerat med upp till 1,5 gånger ökad relativ risk för ischemisk stroke. Risken för hemorragisk stroke är inte ökad under användning av HRT.

Denna relativa risk är inte beroende av ålder eller behandlingstidens längd, men eftersom baslinjerisken är starkt beroende av ålder, kommer den totala risken för stroke hos kvinnor som använder HRT att öka med åldern, se avsnitt Varningar och försiktighet.

Alla WHI-studierna kombinerade - extra risk för ischemisk stroke*⁵ över 5 års användning

Ålder (år)	Incidens per 1 000 kvinnor i placebogruppern under 5 år	Risikförhållande och 95 % KI	Extra fall per 1 000 användare av HRT under 5 år
50-59	8	1,3 (1,1-1,6)	3 (1-5)
* ⁵ : Ingen differentiering gjordes mellan ischemisk och hemorragisk stroke			

Rapportering av misstänkta biverkningar

Det är viktigt att rapportera misstänkta biverkningar efter att läkemedlet godkänts. Det gör det möjligt att kontinuerligt övervaka läkemedlets nytta-riskförhållande. Hälso- och sjukvårdspersonal uppmanas att rapportera varje misstänkt biverkning till Läkemedelsverket, men alla kan rapportera misstänkta biverkningar till Läkemedelsverket, www.lakemedelsverket.se.

Postadress

Läkemedelsverket

Box 26

751 03 Uppsala

Överdoser

Smärta i bröstet eller överdriven produktion av livmoderssekret kan vara tecken på för hög dosering, men akut överdosering har inte rapporterats och det är osannolikt att det kan utgöra ett problem. Överdoser av östrogen kan orsaka illamående, och bortfallsblödning kan förekomma. Det finns inget specifikt botemedel och behandling ska vara symtomatisk.

Farmakodynamik

Den aktiva substansen, 17β östradiol, är kemiskt och biologiskt identisk med endogent humant estradiol. Den ersätter den förlorade östrogenproduktionen hos menopausala kvinnor och lindrar menopausala symtom. Estrogel förebygger att benmassan minskar efter menopaus eller ovariectomi.

Verkningsmekanism

Estrogel tillhör gruppen med naturliga fysiologiska östrogener. Den aktiva substansen är kemiskt och biologiskt identisk med endogent humant estradiol. Den möjliggör systemisk administrering av 17β -estradiol genom applicering på oskadad hud. Den ersätter den förlorade östrogenproduktionen hos menopausala eller ovariectomerade kvinnor och lindrar menopausala symtom. Östrogener förebygger att benmassan minskar efter menopaus eller ovariectomi.

Östrogener bildar ett komplex med en specifik receptor som främst stimulerar DNA- och proteinsyntes på intracellulär nivå. De utövar sina metaboliska effekter på "mål"-organen. Det mest aktiva östrogenet på receptornivå är estradiol, som huvudsakligen produceras av ovarialfolliklar, från menarche till menopaus. Estrogel kommer därför att utöva en östrogenisk effekt på de

huvudsakliga "mål"-organen – inte bara äggstockarna, endometrium och bröst, men även hypotalamus, hypofys, vagina, urinrör och lever – liknande den som vanligtvis ses i follikelfasen.

Transdermal administrering av Estrogel undviker effekten med "förstapassagen genom levern" som för med sig en ökad syntes av angiotensinogen, VLDL lipoproteiner (triglycerider) och vissa koagulationsfaktorer.

Information om klinisk prövning

Lindring av menopausala symtom:

Lindring av menopausala symtom uppnåddes under de första behandlingsveckorna.

Profilen för bortfallsblödning eller nivå av amenorré beror på den individuella doseringsregimen med östrogen-gestagen.

Förebyggande av osteoporos:

Östrogenbrist vid menopaus är förknippat med en ökad benomsättningen och minskning av benmassan.

Effekten av östrogener på benmineraldensiteten är dosberoende. Skyddet verkar vara effektivt så länge behandlingen fortsätter. Efter utsättning av HRT, förloras benmassan i en liknande takt som för obehandlade kvinnor.

Resultat från WHI-studien och från meta-analys av andra studier visar att aktuell användning av HRT med enbart östrogen eller med östrogen-gestagen i kombination, som ges till företrädesvis friska kvinnor, minskar risken för höft- och kotfrakturer och andra

osteoporotiska frakturer. HRT kan även förebygga risken för frakturer hos kvinnor med låg bendensitet och/eller fastställd osteoporos, men bevisen för det är begränsade.

Efter 2 års behandling med 2,5 g Estrogel (2 pumptryck per dag) var ökningen av benmineraltätheten i ländryggen (BMD) mellan $1,2 \pm 0,5 \%$ och $5,6 \pm 2,9 \%$ (medelvärde $\pm$ SD). Efter tre års behandling med 2,5 g Estrogel, var ökningen av benmineraltätheten i ländryggen (BMD) mellan $1,2 \pm 0,9 \%$ /år och $4,7 \pm 3,2 \%$. Denna ändring i BMD liknade den som visas med konjugerade ekvina östrogener (CEE) (oralt) vid en daglig dos på 0,625 mg/dag. Andelen kvinnor som bibehållit eller förbättrat BMD i ländryggsområdet under behandling var 90 %.

Estrogel hade även effekt på höft-BMD. En betydande förlust av $1,3 \pm 0,3 \%$ /år observerades på den proximala femur i kontroll-estriol-gruppen, medan ingen betydande förändring observerades i Estrogel-gruppen. Skillnaden mellan bägge grupperna var signifikant ($P < 0,05$).

Farmakokinetik

Absorption

Farmakokinetiska studier indikerar att då den appliceras lokalt på ett stort hudområde med ett flyktigt lösningsmedel, absorberas ungefär 10 % av estradiolet perkutant in i kärlsystemet, oavsett patientens ålder.

Daglig användning av 2,5 g eller 5 g Estrogel över ett område som är minst 750 cm^2 resulterar i en gradvis ökning av östrogen i blodnivån till steady state efter ungefär 3-5 dagar och tillhandahåller nivåer av både cirkulerande estradiol och

östronmotsvarighet i absoluta koncentrationer och i deras respektive förhållande till de som erhållits under tidigt mittstadie i menstruationscykelns follikelfas.

Estrogel administrerades till 17 postmenopausala kvinnor en gång om dagen på baksidan av ena armen från handleden till axeln under 14 dagar i rad.

Maximal serumkoncentration (C_{max}) av estradiol och östron på dag 12 var 117 pg/ml respektive 128 pg/ml.

Doseringsmedelvärdet för estradiol- och östronkoncentrationer ($C_{average}$) i serum över dosintervallet på 24 timmar efter administrering av 2,5 g Estrogel på dag 12 var 76,8 pg/ml respektive 95,7 pg/ml.

Två C_{min} - (genom plasma) värden erhöles på dagarna 11-13: $C_{min A}$ var den absoluta minimumkoncentrationen som observerades under doseringsintervallet på 24 timmar och $C_{min B}$ var dalvärdena 24 timmar efter dosen. $C_{min A}$ -värdena på dag 12 efter administrering av 2,5 g Estrogel för estradiol och östron var 42,1 pg/ml respektive pg/ml. $C_{min B}$ -värdena för estradiol och östron var 68,8 respektive 90,2 pg/ml.

Absorption av transdermala östrogener kringgår leverns första passage-effekt. Detta verkar ge mer stabila serumnivåer av estradiol utan suprafysiologiska koncentrationer i levern. Genom att undvika förstapassagemetabolism, kan transdermal hormonbehandling kan ha mindre uttalade effekter på nedsatt proteinsyntes i levern, såsom inflammatoriska markörer, koagulations- och fibrinolysmarkörer, triglycerider och

steroidbindande proteiner, medan oral hormonbehandling har mer uttalade hyper-koagulerings effekter och ökar syntes av C-reaktivt protein och fibrinolytiska markörer.

Distribution

Estradiol har en omfattande bindning till plasmaproteiner, främst könshormonbindande globulin (SHBG) och i mindre utsträckning till albumin. Endast ungefär 2 % är fritt och biologiskt aktivt.

Vävnadsdistribution av obundet östradiol är snabbt och vidsträckt.

Metabolism

Peroralt administrerade östrogener är föremål för betydande magtarmkanals- och förstapassage-metabolism, vilket kan leda till ofördelaktiga följder som förändringar i hepatisk proteinsyntes och metabolism. Transdermala östrogener erbjuder däremot ett bättre sätt att tillföra läkemedel genom att föra östrogenet direkt in i blodomloppet, genom att kringgå tarmväggen och förstapassagemetabolism i levern, vilket leder till estradiol- och östronvärden som ligger nära de som premenopausala kvinnor har.

När det absorberats av systemet, metaboliseras transdermalt applicerat estradiol på samma sätt som det endogena hormonet. Estradiol metaboliseras främst i levern till östron, sedan till estriol, epioestriol och katekol-östrogener, som sedan konjugeras till sulfater och glukuronider. Metabolismen omfattar flera CYP-isoenzymmer men medlas främst av CYP3A4. Östriol är glukuronideras av UGT1A1. Estradiol-metaboliter hamnar i det enterohepatiska kretsloppet.

Eliminering

Utsöndring sker huvudsakligen via urinen (som konjugerade metaboliter). Endast en liten mängd utsöndras i avföringen. När behandlingen avbryts, återgår estradiol och urinutsöndrade estradiolkoncentrationer till baslinjen efter ungefär 76 timmar.

Linjäritet/icke-linjäritet

Under de första timmarna efter applicering av gelen (mellan 2 och 12 timmar) uppnås estradiolnivåer som är direkt proportionerliga med dosens storlek. Efter flera doser, visar estradiolnivåerna en dosrelaterad men mindre än dosproportionerlig ökning av både (C_{max}) och AUC (0-24h): I en rapporterad studie, rapporterades de genomsnittliga serumnivåerna av estradiol efter 11-13 dagar ligga inom intervallet $68,1 \pm 27,4$ pg/ml (för en daglig dos som innehåller 1,5 mg estradiol) och $102,9 \pm 39,9$ pg/ml (för en daglig dos innehållande 3 mg estradiol). Det finns begränsade data om effekterna av östradiol hos kvinnor över 65 år (se avsnitt Indikationer; Indikationer)

Prekliniska uppgifter

Ingen relevant information utöver den som redan finns i produktresumén.

Innehåll

Kvalitativ och kvantitativ sammansättning

Varje 1,25 g dos/pumptryck innehåller 0,75 mg estradiol som estradiolhemihydrat

Varje gram transdermal gel innehåller 0,60 mg estradiol som estradiolhemihydrat

Hjälpämne med känd effekt: etanol. Varje dos om 1,25 g innehåller 500 mg etanol, vilket motsvarar 400 mg/g (40% w/w).

Förteckning över hjälpämnen

Etanol 96 %,
Karbomer,
Trolamin,
Renat vatten

Blandbarhet

Ej relevant.

Miljöpåverkan

Miljöinformationen för estradiol är framtagen av företaget Novo Nordisk för Activelle®, Estrofem, Eviana, Kliogest®, Novofem®, Trisekvens®, Vagifem®

Miljörisk: Användning av estradiol har bedömts medföra medelhög risk för miljöpåverkan.

Nedbrytning: Estradiol bryts ned långsamt i miljön.

Bioackumulering: Estradiol har låg potential att bioackumuleras.

Detaljerad miljöinformation

Environmental risk assessment of estrogens in pharmaceutical products marketed by Novo Nordisk in Sweden in 2020

1. 17 β -estradiol and its main metabolites estrone and estriol

Environmental risk: Use of 17 β -estradiol has been considered to result in a moderate environmental risk. Both 17 β -estradiol and its two main metabolites estrone and estriol are considered.

Degradation: 17 β -estradiol is slowly degraded in the environment.

Bioaccumulation: 17 β -estradiol is assessed not to have a high potential for bioaccumulation. The two main metabolites, estrone and estriol are considered to have a low potential for bioaccumulation.

PBT/vPvB: Neither 17 β -estradiol nor its two main metabolites are considered to be PBT/vPvB substances.

Detailed background information

2. The active pharmaceutical ingredients (API)

17 β -estradiol is used for hormone replacement therapy of women with menopause complications.

17 β -estradiol is metabolized during human metabolism into the major transformation products estrone, estriol, estrone sulfate and estrone glucuronide (Ref. 31, 48, 65).

17 β -estradiol, estrone and estriol are natural estrogens which belong to the class of steroid hormones. 17 β -estradiol is the primary female sex hormone and estrone is the primary metabolite of 17 β -estradiol.

Chemical name **17 β -estradiol (E2)**

CAS no. 50-28-2

Molecular formula C₁₈H₂₄O₂

Molecular weight 272.38 g/mol

Chemical name **Estrone (E1)**

CAS no. 53-16-7

Molecular formula $C_{18}H_{22}O_2$

Molecular weight 270.37 g/mol

Chemical name **Estriol (E3)**

CAS no. 50-27-1

Molecular formula $C_{18}H_{24}O_3$

Molecular weight 288.38 g/mol

3. Environmental Risk classification (PEC/PNEC ratio)

3.1 Predicted Environmental Concentration (PEC)

PEC (Predicted Environmental Concentration) is calculated according to the following formula:

$$PEC = (A \cdot 10^9 \cdot (100 - R)) / (365 \cdot P \cdot V \cdot D \cdot 100) = 1.5 \cdot 10^{-6} \cdot A \cdot (100 - R) \text{ } \mu\text{g/L, where}$$

A = Total amount of API (kg) sold in Sweden in a given year. The total amount of estradiol (hemihydrate and valerat) sold in Sweden in 2020 was 20.86 kg API based on IQVIA/LIF sales data (Ref. 10). Reduction of **A** may be justified based on metabolism data. It can be assumed that 17β -estradiol is metabolised in the female body and excreted as 33% 17β -estradiol, 54% Estrone and 13% Estriol (Ref. 5), so A is set to:

- 17β -estradiol: 33% of 20.86 kg = 6.88 kg
- Estrone: 54% of 20.86 kg = 11.26 kg
- Estriol: 13% of 20.86 kg = 2.71 kg

R = Removal rate (%) due to loss by adsorption to sludge particles, by volatilization, hydrolysis or biodegradation. R = 0 if no data is available. The removal rates are based on estimation of distribution of estrogens in a municipal wastewater treatment plant in accordance with the principles of the EU TGD (Ref. 10), and by use of the program SimpleTreat 3.0, which estimates the relative distribution of chemicals to each compartment: effluent, sludge and air. The following removal rates (R) in wastewater treatment plants are estimated (Ref. 5):

- 17 β -estradiol: 40% ; Conjugated 17 β -estradiol: 6-8%.
17 β -estradiol is excreted by mammals as glucuronide or sulfate conjugates in urine or in the unmetabolized form in faeces. Adler et al. (Ref. 12) reported that 50% of 17 β -estradiol and 58% of estrone were conjugated in raw sewage. Furthermore, they found by measurement that 87% of the non-conjugated 17 β -estradiol was removed in wastewater treatment plant and 47% of the conjugated 17 β -estradiol was removed. Overall, a measured removal of 67% was found for 17 β -estradiol and its conjugates. Thus, it is considered conservative to keep the SimpleTreat estimated removal for 17 β -estradiol of 40%.
- Estrone: 8%; conjugated estrone: 0%. Adler et al. (Ref. 12) measured that 55% of the estrone was removed whereas a slightly higher concentration of the conjugated in the effluent than in the effluent was found (approximately 7.5 ng/L conjugate in the inlet and 8 ng/L conjugate in the outlet). Overall, a measured removal of 19% was found for estrone and its conjugates. Thus, it is considered conservative to keep the SimpleTreat estimated removal for estrone of 8%.

- Estriol: 2%; conjugates: 0%. Thus, an overall removal for estriol of 0% is assumed here.

P = number of inhabitants in Sweden = $9 \cdot 10^6$

V (L/day) = volume of wastewater per capital and day = 200 (ECHA default) (Ref. 11)

D = factor for dilution of wastewater by surface water flow = 10 (ECHA default) (Ref. 11)

On this basis the following PECs in surface water can be calculated:

- PEC for 17 β -estradiol: $1.5 \cdot 10^{-6} \cdot 6.88 \cdot (100-40) = 0.00062 \mu\text{g/L}$
- PEC for estrone: $1.5 \cdot 10^{-6} \cdot 11.26 \cdot (100-8) = 0.0016 \mu\text{g/L}$
- PEC for estriol: $1.5 \cdot 10^{-6} \cdot 2.71 \cdot (100) = 0.00041 \mu\text{g/L}$

3.2 Predicted No Effect Concentration (PNEC)

Available eco-toxicological data for 17 β -estradiol, estrone and estriol and the derivation of PNEC-values is presented in this section.

3.2.1 17 β -estradiol

A proposed EU EQS (PNEC) value has been derived for the 17 β -estradiol (Ref. 7) in connection with setting 17 β -estradiol on a short-list of 19 possible new priority substances for the Water Frame Directive (Ref. 6). The data used for the derivation of the EQS-value is presented in Appendix together with the derivation, and only a short overview of the derivation is given here.

Knowledge of the mode of action of 17 β -estradiol - and strongly supported by the acute and chronic test toxicity data (see

Appendix) - suggests that fish and amphibians are likely to be the most sensitive organisms. This is supported by the available chronic toxicity data which indicates that fish are particularly sensitive to 17 β -estradiol. Two studies were located on amphibians with LOECs in the range of 1000-2740 ng/l reported for *Rana pipens* and *Xenopus laevis*. These LOECs are far above the NOECs for fish. Therefore, a SSD (Species Sensitivity Distribution) was derived for 17 β -estradiol based on data for the most sensitive taxonomic groups, fish - expecting that chronic fish data used for the derivation of an SSD would also be protective of the other less sensitive group.

The lowest no observed effect concentration for 17 β -estradiol is a 35-50 d NOEC of 0.5 ng/l (Ref. 48) for the trout (*Onchorhynchus mykiss*). The observed effects were sperm volume, sperm density and fertilization success. The study was not carried out according to a guideline. Experiments took place in four identical flow-through 0.5 m³ tanks (three replicates and one control - each tank with 10 males and 3 females of approximate same size). Water inflow temperature was 6°C and air saturation of water was >90%. Fish were kept under natural photoperiod (experiments were carried out in Kreuzstein in Sankt Gilgen, Upper Austria during December – January).

Overall, reliable chronic NOEC values were available for 11 species of fish and the SSD was based on these 11 fish species (Ref. 7). The HC5 for the SSD was found at 0.8 ng/l. Based on the available dataset and the knowledge of the mode of action, an assessment factor of 2 was considered appropriate. This gives an AA-EQS of 0.4 ng/l.

This derivation of the AA-EQS was reviewed by SCHER (Ref. 8). Both the reliability and the ecological relevance of the endpoints and taxonomic groups were considered. Overall, the SCHER supported the proposed AA-EQS of 0.4 ng/l for 17 β -estradiol.

In conclusion, a PNEC of 0.4 ng/L is used for 17 β -estradiol

3.2.2 Estrone

A PNEC-value has been derived for estrone in connection with setting the substance (together with 17 β -estradiol) on a short-list of 19 possible new priority substances for the Water Frame Directive (Ref. 6).

A well-accepted EU PNEC for estrone has been derived at 3.6 ng/l (Ref. 59).

Environmental toxicity data for estrone has been collected and are presented in the annex.

As for 17 β -estradiol, the mode of action for estrone suggests that fish and amphibians are likely to be the most sensitive organisms. Based on available data, fish is found to be the most sensitive species to estrone. A NOEC for estrone of 36 ng/l was obtained in 40-day study with *Danio rerio* (according to OECD Draft Test Guideline: A 40-day Juvenile Zebrafish Assay for screening of Endocrine Disrupting Chemicals), and a NOEC for estrone of 5 ng/l was obtained in a 90-day study (no guideline followed, fish specie: *Oryzias latipes*, effects measured: Organ weight in relationship to body weight; hatch, Vitellogenin 1 mRNA).

As for 17 β -estradiol, the mode of action for estrone is well-known and fish is the most sensitive species. Therefore, an assessment factor of 10 for the chronic fish toxicity data is considered justified.

Using an assessment factor of 10, a PNEC of 0.5 ng/L was obtained.

3.2.3 Estriol

As for 17 β -estradiol and estrone, the mode of action for estriol is well-known and fish is the most sensitive species. Therefore, an assessment factor of 10 for the chronic fish toxicity data is considered justified.

The No Observed Effect Concentration (NOEC) for induction of vitellogenin, which is considered a chronic eco-toxicity test, is found at 0.0465 $\mu\text{g/l}$ for estriol (Ref. 49; not-a guideline study; test species *Oryzias latipes*, duration of study 90 days, temperature: 25 $\pm$ 1 $^{\circ}\text{C}$, three replicates and one control; 30 embryos per replicate).

Using an assessment factor of 10, a PNEC of 4.7 ng/L was obtained.

3.2.4 Derived PNECs

PNEC for the three APIs in surface water is:

- PNEC for 17 β -estradiol: 0.0004 $\mu\text{g/L}$
- PNEC for estrone: 0.0005 $\mu\text{g/L}$
- PNEC for estriol: 0.0047 $\mu\text{g/L}$

3.3 Calculation of the risk quotient (PEC/PNEC)

The following risk quotient PEC/PNEC can be calculated:

- PEC/PNEC for 17 β -estradiol: $0.00062/0.0004 = 1.55$

- PEC/PNEC for estrone: $0.0016/0.0005 = 3.2$
- PEC/PNEC for estriol: $0.00041/0.0047 = 0.087$

The total PEC/PNEC ratio for 17 β -estradiol, estrone and estriol is thus 4.8.

Based on the calculated PEC/PNEC ratios and information about degradation, bioaccumulation and eco-toxicity of 17 β -estradiol, estrone and estriol the following environmental risk phrase should be applied to pharmaceutical products with estrogens according to the criteria in the FASS.se guidelines (Ref. 1):

"Use of pharmaceutical products with estrogens has been considered to result in moderate environmental risk"

This risk phrase is according to the FASS.se guidelines applicable for risk quotients in the interval: $1 < \text{PEC/PNEC} \leq 10$.

4. Biotic degradation

4.1. Degradation of 17 β -estradiol

Activated sludge test according to OECD guideline no. 302A has shown that 17 β -estradiol is inherently biodegradable under aerobic conditions in activated sludge (Ref. 30). 17 β -estradiol is thus slowly degraded in the environment. In a 100 days simulation study of 17 β -estradiol (OECD Test Method no. 308), an aerobic mineralisation (marine) of $61 \pm 1\%$ respectively $62 \pm 3\%$ mineralisation (freshwater) was found (Ref. 86). Thus, 17 β -estradiol is found to be biodegradable in both marine and freshwater. In addition, an activated sludge tests (OECD 302, Ref. 2) show that 17 β -estradiol is inherently biodegradable under aerobic conditions.

4.2. Abiotic degradation

Hydrolysis:

No data available

Photolysis:

No data available

5. Bioaccumulation

According to the FASS.se guidelines (Ref. 1), substances with $\log Pow \geq 4$ or $BCF \geq 500$ are considered to have high potential for bioaccumulation. Valid BCF-data has prevalence above $\log Pow$ data. One limitation in the use of $\log Pow$ for the estimation of the bioaccumulation potential is that metabolism within the test organism is not considered.

The following data on bioaccumulation are retrieved from the literature and calculations:

Substance	Parameter	Result	Specie	Method	Reference
17 β -estradiol (E2)	log Pow	3.94	n-octanol	Calculation	Ref. 82
17 β -estradiol (E2)	BCF	38 (day 21); 43 (day 81); 45 (day 141)	High-back crucian carp (<i>Carrasius auratus</i>)	No standard followed. 200 juvenile caged fish were exposed to	Ref. 53

				wastewater outlet at the secondary sedimentation tank (for up to 141 days). Concentrations in wastewater and fish were measured.	
17 β -estradiol (E2)	BCF	174	Male fathead minnow, plasma	Method: no standard followed. Male and female fathead minnow were to 17 β -oestradiol for 19 days at nominal concentrations that ranged from	Ref. 47

				27.2-2740 ng l-1. Tissues were collected and the concentrat ion in the plasma wa s measured. The estimated BCF was 174 in males based on the relationshi p between waterborn e and plas ma 17β-oe stradiol concentrat ions in surviving fish from all treatment s.	
--	--	--	--	--	--

17 β -estradiol (E2)	BCF	6.5	Larvae and juvenile flounder	Method: no standard followed. The estradiol uptake (through 48 hours) and depuration (through 48 hours) was studied both for larvae and juvenile flounders. Five test concentrations (between 4nM and 1000 nM) and a control was applied in the uptake study. No	Ref. 69
----------------------------	-----	-----	------------------------------	--	---------

				BCF could be established for females	
17 β -estradiol (E2)	log Klip,w	Varied between 2.29 (vesicle including cholesterol) -3.79 (vesicle including unsaturated acyl chains).	Three types of synthetic membrane liposomes were tested.	Method: no standard followed. The partitioning between water and the synthetic membrane liposomes were measured by equilibrium dialysis	Ref. 87
Estrone (E1)	Log Pow	3.43	n-octanol	Calculation	Ref. 82
Estrone (E1)	BCF	35 (day 21); 29 (day 81); 35 (day 141)	High-back crucian carp (<i>Carrasius auratus</i>)	No standard followed. 200 juvenile caged fish were	Ref. 53

				exposed to wastewater outlet at the secondary sedimentation tank (for up to 141 days). Concentrations in wastewater and fish were measured.	
Estrone (E1)	BCF	241/278 (4hr), 229 (16 hr), 165 24 hr	<i>Daphnia magna</i>	No standard followed. Uptake of E1 by the D. magna. was measured at 4, 16, and 24 h and the final concentration of E1 in the	Ref. 38

				pond water was analyzed by LC/MS at each time point. The experiment was repeated at a lower concentration of E1 (40mg/L) and uptake in the D. magna and concentration of E1 in the water was determined after 4 h. All bioconcentration experiments were carried out	
--	--	--	--	---	--

				in triplicate.	
	log Klip,w	Varied between 2.45 (vesicle including cholesterol) -3.92 (vesicle including unsaturated acyl chains).	Three types of synthetic membrane liposomes were tested.	Method: no standard followed. The partitioning between water and the synthetic membrane liposomes were measured by equilibrium dialysis	Ref. 87
Estriol (E3)	Log Pow	2.81	n-octanol	Calculation	Ref. 82
Estriol (E3)	log Klip,w	Varied between 0.179 (vesicle including cholesterol) -0.96 (vesicle including unsaturated	Three types of synthetic membrane liposomes were tested.	Method: no standard followed. The partitioning between water and the synthetic	Ref. 87

		d acyl chains).		membrane liposomes were measured by equilibriu m dialysis	
--	--	--------------------	--	---	--

It is noted that 17 β -estradiol has a calculated log Pow slightly below but close to the cut-off value of 4. It can be mentioned that a logPow slightly above 4 (4.01) has been measured (Ref. 33, method not reported). Several measured BCFs are available for 17 β -estradiol – all well below the cut-off value of 500. Therefore, 17 β -estradiol is assessed not to have a high potential for bioaccumulation.

Both estrone and estriol have calculated log Pow well below 4. Actually, measured log Pow values are available for the two substances showing a log Pow of 3.13 respectively 2.45 (Ref. 33, method not reported). In addition, a BCF well below 100 is measured for estrone in the fish “high-back crucian carp”. Thus, both substances are considered to have a low potential for bioaccumulation.

Of some interest to note is the measured partitioning between water and synthetic membrane liposomes – mimicking biological specie-of the three substances. The partitioning of 17 β -estradiol and estrone is on the very same level – whereas the partitioning of estriol to the membrane liposomes is much lower. This is in agreement with the calculated log Pow-values.

Overall, it is assessed that 17 β -estradiol, estrone and estriol all have a low potential for bioaccumulation.

6. PBT/vPvB assessment

Considering all three aspects, 17 β -estradiol, estrone and estriol do not meet the criteria for classification as a PBT or vPvB substance.

7. References

General references

1. Environmental classification of pharmaceuticals at FASS – Guidance for pharmaceutical companies 2012.
2. D'Ascenzo G., A. Di Corcia, A. Gentili, R. Mancini, R. Mastropasqua, M. Nazzari, et al. Fate of natural estrogen conjugates in municipal sewage transport and treatment facilities. Sci. Total Environ, 301 (2003), pp. 199-209
3. DHI (2001): Litteratur-review over økotoxikologiske data for østradiol og østron. November 2001. Udført af DHI. (only in Danish)
4. DHI (2003): Summary of selected investigations performed for Novo Nordisk A/S - Steroid hormones. October 2003. Prepared by DHI.
5. DHI (2003): Fate and effects of humanly excreted estrogens - 17 β -estradiol, estrone, estriol and ethinylestradiol. October 2003. Prepared by DHI.
6. European Union (2013). "Directive 2013/39/EU of the European Parliament and of the Council of 12 August 2013 amending Directives 2000/60/EC and 2008/105/EC as regards priority substances in the field of water policy".
7. EU (2011): Beta-estradiol EQS dossier 2011.
8. SCHER (Scientific Committee on Health and Environmental Risks) (2011). OPINION ON "CHEMICALS AND THE WATER FRAMEWORK

DIRECTIVE: DRAFT ENVIRONMENTAL QUALITY STANDARDS"

17 β -estradiol (E2) SCHER adopted this opinion at its 12th plenary on 30 March 2011.

9. ECHA, European Chemicals Agency. 2008 Guidance on information requirements and chemical safety assessment.

10. 10. ECHA (2016): Guidance on information requirements and Chemical Safety Assessment. Chapter R.16: Environmental exposure assessment. Version 3.0.

11. 8.11. IQVIA/LIF (2021): kg consumption 2020.

Data references

12. Adler P., Th. Steger-Hartmann, W. Kalbfuß (2001): Vorkommen natürlicher und synthetischer östrogener Steroide in Wässern des süd-und mitteldeutschen Raumes. Acta Hydrochim. Hydrobiol, 29 (2001), pp. 227-241

13. Andersen H R, Wollenberger L, Halling-Sørensen B, Kusk K O (2001): "Development of copepod nauplii to copepodites - a parameter for chronic toxicity including endocrine disruption." Environmental Toxicology and Chemistry 20(12): 2821-2829.

14. Billinghamurst Z, Clare A S, Fileman T, McEvoy J, Readman J, Depledge M.H. (1998): "Inhibition of barnacle settlement by the environmental oestrogen 4-nonylphenol and the natural oestrogen 17-beta-oestradiol." Marine Pollution Bulletin 36(10): 833-839.

15. Bjerregaard, P., P.R. Hansen, K.J. Larsen, C. Erratico, B. Korsgaard, and H. Holbech(2008):Vitellogenin as a Biomarker for Estrogenic Effects in Brown Trout, *Salmo trutta*: Laboratory and Field Investigations. Environ. Toxicol. Chem.27(11): 2387-2396

16. Bjørnstad E (2002): Chronic toxicity test of 17 beta-Estradiol (CAS No. 50-28-2) with the crustacean *Acartia tonsa*. Rapport fra DHI Vand & Miljø.

17. Breitholtz M und Bengtsson B E (2001): "Oestrogens have no Hormonal Effect on the Development and Reproduction of the

Harpacticoid Copepod *Nitocra spinipes*." Marine Pollution Bulletin 42(10): 879-886.

18. Brion F, Tyler C R, Palazzi X, Laillet B, Porcher J M, Garric J, Flammarion P (2004): "Impacts of 17-beta-estradiol, including environmentally relevant concentrations, on reproduction after exposure during embryo-larval-, juvenile- and adult-life stages in zebrafish (*Danio rerio*)." Aquatic Toxicology 68(3): 193-217.

19. Cripe G M, Hemmer B L, Goodman L R, Fournie J W, Raimondo S, Vennari J C, Danner R L, Smith K, Manfredonia B R, Kulaw D H, Hemmer M J (2009): "Multigenerational exposure of the estuarine sheepshead minnow (*Cyprinodon variegatus*) to 17-beta-estradiol. I. Organism-level effects over three generations." Environmental Toxicology and Chemistry 28(11): 2397-2408.

20. Dammann, A.A., N.W. Shappell, S.E. Bartell, and H.L. Schoenfuss (2011): Comparing Biological Effects and Potencies of Estrone and 17beta-Estradiol in Mature Fathead Minnows, *Pimephales promelas*. Aquat. Toxicol. 105(3/4): 559-568

21. Ghekiere, A., T. Verslycke, and C. Janssen (2006): Effects of Methoprene, Nonylphenol, and Estrone on the Vitellogenesis of the Mysid *Neomysis integer*. Gen. Comp. Endocrinol. 147(2): 190-195

22. DHI (2002): Algal growth inhibition test of β -Estradiol with the micro alga *Pseudokirchneriella subcapitata*. 2002.06.17. Prepared by DHI.

23. DHI (2002): Algal growth inhibition test of Estrone with the micro alga *Pseudokirchneriella subcapitata*. 2002.06.27. Prepared by DHI.

24. DHI (2002): Chronic toxicity test of β -Estradiol [CAS no. 50-28-2] with the crustacean *Acartia tonsa*. 2002.06.28. Prepared by DHI.

25. DHI (2002): Zebra fish chronic toxicity test with Estrone [CAS no. 53-16-7]. 2002.08.30. Prepared by DHI.

26. DHI (2002): Nitrification inhibition test of β -Estradiol with activated sludge. 2002.07.03. Prepared by DHI.
27. DHI (2002): Nitrification inhibition test of Estrone with activated sludge. 2002.07.04. Prepared by DHI.
28. DHI (2002): *Enchytraeus albidus* chronic toxicity test with β -Estradiol. 2002.07.05. Prepared by DHI.
29. DHI (2002): Ready Biodegradability – Closed Bottle Test with Estradiol. 2002.07.12. Prepared by DHI.
30. DHI (2002): Activated Sludge Biodegradability Simulation Test with Estradiol. 2002.07.12. Prepared by DHI.
31. Doyle C J und Lim R P (2005): Sexual behavior and impregnation success of adult male mosquitofish following exposure to 17-beta-estradiol. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 61 :392–397.
32. Hirai N, Nanba A, Koshio M, Kondo T, Morita M, Tatarazako N (2006): Feminization of Japanese medaka (*Oryzias latipes*) exposed to 17 β -estradiol: Formation of testis-ova and sex-transformation during early-ontogeny. *Aquatic Toxicology* 77 (1):78-86.
33. Hansch C., Leo A. and Hoekman D. (1995). Exploring QSAR - Hydrophobic, Electronic, and Steric Constants. Washington, DC., American Chemical Society.
34. Hobkirk R., Mellor J.D. and Nilsen M. (1975). In vitro metabolism of 17beta-estradiol by human liver tissue. *Can. J. Biochem.* 53, : 903-906.
35. Holbech, H., K. Kinnberg, G.I. Petersen, P. Jackson, K. Hylland, L. Norrgren, and P. Bjerregaard (2006): Detection of Endocrine Disrupters: Evaluation of a Fish Sexual Development Test (FSDT). *Comp. Biochem. Physiol. C Comp. Pharmacol. Toxicol.* 144(1): 57-66
36. Huang Bin, Wenwen Sun, Xiaoman Li, Jingliang Liu, Qiang Li, Renmin Wang, Xuejun Pan (2015): Effects and bioaccumulation of 17 β -estradiol and 17 α -ethynylestradiol following long-term

- exposure in crucian carp. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 112, 169-176
37. Hutchinson, T.H., N.A. Pounds, M. Hampel & T.D. Williams (1999): Impact of natural and synthetic steroids on the survival, development and reproduction of marine copepods (*Tisbe battagliai*). *The science of the Total Environment* 233: 167-179
38. Gomes Rachel L., L.Hannah E. Deacon, Ka M. Lai, Jason W. Birkett, Mark D. Scrimshaw And John N. Lester (2004): Assessment Of The Bioaccumulation Of Estrone In *Daphnia Magna*
39. *Environmental Toxicology and Chemistry*, Vol. 23, No. 1, pp. 105-108, 2004
40. Imai S, Koyama J, Fujii K (2005): Effects of 17 β -estradiol on reproduction of Java medaka (*Oryzias javanicus*), a new test fish. *Mar Poll Bull* 51: 708-714.
41. Imai S, Koyama J, Fujii K. 2007. Effects of estrone on full life cycle of Java medaka(*Oryzias javanicus*), a newmarine test fish. *Environ Toxicol Chem* 26:726-731.
42. Jukosky J A Watzin M C, Leiter J C (2008a): The effects of environmentally relevant mixtures of estrogens on Japanese medaka (*Oryzias latipes*) reproduction. *Aquatic Toxicology* 86:323-331.
43. Kang I J, Yokota H, Oshima Y, Tsuruda Y, Yamaguchi T, Maeda M, Imada N, Tadokoro H, Honjo T (2002): Effect of 17-beta-estradiol on the reproduction of Japanese medaka (*Oryzias latipes*). *Chemosphere* 47(1): 71-80.
44. Kashiwada et al. (2002): Fish test for endocrine disruption and estimation of water quality of Japanese rivers. *Water Research* 36: 2161-2166.

45. Kloas W, Lutz I and Einspanier R (1999): Amphibians as a model to study endocrine disruptors: II. Estrogenic activity of environmental chemicals in vitro and in vivo. *Science of The Total Environment* 225: 59-68.
46. Kramer V J, Miles-Richardson S, Pierens S L, Giesy J P (1998): Reproductive impairment and induction of alkaline-labile phosphate, a biomarker of estrogen exposure, in fathead minnows (*Pimephales promelas*) exposed to waterborne 17-beta-estradiol. *Aquatic Toxicology* 40(4): 335-360.
47. Kramer V.J., Miles-Richardson S., Pierens S.L. and Giesy J.P. (1998). "Reproductive impairment and induction of alkaline-labile phosphate, a biomarker of estrogen exposure, in fathead minnows (*Pimephales promelas*) Exposed to waterborne 17[beta]-estradiol." *Aquatic Toxicology* 40(4): 335-360
48. Lahnsteiner F, Berger B, Kletzl M, Weismann T (2006): Effect of 17 β -estradiol on gamete quality and maturation in two salmonid species. *Aquatic Toxicology*. 79:124-131.
49. Lei,B., J. Kang, Y. Yu, J. Zha, W. Li, Z. Wang, Y. Wang, and Y. Wen(2014):Long-Term Exposure Investigating the Estrogenic Potency of Estriol in Japanese Medaka (*Oryzias latipes*). *Comp. Biochem. Physiol. C Toxicol. Pharmacol.*160:86-92
50. Lei,B., Y. Wen, X. Wang, J. Zha, W. Li, Z. Wang, Y. Sun, J. Kang, and Y. Wang(2013):Effects of Estrone on the Early Life Stages and Expression of Vitellogenin and Estrogen Receptor Genes of Japanese Medaka (*Oryzias latipes*). *Chemosphere*93(6): 1104-1110
51. Liao T, Guo Q L, Jin S W, Cheng W, Xu Y(2009): Comparative responses in rare minnow exposed to 17 β -estradiol during different life stages, *Fish Physiol. Biochem.* 35: 341-349.
52. Lievertz R.W. (1987). Pharmacology and pharmacokinetics of estrogens. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 156:1289-1293.

53. Liu Jingliang , Renmin Wang, Bin Huang, Chan Lin, Jiali Zhou, Xuejun Pan (2012): Biological effects and bioaccumulation of steroidal and phenolic endocrine disrupting chemicals in high-back crucian carp exposed to wastewater treatment plant effluents. *Environmental Pollution* 162 (2012) 325-331
54. Mackenzie C A, Berrill M, Metcalfe C, Pauli B D (2003): Gonadal differentiation in frogs exposed to estrogenic and antiestrogenic compounds. *Environmental Toxicology and Chemistry*. Volume 22, Issue 10: 2466-2475
55. Metcalfe C D, Metcalfe T L, Kiparissis Y, Koenig B, Khan C, Hughes R J, Croley T R, March R E , Thomas P. (2001). Estrogenic potency of chemicals detected in sewage treatment plant effluents as determined by in vivo assays with Japanese medaka (*Oryzias latipes*). *Environmental Toxicology and Chemistry* 20(2): 297-308.
56. Nash J P, Kime D E, van der Ven L T M , Wester P W , Brion F , Maack G, Stahlschmidt-Allner P. and Tyler C.R. (2004): Long-Term Exposure to Environmental Concentrations of the Pharmaceutical Ethynylestradiol Causes Reproductive Failure in Fish. *Environmental Health Perspectives* 112(17): 1725-1733.
57. Nimrod A C und Benson W H (1998): Reproduction and development of Japanese medaka following an early life stage exposure to xenoestrogens. *Aquatic Toxicology* 44(1-2): 141-156.
58. Notch, E.G., and G.D. Mayer (2013): Impact of Environmental Estrogens on Nucleotide Excision Repair Gene Expression in Embryonic Zebrafish. *Comp. Biochem. Physiol. C Toxicol. Pharmacol.* 157(4): 361-365
59. Oekotoxzentrum, Eawag (2011): Proposed PNEC value for Estrone.
60. Panter, G.H., R.S. Thompson & J.P. Sumpter (1998): Adverse reproductive effects in male fathead minnows (*Pimephales promelas*) exposed to environmentally relevant concentrations of

the natural oestrogenes, oestradiol and oestrone. *Aquatic toxicology* 42: 243-253

61. Pollino C A, Georgiades E,. Holdway D A (2007): Use Of The Australian Crimson-Spotted Rainbowfish (*Melanotaenia Fluviatilis*) As A Model Test Species For Investigating The Effects Of Endocrine Disruptors. *Environmental Toxicology and Chemistry*, Vol. 26, No. 10: 2171-2178
62. Robinson C D, Brown E, Craft J A, Davies I A, Megginson C, Miller C, Moffat C F (2007): Bioindicators and reproductive effects of prolonged 17-beta-oestradiol exposure in a marine fish, the sand goby (*Pomatoschistus minutus*). *Aquatic Toxicology* 81: 397-408.
63. Roepke T A, Snyder M J, Cherr G N (2005): Estradiol and endocrine disrupting compounds adversely affect development of sea urchin embryos at environmentally relevant concentrations. *Aquatic Toxicology* 71:155-173.
64. Routledge E J, Sheahan D, Desbrow C, Brighty G C, Waldock M, Sumpter J P (1998): Identification of estrogenic chemicals in STW effluent. 2. In vivo responses in trout and roach. *Environmental Science and Technology* 32: 1559-1565.
65. Schering AG (1995): Acute toxicity of 17beta-estradiol with the rainbow trout. Report A05662.
66. Schering AG (2002). Growth inhibition test with estradiol (ZK 5018) on the green algae *Desmodesmus subspicatus*. Report A30506.
67. Segner H, Navas J M, Schäfers C, Wenzel A (2003): Potencies of estrogenic compounds in in vitro screening assays and in life cycle tests with zebrafish in vivo. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 54:315-322.
68. Slaunwhite R.W., Kirdani R.Y. and Sandberg A.A. (1973). Metabolic aspects of estrogens in man. In: R.O. Greep and E.B. Astwood (Eds.). *Handbook of Physiology*. Section 7: Endocrinology,

- Vol. 2, Female Reproductive System, part 1, Chapter 21, Washington DC, American Physiology Society. pp. 485-523.
69. Specker and Chandler (2003). Methodology for estradiol treatment in marine larval and juvenile fish: uptake and clearance in summer flounder. *Aquaculture*, 217, 663-672.
70. Schering AG (2002). Growth inhibition test with estradiol (ZK 5018) on the green algae *Desmodesmus subspicatus*. Report A30506.
71. Seki M., Yokota H., Maeda M. and Kobayashi K. (2005). "Fish full life-cycle testing for 17beta-estradiol on medaka (*Oryzias latipes*).
Environmental Toxicology and Chemistry 24(5): 1259-1266.
72. Shappell N W, Hyndman K M, Bartell S E, Schoenfuss H L (2010): Comparative biological effects and potency of 17-alpha- and 17-beta-estradiol in fathead minnows. *Aquatic Toxicology*:100: 1-8.
73. Shioda T und Wakabayashi M. (2000): Effect of certain chemicals on the reproduction of medaka (*Oryzias latipes*). *Chemosphere* 40(3): 239-243.
74. Tabata A, Kashiwada S, Ohnishi Y, Ishikawa H, Miyamoto N, Itoh M, Magara Y (2001): "Water Science and Technology. 43 2:109-116.
75. Tatarazako N, Takao Y, Kishi K, Onikura N, Arizono K, Iguchi T. (2002): Styrene dimers and trimers affect reproduction of daphnid (*Ceriodaphnia dubia*).
Chemosphere 48(6): 597-601.
76. Thorpe, K.L., T.H. Hutchinson, M.J Hetheridge, M. Scholtze, J.P Sumpter & C. Tyler (2001): Assessing the Biological Potency of Binary Mixtures of Environmental Estrogens using Vitellogenin Induction in Juvenile Rainbow Trout (*oncorhynchus mykiss*).
Environ. Sci Technol. 35: 2476-2481
77. Thorpe K.L. Thomas H., Malcolm J.H., Martin S., P. Sumpter & And C.R. Tyler (2001): Assessing the Biological Potency of binary

- mixtures of Environmental Estrogens using Vitellogenin Induction in Juvenile Rainbow Trout. Environ. Sci. Technol. 2001, 35, 2476-2481. Environ Sci Technol. 2003;37(6):1142-9.
78. Thorpe K L, Benstead R, Hutchinson T H, Cummings R I, Tyler C R (2003): Reproductive effects of exposure to oestrone in the fathead minnow. Fish Physiology and Biochemistry 28: 451-452.
79. 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.
80. Thorpe KL, Benstead R, Hutchinson TH, Tyler CR. 2007. Associations between altered vitellogenin concentrations and adverse health effects in fathead minnow (*Pimephales promelas*). Aquat Toxicol (Amst) 85:175-183.
81. Toft G und Battrup E (2003): Altered sexual characteristics in guppies (*Poecilia reticulata*) exposed to 17 β -estradiol and 4-tert-octylphenol during sexual development. Ecotoxicology and Environmental Safety 56: 228-237.
82. US EPA (2012): EpiSuite
83. Van den Belt K, Berckmans P, Vangenechten C, Verheyen R, Witters H 2004): Comparative study on the in vitro and in vivo estrogenic potencies of 17 β -estradiol, estrone, 17 α -ethynylestradiol and nonylphenol. Aquat Toxicol 66(2):183-185.
84. Van der Ven LTM, Van den Brandhof E-J, Vos HJ, Wester PW (2007) Effects of the estrogen agonist 17 β -Estradiol and antagonist tamoxifen in a partial life-cycle assay with zebrafish (*Danio rerio*). Environ Tox Chem 26(1):92-99.
85. Winther-Nielsen M (2002): Algal growth inhibition test of 17-beta-Estradiol with micro alga *Pseudokirchneriella subcapitata*. Rapport fra DHI - Institut for Vand & Miljø.
86. Winther-Nielsen (2011): Aerobic transformation of 17 β -estradiol in aquatic sediment systems. DHI GLP report. 2011.03.31

87. Yamamoto Hiroshi and Howard M. Liljestrand (2004):
Partitioning of Selected Estrogenic Compounds between Synthetic
Membrane Vesicles and Water: Effects of Lipid Components.

Appendix

Nitrification inhibition test with activated sludge:

Substance	Method	Concentration & Exposure time	Effect parameter	EC20	Reference
17 β -estradiol	ISO 9509	62,5–1.00 0 μ g/L 2 hrs	Inhibition of nitrification rate	> 918 μ g/L	Ref. 26
Estrone	ISO 9509	62,5–1.00 0 μ g/L 2 hrs	Inhibition of nitrification rate	> 172 μ g/L	Ref. 27

The studies did not show significant inhibition of the nitrification rate in activated sludge at the tested concentrations.

Biodegradation test of 17 β -estradiol:

Substance	Method	Concentration & Exposure time	Result	Reference
17 β -estradiol (E2)	OECD Test Method no. 308: "Aerobic transformation of 17 β -estradiol in aquatic sediment systems"	Nominal concentrations 0.36 μ g/L and 1.1 μ g/L of unlabelled and ¹⁴ C-labelled E2, respectively 100 days	61 $\pm$ 1% mineralisation (marine) 62 $\pm$ 3% mineralisation (freshwater)	Ref. 86
17 β -estradiol	OECD Test Method no. 301D: "Closed Bottle Test"	1.64 mg/L 28 days	3.5-9.8 % of ThoD	Ref. 29
17 β -estradiol (E2)	OECD Guideline no. 302A: "Inherent Biodegradability: Modified SCAS Test" and "Activated Sludge Biodegradability"	Ca. 20 μ g/L Aerobic: 48 hrs Anoxic: 8 days	Aerobic: See below * Anoxic: No significant degradation	Ref. 30

Substance	Method	Concentration & Exposure time	Result	Reference
	lity Simulation Test"			

* Results according to OECD Guideline no. 302A:

- The total ^{14}C -concentration decreased by 70% of the initial added ^{14}C within the first 45 minutes of the test period
- During the first 45 minutes of the test period, a 1. order rate constant was estimated at $2.2 \pm 0.2 \text{ L} \cdot \text{day}^{-1} \cdot \text{gSS}^{-1}$ for the total test substance concentrations $> 2.5 \mu\text{g E2/L}$
- During the test period from 3-48 hours, a 1. order rate constant was estimated at $0.031 \pm 0.003 \text{ L} \cdot \text{day}^{-1} \cdot \text{gSS}^{-1}$ for the total test substance concentrations $< 2.5 \mu\text{g E2/L}$

On basis of the biodegradation test results it can be concluded that:

- 17 β -estradiol is not readily degradable under closed bottle conditions since the minimum requirement BOD = 60% of ThOD within 10 days is not fulfilled.
- 17 β -estradiol is inherently biodegradable under aerobic conditions but not under anoxic conditions in activated sludge simulation.

Reproduction test for 17 β -estradiol on the earth worm, *Enchytraeus albidus*

Method	Concentration & Exposure time	Effect parameter	NOEC	Reference
OECD Draft Test Guideline 220: "Enchytraeid Reproduction Test", March 2000 and in agreement with the existing OECD Guideline No. 220: Enchytraeid Reproduction Test	50–1,000 mg/kg soil d.w. 21 days	Adult mortality Inhibition of reproduction Changes in behaviour and/or morphology	> 1,000 mg/kg	Ref. 28

The study did not show significant effect on neither of the stated parameters at the tested concentrations.

Derivation of PNEC for 17 β -estradiol

A suggestion for AA-EQS has been drafted and reviewed (Ref. 7).
The below derivation is based on this derivation.

Species Group	Organism	Effect	Duration	Endpoint	Value (µg/L)	KLIMISH Score	Reference
Short Term Data							
Algae	<i>Desmodesmus subspicatus</i>	Growth (GLP)	72 h	EC50	>3100	1	Ref. 66
Invertebrate	<i>Acartia tonsa</i>	Mortality	48 h	EC50	>1000	2	Ref. 13
Fish	<i>Cyprinus carpio</i>	VTG induction in hepatocytes	3 d	EC50	24.52	2	Ref. 67
Fish	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	Mortality	96 h	LC50	>500	1	Ref. 65
Fish	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	VTG induction in hepatocytes	3 d	EC50	7.08	2	Ref. 67
Fish	<i>Oryzias latipes</i>	Egg and embryo mortality	72 h	LC50	460	2	Ref. 44
Fish	<i>Oryzias latipes</i>	Adult	72 h	LC50	3500	2	Ref. 44

Long-term data							
Algae	<i>Desmo desmus subspic atus</i>	Growth	72 h	NOEC	>3100	1	Ref. 66
Algae	<i>Pseudo kirchne riella subcapi tata</i>	Growth (OECD 201, GLP)	72 h	NOEC	>523	2	Ref. 85
Arthrop oda	<i>Balanus amphrit e</i>	larval coloniz ation	2 d	NOEC	=0.1	2	Ref. 14
Inverte brate	<i>Acartia tonsa</i>	develop ment	5 d	EC10	370	2	Ref. 13
Inverte brate	<i>Acartia tonsa</i>	develop ment	5 d	EC50	720	2	Ref. 13
Inverte brate	<i>Acartia tonsa</i>	Reprod uction GLP, Not a guidelin e study;	21 d	NOEC	>368	2	Ref. 16
Inverte brate	<i>Cerioda phnia dubia</i>	reprodu ction	7 d	NOEC	=10000	2	Ref. 75
Copepo da	<i>Nitocra spinipe s</i>	reprodu ction	18 d	NOEC	≥160	2	Ref. 17
			21 d	NOEC	≥100	2	Ref. 37

Copepoda	<i>Tisbe battagliai</i>	reproduction					
Amphibien	<i>Xenopus laevis</i>	feminization	84 d	LOEC	2.74	2	Ref. 45
Amphibien	<i>Rana pipiens</i>	Intersex	162 d	LOEC	≤1	2	Ref. 54
Fish	<i>Cyprinodon variegatus</i>	Proportion of viable eggs F1 and F2	280 d	LOEC	0.04	2	Ref. 19
Fish	<i>Cyprinodon variegatus</i>	Proportion of viable eggs F1 and F2	280 d	NOEC	0.01	2	Ref. 19
Fish	<i>Danio rerio</i>	altered gonadal histology, sex ratio	21 d	LOEC	0.1	2	Ref. 18
Fish	<i>Danio rerio</i>	altered gonadal histology, sex ratio	21 d	NOEC	0.025	2	Ref. 18
Fish	<i>Danio rerio</i>	altered gonadal histology	21 d	NOEC	0.005	2	Ref. 18

		y, second ary sexual charact eristics					
Fish	<i>Danio rerio</i>	reprodu ction	200 d	NOEC	≤0.005	2	Ref. 56
Fish	<i>Danio rerio</i>	Egg number in the clutch and hatchin g	21 d	NOEC	0.087	2	Ref. 71
Fish	<i>Gabiocypris rarus</i>	sex ratio	21 d	LOEC	0.025	2	Ref. 51
Fish	<i>Gabiocypris rarus</i>	sex ratio	21 d	NOEC	0.005	2	Ref. 51
Fish	<i>Gambusia holbrooki</i>	reprodu ctive success	84 d	LOEC	0.02	2	Ref. 31
Fish	<i>Gambusia holbrooki</i>	reprodu ctive success	84 d	NOEC	0.1	2	Ref. 31
Fish			14 d	LOEC	0.3	2	Ref. 61

	<i>Melanot aenia fluviatili s</i>	egg product ion					
Fish	<i>Melanot aenia fluviatili s</i>	egg product ion	14 d	NOEC	0.1	2	Ref. 61
Fish	<i>Oncorh ynchus mykiss</i>	Sperm volume, sperm density and fertiliza tion success	35-50 d	LOEC	0.001	2	Ref. 48
Fish	<i>Oncorh ynchus mykiss</i>	Sperm volume, sperm density and fertiliza tion success	35-50 d	NOEC	0.0005	2	Ref. 48
Fish	<i>Oryzias javanic us</i>	Fertility of the eggs	187 d	LOEC	0.016	2	Ref. 40
Fish	<i>Oryzias javanic us</i>	Fertility of the eggs	187 d	NOEC	0.0095	2	Ref. 40
Fish			90 d	LOEC	0.1	2	Ref. 55

	<i>Oryzias latipes</i>	Gender shift (testis-ova)					
Fish	<i>Oryzias latipes</i>	Gender shift (testis-ova)	90 d	NOEC	0.01	2	Ref. 55
Fish	<i>Oryzias latipes</i>	total study	90 d	LOEC	0.004	3	Ref. 55
Fish	<i>Oryzias latipes</i>	total study	90 d	NOEC	0.0004	3	Ref. 55
Fish	<i>Oryzias latipes</i>	feminization	200-300 d	NOEC	0.1	2	Ref. 74
Fish	<i>Oryzias latipes</i>	reduced fertility	59 d	NOEC	0.0029	2	Ref. 71
Fish	<i>Oryzias latipes</i>	feminization	28 d	LOEC	≤0.01	2	Ref. 57
Fish	<i>Oryzias latipes</i>	number of eggs	14 d	NOEC	0.272	2	Ref. 73
Fish	<i>Oryzias latipes</i>	reduced fertility	21 d	NOEC	0.227	2	Ref. 43
Fish	<i>Oryzias latipes</i>	Hatching time	20 d	NOEC	0.034	2	Ref. 32
Fish	<i>Oryzias latipes</i>	various reproduction endpoints	14 d	NOEC	0.379	3	Ref. 42
Fish			91 d	LOEC	0.0279	1	Ref. 65

	<i>Pimephales promelas</i>	Feminization and weight gain					
Fish	<i>Pimephales promelas</i>	Feminization and weight gain	91 d	NOEC	>0.008	1	Ref. 65
Fish	<i>Pimephales promelas</i>	reduced egg production	19 d	EC10	0.0066	2	Ref. 46
Fish	<i>Pimephales promelas</i>	reproduction, reduced egg production	21 d	NOEC	0.044	3	Ref. 86
Fish	<i>Poecilia reticulata</i>	Feminization (GSI, sex ratio)	90 d	LOEC	0.5	2	Ref. 81
Fish	<i>Poecilia reticulata</i>	Feminization (GSI, sex ratio)	90 d	NOEC	0.1	2	Ref. 81
Fish			240 d	NOEC	0.097	2	Ref. 62

	<i>Pomatoschistus minutus</i>	reproduction					
Fish	<i>Thymallus thymallus</i>	Sperm volume, motility of sperm	50 d	LOEC	≥ 0.001	2	Ref. 48

Acute effects have been considered of no relevance and therefore no MAC-EQS has been derived.

Chronic toxicity data for 17 β -estradiol is available for a range of species including algae, crustaceans, rotifers, amphibians and fish. It is concluded that the critical effect due to exposure of 17 β -estradiol and its primary metabolites estrone and estriol is the induction of vitellogenin in fish that may cause a change in sex from male to female.

In order to apply the SSD (Species Sensitivity Distribution) approach the available dataset should preferably contain more than 15, but at least 10 NOECs/EC10s from different species covering at least 8 taxonomic groups. For estimating an AA-EQS freshwater using the SSD approach the following taxa would normally need to be represented, i.e.

- a fish species
- a second family in the phylum Chordata
- a crustacean
- an insect
- a family in a phylum other than Arthropoda or Chordata

- a family in any order of insect or any phylum not represented
- algae
- a higher plant

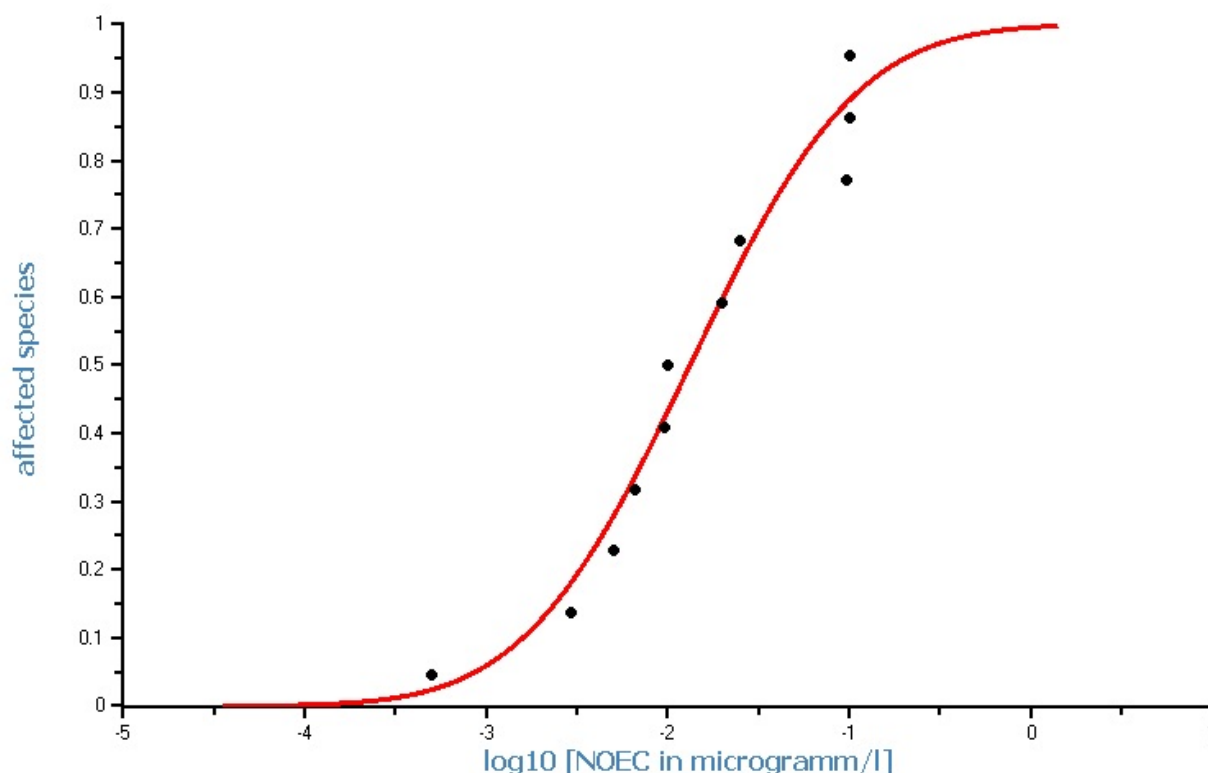
The available chronic toxicity dataset for 17 β -estradiol does not meet the data requirements for using the SSD approach. However, 17 β -estradiol is a naturally occurring hormone and has a specific mode of action with effects on the reproductive physiology of vertebrates. The EU guidance notes that if a chemical is known to have a specific mode of action an SSD can be derived for only those taxa that are expected to be particularly sensitive.

Knowledge of the mode of action of 17 β -estradiol suggests that fish and amphibians are likely to be the most sensitive organisms. This is supported by the available chronic toxicity data which indicates that fish are particularly sensitive to 17 β -estradiol. Two studies were located on amphibians with LOECs in the range of 1000-2740ng/l reported for *Rana pipens* and *Xenopus laevis*. It is therefore proposed that an SSD is derived for β -estradiol based on data for the most sensitive taxonomic groups. It is expected that based on knowledge of the mode of action the chronic fish data the derivation of an SSD based on fish species only should be protective of other less sensitive group.

Reliable chronic NOEC values were available for 11 species of fish. An SSD has therefore been derived based on 11 fish species. For several species a number of different studies have been reported. The EU guidance on the derivation of an SSD indicates that where a number of data points are available for a species a geometric mean should be calculated to propose a single value for a species. This approach is not appropriate for all the available data as the studies

are often non-standard and consider a range of endpoints and exposure durations and are therefore not directly comparable. In these cases, the lowest NOEC value is used for a species.

The SSD based on the fish data is shown below. The distribution fit to a log normal distribution.



The HC5 from the above SSD is 0.8 ng/l. An assessment factor in the range of 1-5 should be applied to the HC5 based on the guidance given in the TGD-EQS (E.C., 2011). Based on the available dataset and the knowledge of the mode of action it is considered that an assessment factor of 2 (mode of toxic action is well understood, HC5 has been derived based on data for the most sensitive taxonomic group, a wide range of endpoints and durations including population relevant endpoints such as hatching, fertilisation, changes in sex ratio are included in the dataset) is appropriate for the derivation of the AA-EQS.

This gives a EQS of 0.4 ng/l.

The derivation of the AA-EQS has been reviewed by SCHER (Ref. 8). Both the reliability and the ecological relevance of the endpoints and taxonomic groups have been considered. Overall, the SCHER supports the proposed AA-EQS of 0.4 ng/l.

Derivation of PNEC for estrone

Specie Group	Organism	Effect	Duration	End-Point	Value (µg/L)	KLIMISH Score	Reference
Short Term Data							
Algae	<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>	Growth (OECD 201)	72 h	EC50	>451	1	Ref. 71
Crustacean	<i>Acartia tonsa</i>	Mortality	48 h	NOEC	≥1000	2	Ref. 13
Crustacean	<i>Neomysis integer</i>	Mortality	96 h	LC50	>10000		Ref. 21
Copepoda	<i>Tisbe battagliai</i>	Mortality	10 d	LC50	≥100		Ref. 31
Echinoderm	<i>Strongylocentrotus purpuratus</i>	Development	96 h	EC50	6,4.4	2	Ref. 63
Long-term data							

Algae	<i>Pseudo kirchne riella subcapitata</i>	Growth (OECD 201)	72 h	NOEC	≥451	2	Ref. 71
Crustacean	<i>Acartia tonsa</i>	Development	5 d	EC10	250	2	Ref. 13
Copepoda	<i>Tisbe battagliai</i>	Sex ratio; Re-production (method #1)	21 d	NOEC	≥100	2	Ref. 31
Fish	<i>Danio rerio</i>	Vitellogenin induction, sex ratio (OECD Draft Test Guideline: A 40-day Juvenile Zebrafish Assay for screening of Endocri	40 d	NOEC	0.036	2	Ref. 25

		ne Disrupti ng Chemic als)					
Fish	<i>Danio rerio</i>	Vitellogenin 1 mRNA; XPA mRNA; XPC mRNA	4 d	NOEC	0.1		Ref. 58
Fish	<i>Danio rerio</i>	Ovarian Somatic Index (OSI)	21 d	EC10	0.195	2	Ref. 83
Fish	<i>Danio rerio</i>	Vitellogenin induction	21 d	EC10	0.139	2	Ref. 83
Fish	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	VTG-Induction (adult)	21 d	NOEC	0.048	2	Ref. 64
Fish	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	VTG-Induction (adult)	14 d	NOEC	0.0032	3	Ref. 77
Fish	<i>Oryzias latipes</i>	Feminization		NOEC	0.1		Ref. 55
Fish	<i>Oryzias latipes</i>	Imposex,	- d	NOEC	<0.008		Ref. 55

		intersex conditio ns					
Fish	<i>Oryzias latipes</i>	Hatch	15 d	NOEC	0.005		Ref. 49
Fish	<i>Oryzias latipes</i>	Vitellog enin 1 mRNA	90 d	NOEC	0.005		Ref. 49
Fish	<i>Oryzias javanic us</i>	Time to hatch		NOEC	0.198		Ref. 41
Fish	<i>Oryzias javanic us</i>	Number of eggs; number of fertilize d eggs, time to hatch	239 d	NOEC	0.484		Ref. 41
Fish	<i>Pimeph ales promel as</i>	Vitellog enin inductio n (metho d #2)	21 d	NOEC	0.01	2	Ref. 60
Fish	<i>Pimeph ales promel as</i>	Egg product ion		NOEC	0.098		Ref. 80
Fish		Hatch	4 d	NOEC	0.781		Ref. 80

	<i>Pimephales promelas</i>						
Fish	<i>Pimephales promelas</i>	Organ weight in relationship to body weight; Sexual development; stage; Vacuolization	21 d	NOEC	0.054		Ref. 20
Fish	<i>Pimephales promelas</i>	Vitellogenin	4 d	NOEC	0.034		Ref. 80
Fish	<i>Pimephales promelas</i>	Vitellogenin	21 d	NOEC	0.054		Ref. 20
Fish	<i>Pimephales promelas</i>	Number of eggs	21 d	NOEC	0.307		Ref. 76
Fish	<i>Pimephales</i>		21 d	NOEC	0.00074		Ref. 77

	<i>promelas</i>	Plasma vitellogenin					
Fish	<i>Salmo trutta</i>	Vitellogenin	10 d	NOEC	0.063		Ref. 21

Method#1: Newly released 24 h old species were exposed to the substance dissolved in sea water. Effects monitored in terms of survival, development and sex ratio after 10 days at 20°C. Adult males and females were then paired and exposures continued to investigate effects on reproductive output after 21 days total exposure.

Method#2: The effects on the plasma vitellogenin level and gonadosomatic index of male fathead minnows (*Pimephales promelas*) was studied in a continuous flow exposure system for 21 days. All fish were acclimated to the test conditions for a period of 24 h before the start of the exposure.

Derivation of PNEC for estriol

Specie Group	Organism	Effect	Duration	End-Point	Value (µg/L)	KLIMISH Score	Reference
Short Term Data							
-	-						
Long-term data							
Fish	<i>Danio rerio</i>	Vitellogenin (method#1)	18 d	NOEC	0.3		Ref. 35
Fish			40 d	NOEC	21.7		Ref. 35

	<i>Danio rerio</i>	Survival (method#1)					
Fish	<i>Danio rerio</i>	Sex ratio (method#1)	40 d	NOEC	6.7		Ref. 35
Fish	<i>Oryzias latipes</i>	Abnormal (method#2)	15 d	NOEC	0.4622		Ref. 49
Fish	<i>Oryzias latipes</i>	Hatch (method#2)	15 d	NOEC	0.0465 ¹		Ref. 49
Fish	<i>Oryzias latipes</i>	Sex ratio (method#2)	30 d	NOEC	4.517		Ref. 49
Fish	<i>Oryzias latipes</i>	Vitellogenin 1 mRNA; hatch; Organ weight in relationship to body weight (method#2)	90 d	NOEC	0.0465 ¹		Ref. 49
Fish			90 d	NOEC	4.517		Ref. 49

	<i>Oryzias latipes</i>	Estrogen receptor alpha mRNA; Organ weight in relationship to body weight (method#2)					
--	------------------------	--	--	--	--	--	--

[1]It was found that the Vtg gene in male medaka fish can be induced by estriol at environmentally relevant concentration of 5 ng/L. However, it was noted that the Vtg mRNA changes are hardly ever reflected in concomitant changes in functional protein. Therefore, further studies were concluded to be needed to detect more sex hormone pathway gene expressions and functional protein levels to evaluate comprehensively estrogen potency of estriol in fish.

Method#1: A Fish Sexual Development Test (FSDT) (an extension of the existing OECD TG 210, fish early life stage toxicity test).

Method#2: Measurement of the impact of estriol on the embryonic development, sex differentiation, growth, and changes of functional genes related to reproduction of medaka (*O. latipes*) exposed to different concentrations of estriol during embryo-larval-, juvenile- and adult life stages. The corresponding time to hatching, hatchability, gross abnormalities, sex ratio, hepatosomatic index

(HSI), gonadosomatic index (GSI), and changes of Vtg-I and ER α genes in livers of the fish exposed to estriol for 90 days were determined. Embryos less than 4 h post-fertilization were used in the exposure experiments. The embryos were exposed to nominal estriol concentrations of 5, 50, 500 and 5000 ng/L in charcoal-dechlorinated tap water for 15 days. Each exposure level had 3 replicate test concentrations with 30 embryos per replicate. In addition, solvent controls (SC) were included in the experimental design. The embryos in each group were placed in a glass dish and incubated on a 16:8 h light: dark photoperiod cycle at 25 ± 1 °C. Eighty percent of the test solution was renewed every 24 h. Hatchability, time to hatching and gross abnormalities were recorded. Once hatched, the hatched fry were continuously maintained at the same concentrations for the additional 15 days. After the additional 15 days of exposure, the genetic sex ratio was determined. Ten fish including five females and five males were assigned randomly to a 5-L glass aquarium and duplicate aquaria were used at each exposure level. Fish were continuously exposed to nominal estriol concentrations of 5, 50, 500, and 5000 ng/L and the SC was included in the experiment design. The solution was renewed every 24 h. Treated and control fish were exposed for another 60 days. The entire test duration was 90 days.

Hållbarhet, förvaring och hantering

Hållbarhet

3 år

Särskilda förvaringsanvisningar

Inga särskilda förvaringsanvisningar.

Särskilda anvisningar för destruktion och övrig hantering

Ej använt läkemedel och avfall ska kasseras enligt gällande anvisningar.

Egenskaper hos läkemedelsformen

Transdermal gel

Klar eller svagt opaliserande gel

Förpackningsinformation

Transdermal gel 0,75 mg/dos Klar eller svagt opaliserande
60 dos(er) behållare med dospump, 124:95, (F)