
miljø og sundhed

Sundhedsstyrelsens Rådgivende Videnskabelige Udvalg for Miljø og Sundhed

Formidlingsblad 18. årgang, nr. 1, april 2012

Læs om

[miljøgifte og børnevacciner](#)

[alkohol og graviditet](#)

[høj saltindtagelse og kronisk bronkitis](#)

[overvægt og sædkvalitet](#)

[nanopartikler i farve- og lakindustrien](#)

[udsættelse for nanopartikler i drægtighedsperioden](#)

Se også

[kalender 2012](#)

Indhold

Miljøgifte påvirker raske børns evne til at danne antistoffer mod de forebyggende børnevacciner.	3
Alkohol og graviditet.	10
Høj saltindtagelse og risiko for bronkitis - et ti-års opfølgningstudie i Copenhagen Male Study..	17
Kan overvægtige mænd forbedre deres sædkvalitet ved vægttab?	21
"NANOKEM"- Nanopartikler i farve- og lakindustrien - eksponering og toksiske effekter..	27
Udsættelse for nanopartikler i drægtighedsperioden og effekter på afkommet: resultater fra en dyremodel... ..	39

Miljø og sundhed

Bladet henvender sig primært til forskere, beslutningstagere og administratorer, der beskæftiger sig med miljø og sundhed.

Udgives af:

Sundhedsstyrelsens Rådgivende Videnskabelige Udvalg for Miljø og Sundhed

Redaktion:

Jens Peter Bonde (ansv)
Steffen Loft
Tina Kold Jensen
Hilde Balling

18. årgang, nr.1, april 2012
Oplag 1.200, tilsendes gratis ved henvendelse til:

Hilde Balling, Sundhedsstyrelsen
hib@sst.dk

Eftertryk mod kildeangivelse.

Tryk: Rosendahls
ISSN 1395-5241
ISSN elektronisk 1601-4146
<http://miljoogsundhed.sst.dk/blad/ms1201.pdf>

Den uendelige historie

I dette nummer beskriver P. Grandjean *et al.* immunotoksiske effekter i den færøske børnekohorte i form af stigende risiko for nedsat antistofrespons over for vaccinationer mod difteri og stivkrampe jo højere koncentrationer i blodet af PCB- og PFC-forbindelser. Forfatterne diskuterer, hvorvidt disse resultater kan overføres til andre befolkninger og anfører, at det er nødvendigt at få dem eftervist.

Under alle omstændigheder giver resultaterne stof til eftertanke og minder os igen om vigtigheden af at være opmærksomme på, om der er risiko for negative effekter på sundhed og miljø knyttet til ny teknologi.

For nanoteknologiens vedkommende har der tidligt været opmærksomhed på om der er risici for sundhed og miljø knyttet til nanomaterialer. Det har medført, at der er opstået et nyt videnskabeligt forskningsområde nanotoksikologi og at der fokuseres på udvikling af metoder til risikovurdering af nanomaterialer og livscyklusvurderinger.

En omfattende opgave, der forudsætter samarbejde på internationalt plan. Her er Danmark godt med, hvilket de to artikler af A. Saber *et al.* og P. Jacson *et al.* om nanopartikler i dette nummer vidner om.

Kemiske stoffer kan ikke undværes i en moderne hverdag og der opstår hele tiden nye teknologier, så det er en vedvarende udfordring at sikre, at der ikke opstår risici for sundhed og miljø.

Den uendelige historie er titlen på en berømt bog om en drengs oplevelser i eventyrlandet Fantasia, men titlen kunne lige så vel anvendes på ovenstående udfordring.

Hilde Balling

Miljøgifte påvirker raske børns evne til at danne antistoffer mod de forebyggende børnevacciner

Af Philippe Grandjean¹, Carsten Heilmann², Pal Weihe³, Esben Budtz-Jørgensen⁴, Elisabeth Wreford Andersen⁵, Kåre Mølbak⁵, Lise Jensen⁵, Mette Braad Sander¹ og Flemming Nielsen¹

PCB og PFC omfatter nogle svært nedbrydelige miljøgifte, som bl.a. findes som forurening af kosten. Stofferne er mistænkt for at påvirke immunsystemet i negativ retning, men det er uklart, i hvilken grad dette sker ved aktuelle eksponeringer, ligesom sårbarhedens afhængighed af alder og udvikling er ukendt. En dansk-færøsk forskergruppe har undersøgt en fødselskohorte på Færøerne for at vurdere miljøgiftens påvirkning af børnenes immunkompetence. Eksponeringen blev målt i blodprøver fra moderen under graviditeten og fra barnet ved senere kliniske undersøgelser. Som udtryk for immunsystemets funktion valgtes at måle koncentrationen af specifikke antistoffer mod stivkrampe og difteri, som børnene var vaccineret imod som led i de rutinemæssige vaccinationer. Jo højere eksponering for PCB og PFC, desto lavere var mængden af antistof. For PCB kan effekten formentlig forklares som en dioxin-lignende påvirkning, som synes at spille størst rolle omkring 18 måneders alderen, dvs. efter afslutning af ammeperioden. For PFC ses den kraftigste effekt ved 7 år, og her er barnets samlede eksponering (målt i 5-års alderen) afgørende. Hele 9 % af børnene havde ved 7-års alderen antistoffer, som var under det niveau, der traditionelt bruges som udtryk for varig beskyttelse mod stivkrampe eller difteri. Dette på trods af hele fire forudgående vaccinationer. Risikoen for at have

lave koncentrationer af antistoffer var kraftigt øget, jo større eksponeringen for PCB og PFC var. Disse resultater antyder en ny dimension inden for miljømedicin og forebyggelse, da forureningen synes at kunne modvirke virkningen af vaccinationer, som udgør en hovedhjørneste i moderne forebyggelse.

Baggrund for CHEF projektet

Færøerne er et oplagt valg for undersøgelser af helbredsmæssige konsekvenser af miljøgift-eksponering. Befolkningen er af nordisk og britisk baggrund og derfor rimeligt sammenlignelige med andre nordeuropæiske befolkninger. På grund af den traditionelle kost er befolkningen i særlig grad udsat for en række miljøgifte, som ophobes i marine fødekæder, herunder methylkviksølv og persistente organiske stoffer. Det gælder således de polychlorede biphenyler (PCB), som er fedtopløselige og svært nedbrydelige. Nogle PCB kongener har dioxin-lignende virkninger. PCB findes i grindehvalens spæk, og denne traditionelle spise er derfor en vigtig årsag til at færinger i gennemsnit har omkring 10 gange højere PCB-koncentration i blodet, sammenlignet med danskere. Mens nogle færinger i tidens løb har spist meget spæk, andre kun lidt, så varierer eksponeringen betydeligt i denne ellers meget homogene befolkning. Det giver gode muligheder for at vurdere, om PCB-eksponering medfører skadelige effekter på sundheden.

Methylkviksølv og de perfluorerede stoffer (PFC) findes derimod især i kødet fra grindehvalen. Mens indholdet af methylkviksølv i blodet afhænger af kosten i de seneste måneder, så er en række PFC-forbindelser meget persistente og ophobes derfor over en årrække.

¹ Miljømedicin, Syddansk Universitet

² Pædiatrisk afdeling, Rigshospitalet

³ Afdelingen for Arbejdsmedicin og Folkesundhed, Færøernes Sygehusvæsen

⁴ Biostatistisk afdeling, Københavns Universitet

⁵ Epidemiologisk afdeling, Statens Serum Institut

Ikke desto mindre tyder nylige undersøgelser på, at færingers udsættelse for metylkviksølv er forhøjet i forhold til Danmark, men deres udsættelse for PFC er ikke. Desuden er det klart, at forskellige kostvaner med større eller mindre vægt på traditionelle fødevarer betinger en stor variation i eksponeringen også for disse stoffer i det færøske samfund.

I 1986 startede Pál Weihe og Philippe Grandjean derfor et samarbejde om etablering af fødselskohorter på Færøerne for at belyse, om miljøgifte har skadelige effekter på børns udvikling, især med hensyn til nervesystemets og immunsystemets udvikling, men også i relation til kønsudvikling. Projektet kom til at hedde CHEF - Children's Health and the Environment in the Faroes. Se mere på www.chef-project.dk.

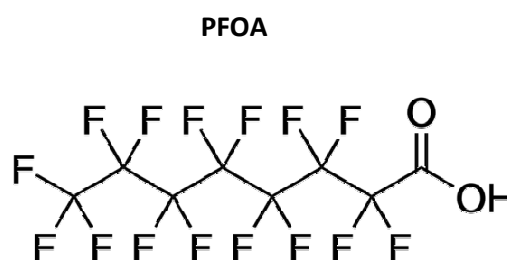
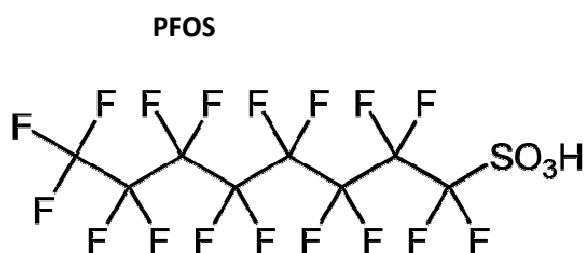
Miljøgifte i de marine fødekæder

Både PCB og PFC tilhører en gruppe af svært nedbrydelige stoffer, som kaldes POP-forbindelser (Persistent Organic Pollutants, dvs. svært nedbrydelige organiske miljøgifte). En række POP-forbindelser er reguleret i medfør af Stockholm konventionen. PCB figurerer på konventionens første liste over de 12 farligste miljøgifte - populært kaldet *Det beskidte dusin*. På grund af stoffernes persistens findes de overalt på kloden, og deres skadevirkninger har derfor langvarige og globale konsekvenser. Det er i EU forbudt at fremstille, importere, markedsføre og anvende stofferne. Men de findes i omgivelserne og i de marine fødekæder som følge af fortidens synder, og PCB slipper stadig ud fra kasseret elektronisk udstyr, byggematerialer og andre kilder. PFC-forbindelserne er foreslået optaget på listen,

men foreløbig er det kun sket for PFOS (perfluorooktansulfonat). Stoffet er dog stadig godkendt til enkelte særlig vigtige anvendelser.

PCB blev først industrielt fremstillet i 1920'erne. Stoffernes holdbarhed og andre egenskaber gjorde dem attraktive til mange anvendelser. Nogle af os har i sin tid fået PCB på fingrene, når vi brugte immersionsolie ved mikroskopi. Nu hvor mange anvendelser er blevet udfaset, og farligt affald i vid udstrækning bliver håndteret forsvarligt, så reterer stadig omfattende problemer med PCB i byggematerialer - som fugemasse og i termoruder fra 1950'erne og frem til 1977, hvor det blev forbudt. Anvendelse i elektriske apparater blev dog først forbudt i 1986. Afdampning fra byggematerialer sker langsomt og omfatter især de PCB-kongenere med det højeste damptryk, herunder PCB-28. Blodprøver fra Færøerne viser så at sige aldrig væsentlige koncentrationer af PCB-28, hvilket tyder på, at eksponering fra byggematerialer her må være beskednen. De svært nedbrydelige PCB-138, 153 og 180, som er de vigtigste PCB-forureninger i hvalspæk, udgør således omkring halvdelen af den samlede mængde PCB i blodprøver fra færinger - igen et udtryk for at traditionel kost spiller en stor rolle for eksponeringen.

De vigtigste perfluorforbindelser indeholder en alkylkæde, hvor alle brintatomer er erstattet med fluor. Dette gør kulstofkæden meget stabil og nærmest unedbrydelig i miljøet og i kroppen. Stofferne indeholder også en mere reaktiv funktionel gruppe, som kan være en alkohol eller en syre. Flere hundrede forskellige forbindelser anvendes industrielt, men de mest kendte og udbredte er PFOS og perfluorooktansyre (PFOA), som er afbildet nedenfor.



PFC har nyttige egenskaber, idet de er både vand- og fedtafvisende. Derfor bruges de til imprægnering af paptallerkener, fødevareremballage, regntøj, sko, møbelbetræk, fremstilling af belægning til slip-let pander, og mange andre formål (1). PFC kan derfor optages i kroppen som følge af miljøforurening, ved direkte forurening af fødevarer, eller ved indånding af støv, bl.a. fra imprægneret tøj. PFC ophobes ikke i fedtvæv, men bindes til proteiner i blod og organer. Ligesom PCB kan PFC passere moderkagen og således overføres fra mor til foster.

Immuntoksikologiske effekter

Det er først i de senere år, at forskere har interesseret sig for miljøgiftes betydning for skader på immunsystemet. Den slags undersøgelser er ikke rutine, og for skader på immunsystemets udvikling findes der end ikke en OECD guideline for, hvordan den slags forsøg skal udføres. Testning af den slags effekter er ej heller krævet i EUs kemikalielovgivning (REACH). Ikke desto mindre synes immuntoksikologiske virkninger at være af betydelig relevans for risikovurderinger af miljøgifte.

Den immunologiske udvikling er af kritisk betydning, da et velfungerende immunsystem på den ene side må være effektivt over for fremmede vira eller bakterier, som er trængt ind i kroppen, men på den anden side ikke overreagerer og giver ophav til allergi eller autoimmune sygdomme. Det antages således, at der eksisterer et sårbarhedsvindue prænalt og kort efter fødslen, hvor immunsystemets udvikling er særlig følsomt for påvirkninger af miljøgifte som PCB og PFC. Dette kan skyldes, at stofferne direkte påvirker thymus (bristen), som er afgørende for udviklingen af T-lymfocytter. Umodne T-lymfocytter migrerer fra knoglemarven til thymus, hvor de modnes og efterfølgende bevæger sig tilbage mod knoglemarven. Man inddeler i dag T-hjælperceller i to hovedtyper Th1 og Th2. Da udviklingen af antiinflammatoriske Th2 celler primært finder sted prænalt, mens udviklingen og overtagelsen af de Th1 proinflammatoriske celler sker postnalt, kan tidspunktet for en

immuntoksisk eksponering være af betydning for påvirkningens art (2).

Mens PCBs immuntoksiske effekter er velkendte og formentlig skyldes dioxin-lignende effekter (pga. nogle PCB kongeners lighed med dioxin), så er PFCs effekter først blevet opdaget for nylig. For disse stoffer (ligesom for PCB) var der ikke krav om grundig testning, da PFC havde været i brug i flere årtier og derfor var undtaget de regler om kemikaliekontrol, som blev indført i 1970'erne. Først for nylig blev det opdaget, at PFC var immuntoksisk i dyreforsøg. Sidste år blev der publiceret resultater, som viste, at udsættelse af drægtige mus for PFC medførte skader på ungerens udvikling af immunsystemet. Musene blev dårlige til at danne antistoffer, når et fremmed protein blev sprøjtet ind i kroppen. Det særlig bekymrende var, at denne effekt forekom ved PFC-koncentrationer i blodet svarende til indholdet i blodet hos mennesker (3).

Børnevaccinationer

De rutinemæssige vaccinationer af børn tjener vigtige forebyggende formål i befolkningen. Men samtidig udgør vaccinationerne i princippet et eksperiment, hvor en bestemt mængde antigen sprøjtes ind i kroppen i flere omgange, når barnet har nået en bestemt alder. Ved at måle de specifikke antistoffer i blodet kan man vurdere immunsystemets samlede reaktion på antigenet. Netop fordi langt hovedparten af børnene gennemfører vaccinationerne efter anbefalingerne, er denne standardiserede udsættelse for et antigen meget velegnet til at vurdere eventuelle negative påvirkninger af immunsystemet. Som led i CHEF-projektet blev der derfor igangsat kliniske undersøgelser, blodprøver og antistofanalyser for at måle de mulige immunologiske konsekvenser af eksponering for miljøgifte. Vi fokuserede på de antistoffer, der bliver dannet efter vaccination mod stivkrampe og difteri som klassiske proteinantigener (4).

Formålet med børnevaccinationer er at opnå en vedvarende, helst livslang immunitet, svarende til den, man ellers opnår ved at gennemgå en

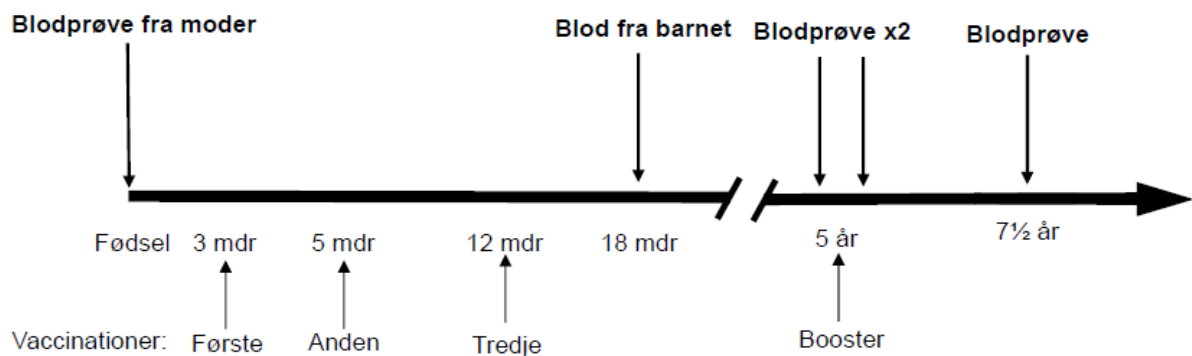


Fig. 1. Rutinemæssige børnevaccinationer og de gennemførte undersøgelser for vaccinerespons blandt medlemmer af den færøske fødselskohorte.

naturlig infektion. Der sker en aktivering af immunsystemet, når den fremmede mikroorganisme trænger ind i kroppen. Herved stimuleres nogle immunologiske celleprocesser, der fører til dannelse af antistoffer, som hurtigt vil kunne øges i mængde ved gentagen smitte. Samme effekt kan opnås ved i stedet at sprøjte svækkede eller døde bakterie- eller virusbestanddele ind i kroppen som led i en vaccination.

Den opnåede immunitet er først og fremmest en fordel for den enkelte. Ganske vist er difteri ikke en aktuell trussel i Danmark, men man er så også beskyttet, hvis man skulle rejse til et land, hvor sygdommen forekommer. Derudover er befolkningens tilslutning til vaccinationerne af stor indirekte betydning for effekten på forebyggelsen af en given sygdom. Hvis kun et beskedent mindretal ikke er blevet vaccineret (eller af anden grund ikke har dannet de fornødne antistoffer), så vil en eventuelt smittet person ikke kunne medføre en epidemi, fordi sygdommen ikke vil kunne spredes blandt de få ikke-beskyttede personer. Denne mekanisme kaldes flokimmunitet (5). Det er velkendt, at vaccinationer medfører forskelle i antistofrespons. Nogle børn reagerer med langt bedre dannelse af antistoffer end andre, men årsagerne til denne variation er stort set ukendt (meget tidlig fødsel, HIV infektion og nedarvede immundefekter hører til de sjældne årsager).

De nye data

Efter først at have påvist en PCB effekt på vaccineantistoffer på mindre grupper børn (4) satte vi gang i en større undersøgelse under CHEF-projektets kohorte 3. Heri indgår i alt 656 børn, født mellem 1997 og 2000. Der blev taget en blodprøve fra moderen ved sidste svangreundersøgelse inden fødslen. Godt 100 af børnene blev indkaldt til undersøgelse og blodprøve i 18-måneders alderen, idet der da var gået 6 måneder siden deres tredje børnevaccination. Der sås en helt klar negativ sammenhæng mellem PCB i barnets serum og antistofkoncentrationen, især for difteri (4). Denne observation gav anledning til yderligere undersøgelser.

Ved 5-års alderen gives en booster mod stivkrampe og difteri for at sikre langvarig beskyttelse mod begge sygdomme. Denne ekstra vaccine blev indført for en del år tilbage, da det viste sig, at tre vacciner ikke var nok til at sikre tilstrækkeligt høje antistofniveauer. Vi besluttede derfor at måle antistofferne lige inden den sidste vaccination, omtrent en måned senere og igen to år senere, hvor barnet var fyldt 7 år. I alt deltog 587 af børnene med en blodprøve i denne opfølgning.

Som forventet havde mange børn ved 5 år utilstrækkelige antistoffer til langvarig beskyttelse. For difteri havde hele 37 % af børnene for lav en koncentration af antistoffer, mens dette

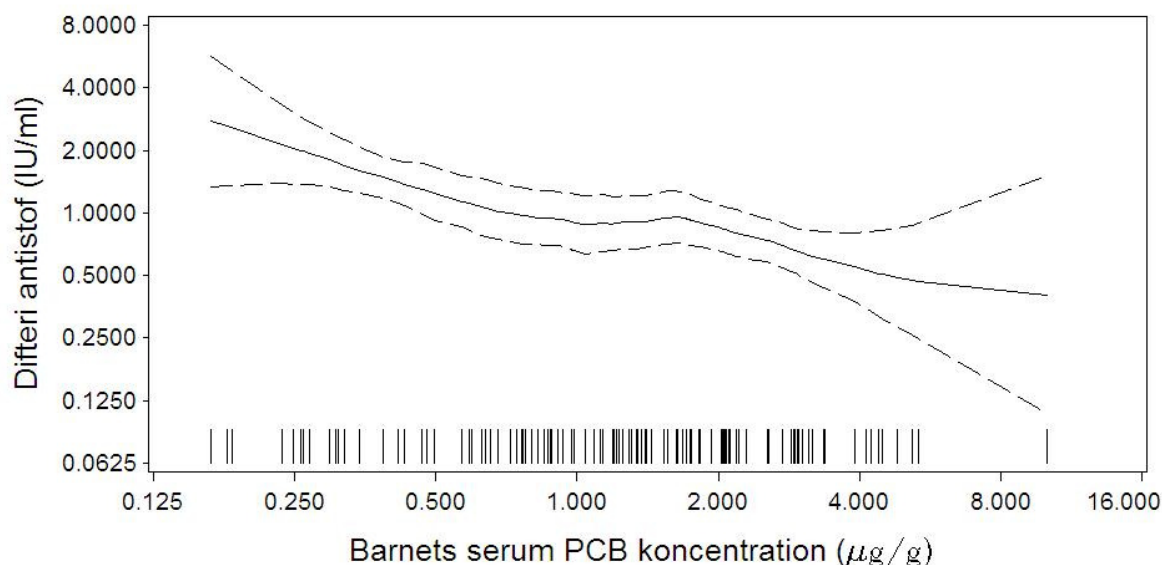


Fig. 2. Sammenhængen mellem barnets udsættelse for PCB (målt som total-PCB i serumlipidfraktionen) og koncentrationen af specifikt antistof mod difteri ved 18-måneders alderen. Efter (4).

for stivkrampe gjaldt 26 %. PCB var en vigtig risikofaktor. Jo højere PCB-eksponering, desto lavere antistofkoncentration i serum ved 5 år og desto større risiko for at en koncentration lå under grænsen for langvarig beskyttelse (0,1 IU/ml). Et meget interessant fund var, at PCB-eksponeringen målt ved 18-måneders alderen var den stærkeste prædiktør. Med andre ord var den tidlige postnatale eksponering - herunder også eksponeringen via modermælken - afgørende for, hvor godt barnet som 5-årig var til at vedligeholde antistofferne. Derimod var reaktionen på selve boostervaccinationen mere afhængig af den aktuelle eksponering, altså PCB-indholdet i serumprøven ved 5 år. Resultaterne fra 7-års undersøgelsen var stort set sammenfaldende. Samlet set blev koncentrationen af antistoffer mindsket med op til 20 % for hver fordobling af PCB-koncentrationen (6). Dette er illustreret med data fra 18-måneders alderen i figur 2.

Da nylige dyreforsøg havde vist immuntoksiske effekter af PFC, målte vi disse stoffer i blodprøven fra moderen og barnets blodprøve ved 5 år. Her så vi tegn på negative effekter på antistofferne i 5-års alderen i relation til begge

eksponeringsmål. Men den kraftigste påvirkning sås ved 7 år. Her havde PFC en endnu stærkere effekt end PCB på immunresponset. En fordobling af den samlede PFC-udsættelse mindskede antistofresponset med 49 %, altså svarende til en halvering (7). Kurven i fig. 3 viser sammenhængen for difteri.

På dette tidspunkt var der henholdsvis 18 (4 %) og 32 (7 %) af børnene, som havde en antistofkoncentration under 0,1 IU/ml for henholdsvis tetanus og difteri. Disse børn (i alt 9 %) fik en ekstra vaccination for at sikre en længerevarende beskyttelse. En fordobling i PFOS eller PFOA gav en 2 til 4 gange forøget risiko for ikke at være beskyttet af de normale fire vacciner (7).

Relevans og konsekvenser

Man bør naturligvis ikke være nervøs for udbrud af en difteriepandemi på baggrund af disse resultater, og stivkrampe vil man rutinemæssigt blive genvaccineret mod på skadestuen, hvis der er risiko for infektion i et sår. Den mindskede reaktion på de to vacciner kan imidlertid være tegn på en hæmning af immun-

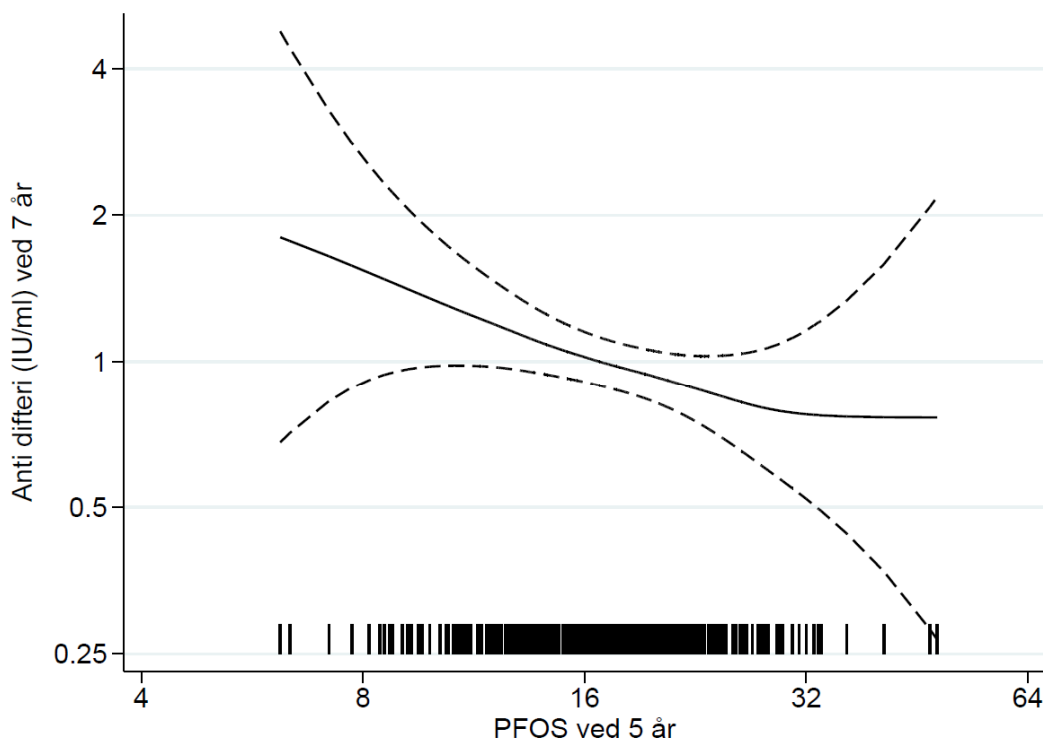


Fig. 3. Sammenhæng mellem serumkoncentrationen af PFOS i 5-års alderen og af specifikt antistof mod difteri 2 år senere. Efter (7).

systemets funktioner. Dette stemmer udmærket overens med dyreforsøgene, og forsøg med humane hvide blodlegemer har vist, at en række forskellige PFC-forbindelser medfører en hæmning i dannelsen af signalstoffer, som benyttes af immunsystemet til at koordinere de forskellige celletypers aktivitet.

Hvis der er tale om en mere general hæmning af immunsystemet, kan det mindskede respons på de to vacciner være udtryk for en mindsket virkning af vacciner mere generelt. Desuden er det muligt, at reaktionen på infektioner også er mindsket, således at smitsomme sygdomme bliver mere hyppige og mere alvorlige. Der kan desuden også være tale om påvirkning af allergiske reaktioner. Serum fra de 7-årige børn blev derfor analyseret for total IgE. Denne parameter viste en positiv sammenhæng både med PCB-eksponeringen og med varigheden af amningen. Dette kunne tyde på en ændret balance mellem Th1 og Th2 celler.

Men i undersøgelsen havde børn med børne-eksem (atopisk dermatit) en lavere prænatal PCB-eksponering end ikke-allergiske børn. Disse sammenhænge er derfor tydeligvis komplekse og må også ses i sammenhæng med amningens positive betydning, idet amning samtidig medfører øget postnatal eksponering for PCB (8).

Spørgsmålet er desuden, om disse resultater fra Færøerne uden videre kan overføres til den danske og andre befolkninger. Ganske vist er vores resultater de første på feltet, men de hænger udmærket sammen med andre resultater fra epidemiologiske og eksperimentelle undersøgelser. På den anden side er det nødvendigt at få dem eftervist. Man må desuden overveje, om eksponeringen på Færøerne svarer til den danske. Her gælder det, at PCB-eksponeringen er omkring 10 gange højere på Færøerne end i Danmark. Men eksperimentelle data tyder på, at selv meget lave eksponeringer

kan have en skadelig virkning, og dette fremgår også af fig. 2. Forsøger man at beregne en grænseværdi ud fra disse tal (4), så er den aktuelle eksponering i Danmark tæt på det niveau, hvor den maksimalt må ligge uden at påvirke antistofniveauet.

Hvad angår PFC, så har eksponeringerne i Danmark været faldende, nok som følge af at flere amerikanske virksomheder har udfaset PFOS og PFOA (selv om øget produktion nu foregår i Kina). Men samlet set ser PFC-eksponeringen i Danmark ud til at være på omtrent samme niveau som den færøske, om end kilderne nok ikke er helt de samme.

Alt i alt er det oplagt, at opmærksomheden omkring immuntoksiske effekter må skærpes, og at immuntoksicitet må tages i betragtning ved risikovurderinger. Der må sættes på bedre og mere systematiske data for testning på dette felt.

Hvad angår konkret forebyggelse, så skal PCB ifølge Stockholm konventionen søges fjernet fra eksisterende produkter inden 2025. I Danmark vil det især gælde byggematerialer, en opgave som allerede har vist sig at være ganske omfattende. PFC er endnu mere kompliceret, idet der er tale om et meget stort antal forbindelser med utallige anvendelser, lige fra paptallerkener til skivoks. Nogle producenter er begyndt at markedsføre PFC-frit regntøj, ligesom man kan få møbler eller tæpper gjort smudsafvisende uden PFC. Her vil krav fra forbrugere måske tilskynde en etablering af nye nicher for produktion af andre vand- og smudsafvisende stoffer (som så gerne skulle gennemtestes i forvejen).

I den konkrete situation valgte vi at genvaccinere de børn, som ikke havde en tilstrækkelig beskyttelse på trods af 4 vaccinationer. Hvis det eksisterende program for rutinevaccination af børn ikke giver ordentlig beskyttelse for stor set alle deltagende børn, så kunne man overveje justering af programmet, sådan som det allerede er sket flere gange i tidens løb. Men at skulle ændre på et vigtigt element i forebyggelsen på grund af miljøforurening er kontro-

versielt. Netop at immuntoksiske stoffer kan medføre en risiko for at et helt centralt element i forebyggelsen ikke virker optimalt, burde være grund nok til at sætse endnu mere på forebyggelse - af miljøforureningen.

Yderligere information:

Philippe Grandjean

e-mail: pgrandjean@health.sdu.dk

Referencer

1. Trier X. *Polyfluorinated surfactants in food packaging of paper and board*, in *Department of Basic Sciences and Environment, Faculty of Life Sciences*. 2011, University of Copenhagen.
2. Dietert RR. *Developmental immunotoxicology (DIT): windows of vulnerability, immune dysfunction and safety assessment*. *J Immunotoxicol* 2008;5(4):401-12.
3. Dewitt JC et al. *Immunotoxicity of Perfluorinated Compounds: Recent Developments*. *Toxicol Pathol*, 2011.
4. Heilmann C et al. *Reduced antibody responses to vaccinations in children exposed to polychlorinated biphenyls*. *PLoS Med* 2006;3(8):e311.
5. John TJ, Samuel R. *Herd immunity and herd effect: new insights and definitions*. *Eur J Epidemiol* 2000;16(7):601-6.
6. Heilmann C et al. *Serum concentrations of antibodies against vaccine toxoids in children exposed perinatally to immunotoxicants*. *Environ Health Perspect* 2010;118(10):1434-8.
7. Grandjean P et al. *Serum Vaccine Antibody Concentrations in Children Exposed to Perfluorinated Compounds*. *JAMA* 2012;307(4):391-7.
8. Grandjean P et al. *Allergy and sensitization during childhood associated with prenatal and lactational exposure to marine pollutants*. *Environ Health Perspect* 2010;118(10):1429-33.

Alkohol og graviditet

Af Louise Berthram Poulsen¹ og Karin Sørig Hougaard^{2,3}

Alkohol er dybt forankret i mange kulturer, som nydelsesmiddel, stimulanse og i medicinske behandlinger. Det har i mange år skygget for alkohols mørkere sider. Ikke kun de, der indtager alkohol, risikerer skade. Når gravide kvinder drikker alkohol, skader det også fostrets udvikling. Sundhedsstyrelsen anbefaler, at kvinder holder sig helt fra alkohol, når de er gravide. Men - hvad ligger egentlig til grund for Sundhedsstyrelsens anbefalinger?

Der er tegn på, at man helt tilbage i 1700-tallet mistænkte alkohol for at skade fostret. Indtag af alkohol under graviditeten og skadelige effekter på fosteret bliver imidlertid først beskrevet i den moderne videnskabelige litteratur så sent som i 1968 (1,2). Her beskriver en belgisk børnelæge et mønster af fødselsdefekter hos 127 børn af alkoholiske mødre. Artiklen vækker ikke meget opsigt, måske fordi artiklen er på fransk. I 1973 kommer den første engelsksprogede artikel, i Lancet, hvor forfatterne ligeledes beskriver nogle af de karakteristiske symptomer, observeret hos 8 børn, født af mødre med misbrug af alkohol. Senere samme år beskriver de samme forfattere syndromet under samlebegrebet Føtal Alkohol Syndrom for første gang, og det anses af mange for skelsættende (2,3). Mange år fremover er der imidlertid skepsis over for sammenhængen. Hvorfor er det ikke blevet opdaget tidligere, hvis sammenhængen virkelig eksisterer? Paradoksalt nok er alkohol blevet brugt medicinsk til at forhindre for tidlig fødsel (2).

Alkohols fosterskadende virkninger er efterhånden veldokumenteret, selvom der stadig mangler viden om de tilgrundliggende mekanismer. Og - meget væsentligt så er der uenighed om, hvorvidt der findes en minimumsgrænse for alkohols fosterskadende effekter, og om hvor grænsen i givet fald ligger. Et "sikkert" indtag af alkohol under graviditeten kendes altså ikke, hvilket selvsagt komplicerer klare anbefalinger. Den danske sundhedsstyrelse har valgt at anvende et forsigtighedsprincip og anbefaler, at gravide kvinder afholder sig helt fra at indtage alkohol i graviditeten (4).

Føtal alkohol syndrom

Børn af mødre, der har indtaget store mængder alkohol i graviditeten, kan udvise *føtal alkohol syndrom*, forkortet *FAS*. FAS er karakteriseret ved navnlig tre forhold hos børnene: 1) Væksthæmning før og/eller efter fødslen, 2) Særligt karakteristiske ansigtstræk, herunder en afladet næse-læbe fure, tynd overlæbe, fladt midtansigt, misdannelse af øjnene og en hudfold i inderste øjenkrog og 3) Hjerneskade (neurologiske symptomer, hæmmet udvikling). Denne treenighed kaldes også FAS-triaden. Børn, som udviser nogle eller mildere symptomer, siges at være født med føtale alkoholeffekter eller FAE. Symptomerne omfatter f.eks. indlærings- og adfærdsvanskeligheder, hyperaktivitet og motoriske forstyrrelser. FAS ses ved kronisk indtagelse af 6-8 genstande dagligt, og hos alkoholikere er hyppigheden af FAS hos børn 40-60 % (5,6). Effekterne af alkoholindtag i graviditeten begrænser sig ikke kun til FAS-karakteristika. Alkoholeffekter udgør et kontinuum, og det variable udtryk i alkoholskader skyldes sandsynligvis forskelle i tidspunktet for og graden af udsættelse i graviditeten, kombineret med maternelle og genetiske faktorer. Dertil kommer, at alkohol ikke er den eneste risikofaktor for fostret. Også

¹ Stud. med. Københavns Universitet

² Afdeling for Miljø og Sundhed, Institut for Folkesundhedsvidenskab, Københavns Universitet

³ Det Nationale Forskningscenter for Arbejdsmiljø

tobak, hash og medicin kan påvirke graviditet og fostrets udvikling. Dette vanskeliggør også udredning og diagnosticering af medfødte alkoholskader hos børn (6,7,8,9).

Diagnosticering af alkoholskader

Der findes forskellige kriterier for diagnosticering af medfødte alkoholskader. "Institute of Medicine Criteria" inddeler medfødte alkoholskader i 5 kategorier (10):

1) FAS-karakteristika med bekræftet maternel alkoholeksponering, 2) FAS-karakteristika uden bekræftet maternel alkoholeksponering, 3) Delvise FAS-karakteristika med bekræftet maternel alkoholeksponering, 4) Alkoholrelaterede fødselsdefekter, dvs. bekræftet maternel alkoholeksponering samt medfødte organmisdannelser hos fosteret og 5) Alkoholrelaterede neurologiske udviklingsforstyrrelser, dvs. bekræftet maternel alkoholeksponering samt cerebrale skader hos fosteret.

Det varierende symptombillede gør det svært at diagnosticere medfødte alkoholskader i klinikken. Hvis man ikke kender til moderens alkoholmisbrug og barnet ikke viser fysiske tegn på alkoholskader, bliver symptomerne måske først tydelige senere i livet, f.eks. når barnet kommer i skole (6). De fleste kriterier bygger på kendskab til moderens alkoholforbrug, så der mangler metoder til at diagnosticere barnet, hvis der er mistanke om skader relateret til alkohol uden kendskab til barnets eksponering som foster. Udvikling af screeningsmetoder til diagnosticering af alkoholskader er derfor afgørende for at sikre tidligere og bedre diagnosticering, der kan bedre fremtidsudsigterne for disse børn. En metode til tidlig opmærksomhed på risiko for føtale alkoholskader baserer sig på analyse af det nyfødte barns første afføring for fedtsyre ethylestere. Esterne opstår ved nedbrydning af alkohol, og analysen kan afsløre, om fosteret har været udsat for alkohol i sidste del af graviditeten. I bekræftende fald kan barnet observeres for FAS straks ved fødslen, og børn af mødre uden kendte alkoholproblemer kan "fanges" (8).

Forekomst i Danmark

Problemerne med at diagnosticere føtale alkoholskader influerer også på mulighederne for at bestemme forekomsten af FAS i befolkningen, idet registerdata sjældent er tilstrækkelige. Et overslag over forekomsten af FAS kan man få ved at undersøge en afgrænset og repræsentativ befolkningsgruppe for FAS med brug af specifikke metoder. Amerikanske studier anslår på denne måde, at 0,5-3 børn ud af 1.000 levendefødte har FAS (11). En forekomst på 0,5-3 pr. 1.000 børn vil svare til, at der hvert år fødes mellem 30 og 180 børn med FAS i Danmark. I det danske Landspatientregister er der registreret 7-15 tilfælde årligt (4).

Mekanismer for alkoholskader

Alkohol er et organisk opløsningsmiddel. Det nedbrydes i leveren af enzymet alkoholdehydrogenase, først til acetaldehyd, og derefter til acetat af enzymet aldehyddehydrogenase. Efter indtag af ens mængde alkohol afviger blodets koncentration af alkohol ikke mellem afholdende individer og alkoholikere. Det gør imidlertid koncentrationen af acetaldehyd, der er højest hos alkoholikere. Det skyldes formentlig øget aktivitet af enzymet aldehyddehydrogenase hos alkoholikere. Det diskuteres derfor, om det er acetaldehyd, der inducerer nogle af de fosterskader, der ses hos børn af gravide kvinder med alkoholmisbrug. Det er dog også påvist, at alkohol og ikke acetaldehyd hæmmer celleadhæsion, som er vigtig i fosterudviklingen. Alkohol kan også skade cellerne ved at inducere "reactive oxygen species" (ROS), hæmmer tilsyneladende frigivelse af signalstoffer (f.eks. cytokiner) med stor betydning for signalering ifm. vækst af nerver og blodkar, og inducerer celledød (8,9,12).

Alkohol kan skade fostret både direkte og indirekte. Nogle studier viser også, at både fars og mors indtag af alkohol omkring tidspunktet for undfangelse kan påvirke fostrets overlevelse (13,14). Den direkte skadende virkning af alkohol opstår som følge af stoffets påvirkning af føtale celler. Den indirekte virkning omfatter de forstyrrelser, alkohol kan påføre fosteret

uden direkte at påvirke fostrets egne celler. Det kan f.eks. være fejl- eller underernæring af moderen og dysfunktion af moderkagen (7,15). Alkohols direkte påvirkning af fostrets celler afhænger af overførslen af alkohol fra moderens til fosterets blod. Alkohol passerer hurtigt over moderkagen, og fosteret opnår næsten straks samme koncentration af alkohol i blodet som moderen (15). Moderens "promille" har derfor stor betydning for eksponeringen af fosteret.

Koncentrationen af alkohol i blodet afhænger af hvor meget og hvor hurtigt moderen indtager alkohol, hendes kropssammensætning og størrelse, mængden af mad i mavesækken samt den hastighed, hvormed hun nedbryder alkohol. Sidstnævnte varierer fra person til person. Nogle kvinder har et mere effektivt alkohol dehydrogenaseenzym og cytokrom P450-system end andre og nedbryder derfor også alkohol hurtigere. Tilsvarende kan man forestille sig, at kvinder, der nedbryder alkohol langsommere og dermed har en højere promille i blodet over længere tid, har forøget risiko for at føde børn med alkoholskader (7,8,9). På samme måde afhænger "promillen", altså alkoholens andel af kroppens vandindhold, af kvindens vægt. Som en tommelfingerregel giver en genstand (=12 gr. alkohol svt. 1,5 cl ren alkohol) en promille på 0,44, hvis kvinden vejer 50 kg, men 0,27 hvis hun vejer 80 kg (16).

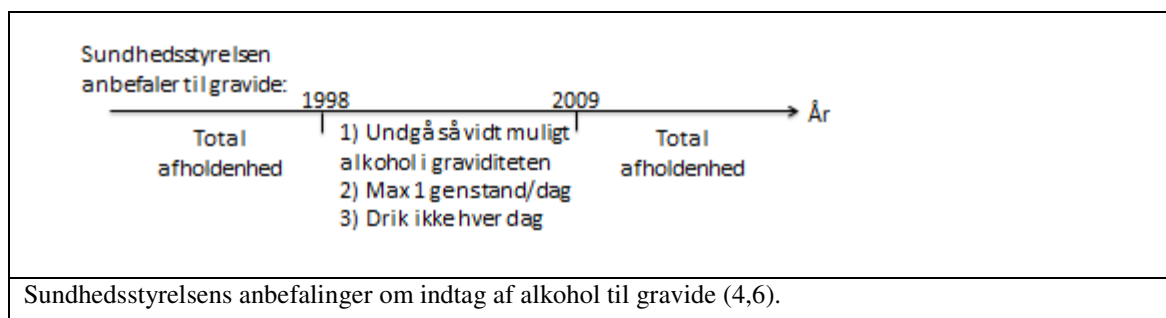
Alkohols fosterskadende effekter afhænger af moderens alkoholkoncentration i blodet, og drikkemønstret har stor betydning, herunder "binge-drinking", altså et stort indtag af alkohol på en gang. Effekten afhænger også af,

hvornår fosterets udvikling påvirkes, f.eks. i forhold til hvornår hjernens strukturer grundlægges og færdigudvikles (9).

Sundhedsstyrelsens anbefalinger til gravide om alkohol

Før 1998 anbefalede den danske sundhedsstyrelse total afholdenhed fra alkohol til gravide. I efteråret 1998 samledes en arbejdsgruppe, der havde til formål at vurdere de daværende anbefalinger (6). Efter gennemgang af videnskabelige undersøgelser af sammenhængen mellem alkoholindtag i graviditeten og skader hos børnene fandt arbejdsgruppen ikke længere videnskabelig evidens for at opretholde nulgrænsen idet: "Hypotesen om, at indtag af små mængder alkohol skulle være uskadeligt er reelt aldrig blevet modbevist. Det er på den baggrund usandsynligt, at indtagelse af små mængder alkohol skulle være skadeligt". Anbefalingerne ændrede sig derfor til: 1) undgå så vidt muligt alkohol i graviditeten, 2) drik aldrig mere end 1 genstand om dagen og 3) drik ikke hver dag. Anbefalingerne var altså baseret på, at der ikke var evidens for at indtag af små mængder alkohol var skadeligt.

I 2009 ændrede Sundhedsstyrelsen atter anbefalingerne til gravide vedrørende indtag af alkohol under graviditeten (4,17) og råder nu gravide til at undgå alkohol fuldstændigt. De nye anbefalinger tager udgangspunkt i, at det ikke er vist, at indtagelse af små mængder alkohol under graviditet er uskadeligt, at evt. skader er livsvarige - og at skaderne kan forhindres fuldstændigt. De nye anbefalinger går altså tilbage til en nulgrænse for indtag af alkohol for gravide.



Grundlag for Sundhedsstyrelsens anbefalinger

De nyeste anbefalinger baserer sig på ekspert-rapporter fra det norske Sosial- og Helsedirektoratet fra 2005 samt fra det hollandske Health Council (18,19,20). Her konkluderes, at der er mulig sammenhæng mellem indtag af 0-1 genstande dagligt (á 10 gram alkohol) og ændret adfærd hos fostret, fosterdød, for tidlig fødsel, samt forsinket psykomotorisk udvikling. Er indtaget 1-2 daglige genstande, bliver det sandsynligt, at der opstår visse alkoholskader, f.eks. vækstretardering, abort, fosterdød, for tidlig fødsel mv. Ekspertgrupperne konkluderer, at der ikke findes en sikker nedre grænse for alkoholindtag under graviditeten (18,19). Resultaterne er ikke konsistente for alle udfald og er ikke nødvendigvis påvist i alle studier af de forskellige udfald. (Et engelsk systematisk review fandt f.eks. ikke evidens for effekter på udfald i umiddelbar tilknytning til graviditet og fødsel ved op til 7 genstande om ugen (21)). Konklusionerne baserer sig på epidemiologiske studier, hvor der er korrigeret for de væsentligste fejkilder. Ved undersøgelsen af skadevirkninger ved små mængder alkohol inkluderede man hovedsageligt studier baseret på store befolkningsgrupper. Endelig blev der benyttet eksperimentelle data fra dyrestudier af høj kvalitet (18,19).

Det er af etiske årsager ikke muligt at foretage kliniske forsøg i mennesker for at bestemme sammenhængen mellem alkoholdosis og fosterskader. Derfor bruger man befolkningsundersøgelser, baseret på det indtag der nu engang finder sted i befolkningen. Fostrets eksponering for alkohol (=moderens indtag af alkohol) sammenholdes så med forekomsten af fosterskader. Manglende identifikation af en sikker nedre grænse for alkoholindtag i graviditeten kan skyldes, at grænsen ligger meget nær nul, men også forskellige metodologiske faktorer. Modsat kliniske forsøg og dyrestudier ved man ikke nøjagtigt, hvor stor eksponeringen har været, og nogle kvinder over- eller underrapporterer sandsynligvis deres alkoholindtag. Fostrets hjerne er sandsynligvis det

væsentligste målorgan. Funktionen af centralnervesystemet er kompliceret og ikke nødvendigvis særlig præcis at måle. Samtidig er f.eks. kognitiv funktion meget påvirkelig af forhold i opvæksten. Et godt opvækstmiljø kan skjule medfødte skader, mens et fattigt miljø kan øge udtrykket af medfødte skader. Man kan i den statistiske analyse inkludere væsentlige fejlkilder og faktorer, der påvirker kvindernes alkoholfølsomhed (f.eks. livsstilsfaktorer, medicin, alder, gentype, social klasse). Det kan være umuligt helt at fjerne indflydelsen heraf, bl.a. fordi vi ikke kender alle sammenhænge og risikofaktorer.

Brug af forsigtighedsprincip

På trods af at der stadig ikke kendes en sikker nedre grænse for indtagelse af alkohol under graviditeten og resultaterne ikke adskiller sig synderligt fra 1998, vælger den danske sundhedsstyrelse i dag at drage andre konsekvenser, idet der anvendes et forsigtighedsprincip (se Ramme). Vi ved ikke, om små mængder alkohol kan skade fostret - men vi ved heller ikke, om små mængder alkohol er sikre. Usikkerheden om sammenhængen mellem et lille alkoholindtag og fosterskader resulterer i, at Sundhedsstyrelsen anbefaler gravide helt at holde sig fra alkohol, "for at være på den sikre side".

Ramme: definitioner

Forsigtighedsprincip:

Forsigtighedsprincippet kan anvendes, når der er behov for et hurtigt indgreb, fordi der muligvis foreligger en fare for menneskers, dyrs og planters sundhed eller for miljøet i tilfælde, hvor de tilgængelige videnskabelige data ikke muliggør en fuldstændig risikovurdering (22).

(Kvantitativ) risikovurdering:

Risikovurdering er den proces, der betegner videnskabelig vurdering af et stofs giftighed (i mennesker). Risikovurdering omfatter normalt følgende trin: fareidentifikation, farekarakterisering (dosis-effekt vurdering), karakterisering af eksponering og karakterisering af risiko ved brug af usikkerhedsfaktorer (23).

Sundhedsstyrelsens anbefaling har givet årsag til debat, for ikke alle er enige i brugen af forsigtighedsprincippet i denne situation. Det er blevet fremført, at der ikke ligger (ny) viden til grund for stramningen, og at man risikerer at stigmatisere og give skyldfølelse hos gravide, der har indtaget små mængder alkohol (24). Et simpelt råd lettere at huske, men senest har en undersøgelse vist, at praktiserende læger og jordemødre jævnlige tilsidesætter de nye anbefalinger (25,26).

(Kvantitativ) risikovurdering

Man kan søge at kvantificere den mængde alkohol, som gravide kvinder kan tåle at indtage i graviditeten uden at skade fostret, også selvom der altså ikke er klarhed om hvornår alkohol (ikke) påvirker fostret. Ved en sådan risikovurdering sammenholder man sandsynligheden for helbredsskade som funktion af eksponeringen (se Ramme). (Denne lille artikel tillader dog ikke tilbunds gående risikovurdering, der vil kræve, at al tilgængelig viden om effekter og eksponering inddrages). Risikovurdering identificerer først, om der eksisterer en fare - altså om alkohol rent faktisk kan udøve skadevirkning på fostret. Her er alle er vist enige i, at ja, alkohol kan skade fostret. Problemet opstår, når sammenhængen mellem indtag af alkohol og effekten af alkohol på graviditet og foster skal vurderes. En risikovurdering tager nemlig helst udgangspunkt i den dosis, der er vist IKKE at have skadevirkning (NOAEL: No Observed Adverse Effect Level). Problemet er her, at den videnskabelige litteratur netop ikke leverer sikre grænser for, hvornår alkoholindtag i graviditeten er uskadeligt.

Som refereret ovenfor finder norske Sosial- og Helsedirektoratet, at der er mulig sammenhæng mellem indtag af 0-1 genstande dagligt (å 10 gram alkohol) og ændret adfærd hos fostret, fosterdød, for tidlig fødsel samt forsinket psykomotorisk udvikling. Ved 1-2 daglige genstande bliver alvorlige skader sandsynlige (18,19). Det er altså en vis sandsynlighed for, at no-effekt-niveauet (NOAEL) ligger et sted mellem 0,5-1,5 genstande dagligt (5-15 g/alkohol/dagligt). Næste trin i risikovurderin-

gen vurderer, hvad gravide kvinder kan tåle at drikke, hvis der samtidig skal være minimal sandsynlighed for, at fostret tager skade. Det gøres ved at dividere NOAEL med en eller flere usikkerhedsfaktorer, som tommelfingerregel i størrelsen 10 (27). I dette tilfælde er det relevant at benytte i hvert tilfælde én usikkerhedsfaktor på 10, fordi der hersker usikkerhed i forhold til at fastlægge det "sande" no-effekt-niveau (NOAEL) (27,28). Så henstår at dividere NOAEL-værdien på 5 til 15 g/alkohol om dagen med usikkerhedsfaktoren på 10. Resultatet bliver, at gravide kvinder kan drikke 0,5-1,5 g alkohol om dagen. Det svarer til 0,04-0,12 danske genstande - altså mellem en slurk og en ottendedel pilsner.

Nogen vil argumentere for at tilføje yderligere usikkerhedsfaktorer. Der er tradition for at man benytter højere usikkerhedsfaktorer, når effekter har med det ufødte barn at gøre, end når det gælder effekter på den voksne. I arbejdsmiljøet er man f.eks. meget konservative i brugen af usikkerhedsfaktorer, men gør undtagelser, når der er mistanke om effekter på det ufødte barn (29). En yderligere usikkerhedsfaktor kunne også tilføjes på baggrund af, at nogle fostre er mere følsomme end andre (27,28). Herimod kan man anføre, at de børn, der udviser påvirkning i epidemiologiske undersøgelser, netop må have tilhørt gruppen af "følsomme fostre". På den anden side er det også muligt, at mødre i risikogruppen er underrepræsenterede i fødselskohorter (30), hvilket vil tale for at tage hensyn til følsomme fostre, f.eks. ved brug af ekstra usikkerhedsfaktorer. Sidst er det et spørgsmål, om no-effekt-niveauet (NOAEL) virkelig ligger ved 0,5-1,5 genstande dagligt. En nylig dansk undersøgelse i den nationale fødselskohorte (Bedre Sundhed for Mor og Barn) viser nemlig, at 2-4 genstande om ugen forøgede risikoen for spontan abort med 50 %. Allerede ved 0,5-1,5 ugentlige genstande var der indikationer på øget risiko for abort (31).

Diskussion

Sammenfattende giver det stort set ingen forskel, om man benytter forsigtighedsprincippet eller søger at kvantificere et "sikkert" forbrug

af alkohol for gravide. Et problem i diskussionen af anbefalinger for alkohol og graviditet er, at alkohol i store dele af den vestlige verden indgår i sociale sammenhænge, nydelse og afslapning. Hos visse grupper af voksne gavner små mængder alkohol desuden helbredet, om end det ikke anslås at gælde for kvinder i den fødedygtige alder (16). Fostret har heller ikke gavn af moderens indtag af alkohol. Hertil kommer, at mens skadelige effekter hos voksne i nogen grad er reversible, er skaderne hos fostret ofte irreversible (28).

Det er interessant, at en simpel kvantificering kun ændrede minimalt ved anbefalinger, der baserede sig på forsigtighedsprincippet. Det er også interessant, at gravide kvinders alkoholforbrug ikke ændrede sig væsentligt, da Sundhedsstyrelsen ændrede retningslinjer i 1998 (32). Så måske er diskussionen mere akademisk end praktisk. Epidemiologiske studier kan måske ikke fastlægge præcis, hvor grænsen går mellem uskadeligt og skadeligt indtag af alkohol under graviditeten. Det kan skyldes metodologiske omstændigheder ved udførelsen af befolkningsundersøgelser - eller at grænsen ligger tæt på nul-niveauet. Hos voksne mennesker viser eksperimenter, at alkohol påvirker hjernens funktion allerede ved en (akut) promille på 0,2 (f.eks. visuel og kognitiv funktion, reaktionsevne) (33), svarende til ½-1 genstand. Akutte effekter er også set hos fostre, der undertrykte deres naturlige åndedrætsbevægelser, når deres mor indtog en drink (18). Men - vi mangler altså stadig at fastslå, om en tilsvarende påvirkning lader milliarder af hjerneceller dele sig uhindret hos det ufødte barn.

Artiklen er inspireret af Louise Poulsens bacheloropgave i medicin, skrevet på Københavns Universitet under vejledning af ekstern lektor Karin Sørig Hougaard.

Yderligere information

Karin Sørig Hougaard

e-mail: ksh@arbejdsmiljoforskning.dk

Referencer

1. Lemoine P, Haronsseau H, Borteyru JP, Menuet JC. *Les Enfants De Parents Alcooliques: Anomalies Observées à Propos De 127 Cas.* Ouest Med 1968;21:482.
2. Randall CL. *Alcohol and Pregnancy: Highlights From Three Decades of Research.* J Stud Alcohol 2001;62:554-61.
3. Jones KL, Smith DW. *Recognition of the Fetal Alcohol Syndrome in Early Infancy.* Lancet 1973;2:999-1001.
4. Sundhedsstyrelsen. *Anbefalinger for svangreomsorgen.* 1-239. 2009. København, Sundhedsstyrelsen.
5. Greenbaum R, Nulman I, Rovet J, Koren G. *The Toronto Experience in Diagnosing Alcohol-Related Neurodevelopmental Disorder: a Unique Profile of Deficits and Assets.* Can J Clin Pharmacol 2002;9:215-25.
6. Sundhedsstyrelsen. *Graviditet og alkohol.* 15. 1999. København, Sundhedsstyrelsen. Forebyggelse og sundhedsfremme.
7. Abel EL, Hannigan JH. *Maternal Risk Factors in Fetal Alcohol Syndrome: Provocative and Permissive Influences.* Neurotoxicol Teratol 1995;17:445-62.
8. Ismail S, Buckley S, Budacki R, Jabbar A, Gallicano GI. *Screening, Diagnosing and Prevention of Fetal Alcohol Syndrome: Is This Syndrome Treatable?* Dev Neurosci 2010;3: 91-100.
9. Alfonso-Loeches, Guerri C. *Molecular and Behavioral Aspects of the Actions of Alcohol on the Adult and Developing Brain.* Crit Rev Clin Lab Sci 2011;48:19-47.
10. Hoyme HE, May PA, Kalberg WO, Kodituwakku P, Gossage JP, Trujillo PM, Buckley DG, Miller JH, Aragon AS, Khaole N, Viljoen DL, Jones KL, Robinson LK. *A Practical Clinical Approach to Diagnosis of Fetal Alcohol Spectrum Disorders: Clarification of the 1996 Institute of Medicine Criteria.* Pediatrics 2005;115:39-47.
11. May PA, Fiorentino D, Coriale G, Kalberg WO, Hoyme HE, Aragon AS, Buckley D, Stellavato C, Gossage JP, Robinson LK, Jones KL, Manning M, Ceccanti M. *Prevalence of*

-
- Children With Severe Fetal Alcohol Spectrum Disorders in Communities Near Rome, Italy: New Estimated Rates Are Higher Than Previous Estimates.* Int J Environ Res Public Health 2011;8:2331-51.
12. Veghelyi PV. *Fetal Abnormality and Maternal Ethanol Metabolism.* Lancet 1983;2: 53-4.
 13. Henriksen TB, Hjollund NH, Jensen TK, Bonde JP, Andersson AM, Kolstad H, Ernst E, Giwercman A, Skakkebaek NE, Olsen J. *Alcohol Consumption at the Time of Conception and Spontaneous Abortion.* Am J Epidemiol 2004;160:661-7.
 14. Rossi BV, Berry KF, Hornstein MD, Cramer DW, Ehrlich S, Missmer SA. *Effect of Alcohol Consumption on in Vitro Fertilization.* Obstet Gynecol 2011;117:136-42.
 15. Burd L, Roberts D, Olson M, Odendaal H. *Ethanol and the Placenta: A Review.* J Matern Fetal Neonatal Med 2007;20:361-75.
 16. Sundhedsstyrelsen. *Alkohol og helbred.* 1-65. 2008. København, Sundhedsstyrelsen.
 17. Strandberg-Larsen K, Grønbaek M. *Notat vedrørende alkohol og graviditet.* Notat til Sundhedsstyrelsen september 2006. 1-3. 2006. København, Sundhedsstyrelsen.
 18. Health Council of the Netherlands. *Risico's van alcoholgebruik bij conceptie, zwangerschap en borstvoeding.* 1-150. 2005. Den Haag, Health Council of the Netherlands.
 19. Sosial- og Helsedirektoratet. *Alkohol og graviditet. Hvad er farligt for fosteret? Hvordan forebygge og behandle?* Rapport fra en ekspertgruppe. 1-112. 2005. Oslo, Social- og Helsedirektoratet.
 20. Sundhedsstyrelsen. *Sundhedsstyrelsens nye udmelding vedrørende alkohol.* 2010.
 21. Henderson J, Gray R, Brocklehurst P. *Systematic Review of Effects of Low-Moderate Prenatal Alcohol Exposure on Pregnancy Outcome.* BJOG 2007;114:243-52.
 22. Folketingets EU-oplysning. *Leksikon: Forsigtighedsprincippet.* 2012. Folketingets EU-oplysning. www.euoplysningen.dk
 23. *United States Environmental Protection Agency Guidelines for Developmental Toxicity Risk Assessment.* Fed Regist 1991;56:63798-826.
 24. Iversen LL, Kesmodel PS. *Graviditet Og Alkohol.* Stofbladet 2010:16.
 25. Kesmodel US, Kesmodel PS, Iversen LL. *Lack of Consensus Between General Practitioners and Official Guidelines on Alcohol Abstinence During Pregnancy.* Dan Med Bull 2011;58:A4327.
 26. Kesmodel PS, Iversen LL, Kesmodel US. *Alkohol i Graviditeten: Holdninger, Viden Og Informationspraksis Blandt Jordemødre 2000-2009.* Tidsskrift for Jordemødre 2011;1:12-6.
 27. Falk-Filipsson A, Hanberg A, Victorin K, Warholm M, Wallen M. *Assessment Factors--Applications in Health Risk Assessment of Chemicals.* Environ Res 2007;104:108-27.
 28. Nielsen E, Thorup I, Schnipper A, Hass U, Meyer O, Ladefoged O, Larsen JC, Østergaard G. *Children and the unborn child. Exposure and susceptibility to chemical substances - an evaluation.* 589:1-117. 2001. København, Miljøstyrelsen. Environmental project.
 29. Fairhurst S. *The Uncertainty Factor in the Setting of Occupational Exposure Standards.* Ann Occup Hyg 1995;39:375-85.
 30. Jacobsen TN, Nohr EA, Frydenberg M. *Selection by Socioeconomic Factors into the Danish National Birth Cohort.* Eur J Epidemiol 2010;25:349-55.
 31. Andersen AM, Andersen PK, Olsen J, Grønbaek M, Strandberg-Larsen K. *Moderate Alcohol Intake During Pregnancy and Risk of Fetal Death.* Int J Epidemiol 2012.
 32. Andersen A-M N, Olsen J, Grønbaek MN. *Har Sundhedsstyrelsens Ændrede Retningslinier Om Alkohol i Graviditeten Ændret Gravide Kvinders Alkoholforbrug?* Ugeskr læger 2001;163:1561-5.
 33. Moskovitz H, Fiorentino D. *A review on the scientific literature regarding the effects of alcohol on driving related behavior at blood alcohol concentrations at 0.08 grams per deciliter and lower.* 1-56. 2000. Washington, D.C., U.S. Department of transportation.
-

Høj saltindtagelse og risiko for bronkitis - et ti-års opfølgningstudie i Copenhagen Male Study.

Af Poul Suadicani, Hans Ole Hein og Finn Gyntelberg

Baggrund

En række tidligere undersøgelser har vist, at en høj indtagelse af salt er forbundet med en øget forekomst af symptomer i form af astma og andre symptomer fra bronkierne. Ingen af de tidligere studier har dog været forløbsstudier, der specifikt har undersøgt om høj saltindtagelse kunne være prædiktivt for sygdommen kronisk bronkitis (1).

I Copenhagen Male Study (CMS) har vi i en nylig forløbsundersøgelse fundet, at kronisk bronkitis er en selvstændig risikofaktor for lungekræft (2). Ved starttidspunktet for denne forløbsundersøgelse angav mænd med bronkitis dobbelt så hyppigt, at de indtog mere salt end andre. Denne observation fik os til at se nærmere på de data, vi havde til rådighed i CMS, med henblik på at finde ud af, om en høj saltpræference kunne være en selvstændig risikofaktor for senere kronisk bronkitis. Der fandtes faktisk tilgængelige data i CMS-databasen, som ville tillade analyser, der kunne fortolkes som et "naturligt eksperiment".

Kort fortalt er CMS en lukket forløbsundersøgelse af 5.249 mænd, som ved undersøgelsens start i 1970-71 var 40-59 år gamle med en gennemsnitsalder på 48 år. Alle var ansat på større københavnske arbejdspladser. Disse mænd er blevet genundersøgt med samme metode året efter i 1971-72, med spørgeskema i 1976, og med en omfattende klinisk-epidemiologisk undersøgelse i 1985-86. Siden er der foretaget opfølgning ved hjælp af danske registre.

Ved spørgeskemaundersøgelsen i 1976 indhentes oplysninger om deltagernes egen opfattelse af deres forbrug af salt samt om bronkitissymptomer. Andre relevante oplysninger angik rygevaner og udsættelse for støv og dampe i

arbejdet. I 1985-86 indhentes oplysninger om de samme forhold. Derfor er det muligt at analysere, om mænd med vedvarende høj saltindtagelse havde hyppigere forekomst af kronisk bronkitis i 1985-86 end mænd, der ved begge undersøgelser angav, at de havde et saltforbrug som alle andre. Endelig var det muligt at analysere forekomsten af kronisk bronkitis hos mænd, der havde skiftet saltvaner i den ene eller anden retning.

Materiale og metode

Detaljerne er beskrevet i originalartiklen (3), og her skal blot angives, at af de 3.387 mænd, der deltog i 1985-86 undersøgelsen, havde 2.870 mænd deltaget i spørgeskemaundersøgelsen i 1976. I begge disse undersøgelser var de blevet spurgt, om de mente, at de havde en større præference for salt i deres kost and andre, og tillige besvarede de en række standardiserede spørgsmål, som er egnede til at diagnosticere tilstedeværelse af kronisk bronkitis hos deltagerne. Der blev anvendt en let modificeret udgave af British Medical Councils spørgeskema vedrørende luftvejssymptomer. Ved 1985-86 undersøgelsen var der foretaget peak-flowmåling. Gennemsnitsværdierne med standard deviation (SD) herfor hos de 155 mænd med kronisk bronkitis var 413 (124) l/min. og 503 (88) l/min. hos de øvrige 2.028 mænd. Ved begge undersøgelser var der tilgængelige oplysninger om andre kendte risikofaktorer for sygdommen kronisk bronkitis, såsom rygevaner, regelmæssig indtagelse af alkohol og udsættelse for dampe og støv i arbejdet.

Resultater

En sammenligning mellem mænd med angivet højt saltforbrug og de øvrige ved undersøgelse-

sens *starttidspunkt 1976* viste kun små statistisk signifikante forskelle. "Saltspiserne" røg lidt mere, de havde været lidt mere udsat for røg og dampe i arbejdet, og de drak lidt mere alkohol. Om end alle tre forskelle skulle tendere til en højere forekomst af bronkitis var forskellene meget beskedne. Således var andelen af mænd, der nogensinde havde røget 75 % blandt "saltspiserne" mod 66 % blandt de øvrige. "Saltspiserne" havde lidt flere bronkittissymptomer.

Ved *undersøgelsen i 1985-86* fandtes et lignende mønster i forskelle mellem "saltspiserne" og andre, blot var forskellene mere udtalte, hvad angik udsættelse for støv og dampe i arbejdet: 34 % versus 20 %, men lidt mindre forskelle sås i alkoholvaner. Blandt "saltspiserne" var der en klart højere forekomst af mænd med kronisk bronkitis 34 % mod 23 % ($p < 0,01$). Da der var forskelle mellem "saltspiserne" og de øvrige vedrørende faktorer, som er risikofaktorer for kronisk bronkitis, var det nødvendigt at foretage supplerende multivariable analyser.

Vi foretog en prospektiv analyse 1976-1986, som udelukkende omfattede de mænd, som ikke havde symptomer på bronkitis i 1976 ($n=2.183$). Deres saltindtagelse i 1976 indgik i analysen.

I denne gruppe, som var uden luftvejssymptomer i 1976, kunne risikofaktorer for kronisk bronkitis i 1985-86 rangordnes efter statistisk styrke. Analysen viste følgende: odds ratio (95 % sikkerhedsgrænser) var for rygning i 1976 versus ikke rygning: 2,6 (1,7-3,8); udsættelse for støv/dampe på arbejdspladsen versus ikke: 1,9 (1,3-2,8); høj saltindtagelse versus ikke: 1,6 (1,1-2,3). Alle forskelle var signifikante: $p < 0,009$.

Tabel 1 viser forekomsten af kronisk bronkitis i 1985-86 i relation til saltindtagelse, både i 1976 og i 1985-86, blandt alle de mænd, som ikke havde symptomer på kronisk bronkitis i 1976. Øverst i tabellen vises resultatet for hele gruppen, nederst resultatet for de, der angav

rygning i både 1976 og i 1985-86. Både i hele gruppen og blandt de, der var rygere ved begge undersøgelser, sås en klart højere forekomst af mænd med kronisk bronkitis blandt de mænd, der havde haft et lavt saltforbrug i 1976, men et højt i 1985-86, og blandt de mænd, der angav et højt saltforbrug ved begge undersøgelser. Blandt de mænd, der angav et højt saltforbrug i 1976, men et lavt i 1985-86, var forekomsten (incidensen) af kronisk bronkit på samme niveau og ikke signifikant højere end blandt de mænd, der angav et lavt saltforbrug ved begge undersøgelser. For de mænd, som angav at indtage mere salt end andre, både i 1976 og i 1985-86, var forekomsten af kronisk bronkitis ca. tre gange højere end blandt de, der angav et ikke højt saltforbrug ved begge undersøgelser. Denne observation gjaldt for hele gruppen, og tillige for rygerne. Saltpræference som risikofaktor for kronisk bronkitis modificeredes kun ubetydeligt i de multivariable analyser.

Diskussion

I en ti-års forløbsundersøgelse kunne der observeres en tre gange øget risiko for kronisk bronkitis ved høj saltindtagelse, selv når der blev taget højde for de væsentligste andre risikofaktorer for kronisk bronkitis. Observationen taler for, at der er en årsagssammenhæng mellem høj saltindtagelse og opståen af kronisk bronkitis. En yderligere støtte for denne tolkning af undersøgelsens fund kan hentes i den eksisterende videnskabelige litteratur vedrørende inflammation (betændelse) i bronkiernes slimhinde, som er gennemgået i en review-artikel af Mickleborough og Fogarty (1). Dyreforsøg har vist, at indgivelse af større saltmængder til forsøgsdyr påvirker leukotrienmetabolismen, der er en vigtig del af de små bronkiers evne til at trække sig sammen i forbindelse med ydre påvirkninger - den såkaldte bronkiale reaktivitet (4). Også i eksperimentelle studier på mennesker har man vist, at personer, der blev sat på en diæt med højt saltindhold, fik en kraftigere betændelsesreaktion i bronkierne ved motion end personer på en diæt med lille saltindhold (5).

Tabel 1. Prospektiv analyse 1976-1986 af de mænd, der i 1976 *ikke* havde lungesyntomer, der kunne tyde på bronkitis, n=2.183, i forhold til selvvrurderet saltindtagelse i 1976 og 1985-6 og rygevaner. Der præsenteres resultater af multipel logistisk regressionsanalyser med forskellige justeringskriterier (forced entry modeller). Efter (3).

Alle mændene, n=2.183	Selvvrurderet saltindtagelse i henholdsvis 1976 og 1986			
	Lavt/Lavt	Højt/Lavt	Lavt/Højt	Højt/Højt
N	1582	333	63	176
Incidens af kronisk bronkitis, %	5,8 %	7,2 %	14,3 %	15,9 %
Odds ratio, justeret for:				
1) alder	1 ^a	1,25(0,78-1,99)	2,81(1,34-5,88)**	3,08(1,95-4,86)***
2) + rygning 1976	1 ^a	1,19(0,74-1,90)	2,89(1,37-6,10)**	2,76(1,74-4,39)***
3) + erhvervsmæssig støveksposering.	1 ^a	1,19(0,74-1,92)	3,02(1,41-6,45)**	2,85(1,78-4,55)***
4) + social klasse	1 ^a	1,21(0,75-1,95)	3,15(1,47-6,77)**	2,84(1,77-4,53)***

Rygere i både 1976 og 1985-6, n=984	Selvvrurderet saltindtagelse i henholdsvis 1976 og 1986			
	Lavt/Lavt	Højt/Lavt	Lavt/Højt	Højt/Højt
N	683	161	29	111
Incidens af kronisk bronkitis, %	8,8 %	9,3 %	20,7 %	21,6 %
Odds ratio, justeret for:				
1) alder	1 ^a	1,08(0,59-1,96)	3,03(1,18-7,83)*	2,92(1,73-4,94)***
2) + erhvervsmæssig støveksposering	1 ^a	1,03(0,56-1,89)	2,96(1,14-7,71)*	2,97(1,74-5,06)***
3) + social klasse	1 ^a	1,05(0,57-1,92)	3,02(1,16-7,89)*	2,97(1,74-5,07)***

^a: referencegruppe *: p<0,05; **:p<0,01; ***:p<0,001

I litteraturgennemgangen af sammenhængen mellem saltindtagelse og astma foretaget af Mickleborough og Fogarty (1) konkluderede de, at både epidemiologiske og eksperimentelle studier tyder på, at astmasygdommen forværres ved stor saltindtagelse og at hurtig forbedring indtræffer ved blot få ugers diæt med lav saltindtagelse. Ved både astma og kronisk bronkitis er der en betændelsestilstand i bronkierne, hvorfor det kan synes biologisk plausibelt, at salt har betydning ved begge disse sygdomme. Den fundne sammenhæng mellem selvrappor- teret høj saltindtagelse og øget risiko for udvikling af senere kronisk bronkitis forekommer overraskende, idet den anvendte metode til at

bedømme deltagernes saltindtagelse er meget grov. Når man selv ved anvendelse af en meget grov metode til bedømmelse af en påvirkningsfaktor alligevel finder en ret stærk statistisk sammenhæng i et observationsstudie, må man ud fra en teoretisk overvejelse antage, at den virkelige sammenhæng er endnu stærkere.

Konklusion og perspektiv

Resultaterne af den her refererede undersøgelse kunne tyde på, at en kost med lavt saltindhold kan være med til at forebygge kronisk bronkitis. En pragmatisk klinisk følge kunne

være at spørge patienter med kronisk bronkitis om deres saltvaner og at oplyse dem om, at det næppe kan skade dem at indtage mindre salt i kosten.

Yderligere information:

Poul Suadicani

e-mail: psua0001@bbh.regionh.dk

Referencer

1. Mickleborough TD, Fogarty A. *Dietary sodium intake and asthma: an epidemiological and clinical review*. Int J Clin Pract 2006;60(12): 1616-24.
2. Suadicani P, Hein HO, Gyntelberg F. *ABO phenotypes and inflammation-related predictors of lung cancer mortality: the Copenhagen Male Study - a 16-year follow-up*. Eur Respir J 2007;30(1):13-20.
3. Suadicani P, Hein HO, Gyntelberg F. *High salt intake and risk of chronic bronchitis: The Copenhagen Male Study – A 10-year followup*. ISRN Pulmonology 2011: doi:10.5402/2011/257979:1-6.
4. Mickleborough TD, Gotshall RW, Rhodes J, Tucker A, Cordain L. *Elevating dietary salt exacerbates hyperpnea-induced airway obstruction in guinea pigs*. J Appl Physiol 2001;91(3):1061-6.
5. Mickleborough TD, Lindley MR, Ray S. *Dietary salt, airway inflammation, and diffusion capacity in exercise-induced asthma*. Med Sci Sports Exerc 2005;37(6):904-14.

Kan overvægtige mænd forbedre deres sædkvalitet ved vægttab?

Af Linn Berger Håkonsen¹ og Cecilia Høst Ramlau-Hansen^{1,2}

Baggrund

På globalt plan har der i de seneste årtier været en kraftig stigning i forekomsten af overvægt (1), og sammenhængen mellem overvægt og fertilitet har fået stadig større opmærksomhed. Det er velkendt, at overvægtige kvinder har større risiko for nedsat fertilitet end normalvægtige kvinder (2,3), hvorimod de reproduktive konsekvenser af overvægt hos mænd er et nyere fokusområde, hvor evidensen er sparsom.

Den eksisterende forskning på området peger i retning af, at overvægt blandt mænd er associeret med nedsat fertilitet (2,4,5). Flere studier viser en sammenhæng mellem højt body mass index (BMI) og nedsatte sædparametre (6-15), dog er der andre, der ikke kan dokumentere en sådan sammenhæng (16-22). Fælles for sædkvalitetsstudierne er, at de er tværsnitstudier, hvor mål for overvægt og sædkvalitet måles samtidig, og dermed er det usikkert, om overvægten er årsag til nedsat sædkvalitet, eller om overvægt og nedsat sædkvalitet af andre grunde optræder samtidigt. Der kan således ikke ud fra den foreliggende videnskabelige litteratur drages entydige konklusioner om overvægts betydning for sædkvaliteten.

I denne artikel præsenteres resultater fra et follow-up studie med prospektivt indsamlede data fra et vægttabsprogram, som er, så vidt vides, det første publicerede longitudinale studie på dette område. Studiet er et pilotstudie, hvor hovedformålet var at undersøge, hvorvidt sædkvalitet forbedres hos overvægtige mænd

ved vægttab. Vi undersøgte også ændringer i kønshormoner, men i denne artikel vil fokus være på sædkvaliteten. Studiet blev publiceret i august 2011 i tidsskriftet *Reproductive Health* (23) og her kan den fulde artikel samt resultater læses.

Metode

Studiepopulation og dataindsamling

Dataindsamlingen foregik fra 2006 til 2009, hvor vi rekrutterede svært overvægtige mænd, der deltog i et frivilligt vægttabsprogram på Ebeltoft Kurcenter. Vægttabsprogrammet forløb over ca. 14 uger og var baseret på kostændring og daglig motion. Studiet inkluderede en undersøgelse ved vægttabsprogrammets start (baseline) samt en undersøgelse ved endt vægttabsprogram (follow-up). Ved begge undersøgelser blev deltagerne bedt om at aflevere en sædprøve, fik taget en blodprøve og besvarede spørgeskemaer om blandt andet livsstil og helbred samt spørgsmål relateret til opsamling af sædprøven. I løbet af dataindsamlingen blev 107 mænd over 18 år med BMI over 35 kg/m² inviteret til at deltage i studiet. I alt deltog 44 (41 %) ved baseline, og heraf mødte 27 mænd (61 %) op ved follow-up efter endt vægttabsprogram.

Analyse af sædprøver og blodprøver

Mændene opsamlede en sædprøve ved masturbation i en plastikbeholder. Mændene var forinden blevet opfordret til seksuel afholdenhed mindst 48 timer op til prøvetagningen. Sædprøverne blev undersøgt efter Verdenssundhedsorganisationen WHO's retningslinjer (24) for sædvolumen, sædcellekonzentration, det totale antal sædceller og sædcellemotilitet (bevægelighed). Sædcellemorfologi (udseende) blev bestemt som beskrevet af Kruger *et al.* (25). Derudover blev sædcellernes kromatin

¹ Arbejdsmedicinsk klinik, Aarhus Universitetshospital, Aarhus Sygehus

² Afdeling for Folkesundhed, Aarhus Universitet

struktur bestemt vha. flowcytometrisk analyse, kaldet Sperm Chromatin Structure Assay (SCSA), tidligere beskrevet af Evenson *et al.* (26). Resultatet af SCSA analysen angives som DNA fragmentation index (DFI), der er et mål for, hvor stor procentdel af sædcellerne der har brud i deres kromosomstreng.

Mændene fik taget blodprøver til bestemmelse af serumkoncentrationer af følgende hormoner: testosteron, østrogen, luteiniserende hormon (LH), folikkelstimulerende hormon (FSH), sex hormone-binding globulin (SHBG), inhibin B og anti-müllerisk hormon (AMH).

Statistiske metoder

Studiet blev opdelt i to delstudier: dels et tværsnitstudie, hvor vi undersøgte sammenhængen mellem BMI og hhv. sædkvalitet og kønshormonstatus ved baseline og dels et follow-up studie, hvor vi undersøgte sammenhænge mellem vægtændring og ændring i hhv. sædkvalitet og kønshormonstatus i samme periode.

I **tværsnitstudiet** blev de 44 mænd kategoriseret i tre lige store grupper efter deres BMI ved baseline; Gruppe 1: 33,3 til 41,6 kg/m² (n = 13), Gruppe 2: 41,7 til 46,08 kg/m² (n = 13) og Gruppe 3: 46,1 til 60,9 kg/m² (n = 14).

Sammenhængen mellem mændenes BMI og de nævnte sædkarakteristika blev undersøgt ved regressionsanalyser under hensyntagen til andre risikofaktorer for nedsat sædkvalitet, såkaldte potentielle confoundere. På forhånd blev disse identificeret, og de inkluderede var følgende; alder, rygning, tidligere sygdom i reproduktionsorganerne, årstid for opsamling af sædprøven, seksuel abstinensid og spild ved opsamling af sædprøven. I analyserne af sædcellernes motilitet (bevægelighed) blev der endvidere taget hensyn til antal minutter fra ejakulation til analyse. I de statistiske analyser af sædvolumen og det totale antal sædceller ekskluderede vi mænd, der rapporterede spild ved opsamling af sædprøven.

I **follow-up studiet** deltog 27 mænd, og vi inddelte mændene i tre lige store grupper på bag-

grund af deres vægttab i procent; Gruppe I: 3,5 til 12,1 % (n = 9), Gruppe II: 12,2 til 17,1 % (n = 9) og Gruppe III: 17,2 til 25,4 % (n = 9). Forskellene i sædkarakteristika fra baseline til follow-up blev beregnet ved at subtrahere follow-up-prøven fra baseline-prøven, og en positiv difference er således en stigning i parameteren fra baseline til follow-up. Vi undersøgte sammenhængen mellem mændenes vægttab og ændringerne i sædkarakteristika. I disse analyser tog vi højde for faktorer, der kunne ændre sig i løbet af vægttabsperioden, og vi inkluderede derfor ændring i rygestatus, ændring i årstid for opsamling af sædprøven, ændring i spild ved opsamling af sædprøven samt ændring i abstinensid. Ligesom i tværsnitstudiet blev de mænd, der havde spildt ved opsamling af sædprøven, ekskluderet i analyserne af difference i sædvolumen og det totale antal sædceller.

Resultater

Tværsnitstudie

De deltagende mænd var mellem 20 og 59 år (median = 32 år). Ved baseline rangerede BMI fra 33 til 61 kg/m² (median = 44 kg/m²), og alle mænd var dermed svært overvægtige. I tabel 1 vises resultaterne for sammenhængen mellem mændenes BMI og deres sædkvalitet ved baseline. Der ses, at både sædcellekoncentrationen, det totale antal sædceller samt procenttallet af sædceller med normal morfologi var lavere, jo højere BMI var (p for trend < 0,05). Gruppen af mænd med det højeste BMI havde 71 % (95 % confidence interval (CI): -6, 92) lavere sædcellekoncentration og 68 % (95 % CI: 14, 88) lavere total antal sædceller end gruppen af mænd med det laveste BMI. Resultaterne tydede endvidere på, at DFI var højere ved højere niveauer af BMI, dog ikke med statistisk signifikans.

Vi observerede desuden en statistisk signifikant sammenhæng mellem overvægt og hhv. lave niveauer af testosteron og høje niveauer af østrogen, hvilket er karakteristisk for svært overvægtige mænd (data vises ikke her).

Tabel 1. Sædkarakteristika ved baseline i forhold til body mass index (BMI).

Parameter	Body mass index (BMI), kg/m ²			Test for trend*
	33,3 – 41,6 (n = 13) [#]	41,7 – 46,08 (n = 14) [#]	46,1 – 60,9 (n = 14) [#]	P-værdi
Sædcellekoncentration (millioner/ml)				
Median (p25, 75)	54 (25, 102)	24 (4, 55)	19 (8, 33)	0,03
Justeret og tilbagetransformeret median (95 % CI) ^{a, b, d}	18 (3, 111)	4 (1, 28)	5 (1, 39)	0,02
Sædvolumen (ml)				
Median (p25, 75)	2,9 (2,2, 4,0)	3,5 (2,2, 5,8)	3,3 (2,4, 4,0)	0,92
Justeret og tilbagetransformeret median (95 % CI) ^{a, b, c, d, e}	1,7 (0,8, 3,5)	2,6 (1,3, 5,4)	1,7 (0,7, 4,1)	0,74
Total antal sædceller (millioner)				
Median (p25, 75)	209 (62, 230)	93 (11, 204)	46 (22, 76)	0,03
Justeret og tilbagetransformeret median (95 % CI) ^{a, c}	70 (32, 156)	31 (11, 90)	23 (9, 56)	0,02
Procent med normal morfologi (%)				
Median (p25, 75)	9 (6, 11)	5 (2, 13)	5 (1, 9)	0,28
Justeret og tilbagetransformeret median (95 % CI) ^{a, c, d, e}	10 (0, 244)	7 (0, 103)	2 (0, 61)	0,04
Procent motile sædceller (%)				
Median (p25, 75)	73 (64, 77)	57 (43, 71)	55 (40, 67)	0,06
Justeret og tilbagetransformeret (95 % CI) ^g	59 (21, 163)	46 (16, 132)	19 (7, 51)	0,005
DNA fragmentation index, DFI (%)				
Median (p25, 75)	10 (7, 18)	16 (12, 32)	18 (12, 23)	0,23
Justeret og tilbagetransformeret (95 % CI) ^{a, b, d, e, f}	9 (4, 19)	12 (6, 25)	10 (4, 24)	0,70

P: percentil, CI: confidence interval/sikkerhedsinterval

* Trends blev testet vha. Spearman's rank correlation test (medianer) og i den multiple lineære regressionsanalyse med BMI som kontinuert variabel.

#Dette antal deltagere (n) relaterer til sædkoncentrationen. Antallet i grupperne for de følgende udfaldsparametre var: sædvolumen n=13, n=8, n=9; total antal sædceller n=13, n=7, n=10; procent med normal morfologi n=12, n=14, n=14; procent motile sædceller n=13, n=14, n=14 and DFI n=11, n=14, n=14.

Der er justeret for følgende i regressionsanalyserne: seksuel abstinens (a), rygning (b), sæson for opsamling af sædprøven (c), tidligere sygdomme i de reproduktive organer (d), alder (e), spild ved opsamling af sædprøven (f) og minutter fra ejakulation til sædanalysens start (g).

Follow-up studie

Efter vægttabsprogrammet var det opnåede væggtab mellem 4 og 39 kg (median væggtab = 22 kg) og mændene havde således tabt 3,5 – 25,4 % af deres vægt ved baseline (median procent væggtab = 15 %). I tabel 2 fremgår resultaterne for sammenhængen mellem mændenes væggtab i procent og ændringerne i sædkvaliteten. Ændring i sædvolumen samt det totale antal sædceller var positivt associeret med væggtabet. Vi observerede desuden, at

gruppen af mænd med det største væggtab havde statistisk signifikant stigning i både det totale antal sædceller og procent sædceller med normal morfologi. Vi fandt ingen ændring i DFI.

Ændringer i hormonparametrene gennemgås ikke detaljeret. Blot kan nævnes, at vi fandt en forbedring i testosteron, dog således at medianen stadig lå under normalniveauet.

Tabel 2. Ændringer i sædkarakteristika i forhold til vægttab i procent.

Gennemsnit (95 % CI) i ændringer i sædkarakteristika	Vægttab i procent (%)			Test for trend*
	3,50 – 12,14 (n = 9 [#])	12,23 – 17,15 (n = 9 [#])	17,16 – 25,44 (n = 9 [#])	P-value
Sædcellekonzentration (millioner/mL) ^{a, c, d}	-11 (-49, 27)	19 (-23, 61)	17 (-24, 58)	0,33
Sædvolumen (ml) ^c	-1,0 (-2,3, 0,3)	1,5 (-0,4, 3,5)	1,3 (-0,9, 3,4)	0,04
Total antal sædceller (millioner) ^{a, c}	-41 (-147, 65)	232 (77, 387)	193 (45, 341)	0,02
Procent med normal morfologi (%) ^{a, b, c}	0 (-2, 4)	1 (-3, 4)	4 (1, 7)	0,16
Procent motile sædceller (%) ^{a, c, d, e}	-2 (-15, 11)	4 (-10, 18)	11 (-3, 25)	0,22
DFI (%) ^{a, b, c, d}	7 (-2, 17)	-1 (-11, 9)	0 (-10, 10)	0,96

CI: confidence interval/sikkerhedsinterval

* Trends blev testet vha. Spearman's rank correlation test (medianer) og i den multiple lineære regressionsanalyse med BMI som kontinuert variabel.

#Dette antal deltagere (n) relaterer til sædkonzentrationen. Antallet i grupperne for de følgende udfaldsparametre var: sædvolumen n=7, n=4, n=4; det totale antal sædceller n=6, n=4, n=4; Procent med normal morfologi n=9, n=9, n=9; procent motile sædceller n=8, n=9, n=9, DFI n=8, n=9, n=9.

Der er justeret for følgende i regressionsanalyserne: forskelle i sæson i de to prøvetagninger (a), forskel i rygestatus i de to prøvetagninger (b), forskel i abstinensetid i de to prøvetagninger (c), forskel i spild ved opsamling af sædprøven i de to prøvetagninger (d) og forskel i minutter fra ejakulation til analysens start i de to prøvetagninger (e).

Diskussion

Med dette pilotstudie ønskede vi at undersøge, om overvægtige mænd kan forbedre deres sædkvalitet ved vægttab. Resultaterne fra vægttabsprogrammet viser, at vægttab var associeret med en stigning i det totale antal sædceller og sædvolumen, og at sædkvaliteten var lavere, jo højere BMI mændene havde ved baseline.

Flere tidligere studier har undersøgt sammenhængen mellem BMI og sædkvalitet, og på trods af modstridende resultater (16-22) viser flertallet af disse studier lav sædcellekonzentration blandt overvægtige mænd (6-15). Det er veletableret, at overvægtige mænd har en ændret kønshormonprofil karakteriseret ved lave niveauer af testosteron og høje niveauer af østrogen (27). Hormonet testosteron styrer sædcelleproduktionen, og balancen af kønshormoner er derfor meget vigtig for en normal sædkvalitet. Tidligere studier har vist, at over-

vægtige mænd kan forbedre deres kønshormonbalance ved vægttab (28,29), hvilket vi også observerer blandt disse mænd, og vi finder det derfor biologisk plausibelt, at sædkvaliteten kan forbedres som følge af en forbedring i kønshormonerne.

Vores resultater indikerer, at det er muligt at forbedre sædkvaliteten ved vægttab, men vi kan ikke sige, om dette skyldes selve vægtreduktionen eller ændringer i livsstil med en sundere kost og mere motion. Vores resultater står alene, idet dette er det første studie af sin art. Den største svaghed ved studiet er det lave antal deltagere, hvilket medfører brede sikkerhedsintervaller, og resultaterne er således behæftede med stor statistisk usikkerhed. Sammenhængen bør undersøges nærmere i studier med et større antal deltagere, før man kan udtale sig med større sikkerhed om, hvorvidt overvægtige mænd kan forbedre sædkvaliteten ved vægttab.

Studiet er finansieret af bevillinger fra Det Sundhedsvidenskabelige Fakultet, Aarhus Universitet, Klinisk institut, Aarhus Universitet og Region Midtjyllands Sundhedsvidenskabelige Forskningsfond.

Yderligere information:

Linn Berger Håkonsen

e-mail: linnhaak@rm.dk

Referencer

1. Haslam DW, James WP. *Obesity*. Lancet 2005;366(9492):1197-209.
2. Ramlau-Hansen CH, Thulstrup AM, Nohr EA, Bonde JP, Sorensen TIA, Olsen J. *Subfecundity in overweight and obese couples*. Hum Reprod 2007;22(6):1634-7.
3. Pasquali R. *Obesity, fat distribution and infertility*. Maturitas 2006;54(4):363-71.
4. Sallmen M, Sandler DP, Hoppin JA, Blair A, Baird DD. *Reduced fertility among overweight and obese men*. Epidemiology 2006;17(5):520-3.
5. Nguyen RH, Wilcox AJ, Skjaerven R, Baird DD. *Men's body mass index and infertility*. Hum Reprod 2007;22(9):2488-93.
6. Jensen TK, Andersson AM, Jorgensen N, Andersen AG, Carlsen E, Petersen JH et al. *Body mass index in relation to semen quality and reproductive hormones among 1,558 Danish men*. Fertil Steril 2004;82(4):863-70.
7. Fejes I, Koloszar S, Szollosi J, Zavaczki Z, Pal A. *Is semen quality affected by male body fat distribution?* Andrologia 2005;37(5):155-9.
8. Magnusdottir EV, Thorsteinsson T, Thorsteinsdottir S, Heimisdottir M, Olafsdottir K. *Persistent organochlorines, sedentary occupation, obesity and human male sub-fertility*. Hum Reprod 2005;20(1):208-15.
9. Koloszar S, Fejes I, Zavaczki Z, Daru J, Szollosi J, Pal A. *Effect of body weight on sperm concentration in normozoospermic males*. Arch Androl 2005;51(4):299-304.
10. Fejes I, Koloszar S, Zavaczki Z, Daru J, Szollosi J, Pal A. *Effect of body weight on testosterone/estradiol ratio in oligozoospermic patients*. Arch Androl 2006;52(2):97-102.
11. Kort HI, Massey JB, Elsner CW, Mitchell-Leef D, Shapiro DB, Witt MA et al. *Impact of body mass index values on sperm quantity and quality*. J Androl 2006;27(3):450-2.
12. Hammoud AO, Wilde N, Gibson M, Parks A, Carrell DT, Meikle AW. *Male obesity and alteration in sperm parameters*. Fertil Steril 2008;90(6):2222-5.
13. Stewart TM, Liu DY, Garrett C, Jorgensen N, Brown EH, Baker HW. *Associations between andrological measures, hormones and semen quality in fertile Australian men: inverse relationship between obesity and sperm output*. Hum Reprod 2009;24(7):1561-8.
14. Chavarro JE, Toth TL, Wright DL, Meeker JD, Hauser R. *Body mass index in relation to semen quality, sperm DNA integrity, and serum reproductive hormone levels among men attending an infertility clinic*. Fertil Steril 2010;93(7):2222-31.
15. Hofny ERM, Ali ME, bdel-Hafez HZ, Kamal EE-D, Mohamed EE, bd El-Azeem HG et al. *Semen parameters and hormonal profile in obese fertile and infertile males*. Fertil Steril 2010;94(2):581-4.
16. Qin DD, Yuan W, Zhou WJ, Cui YQ, Wu JQ, Gao ES. *Do reproductive hormones explain the association between body mass index and semen quality?* Asian J Androl 2007;9(6):827-34.
17. Aggerholm AS, Thulstrup AM, Toft G, Ramlau-Hansen CH, Bonde JP. *Is overweight a risk factor for reduced semen quality and altered serum sex hormone profile?* Fertil Steril 2008;90(3):619-26.
18. Pauli EM, Legro RS, Demers LM, Kunselman AR, Dodson WC, Lee PA. *Diminished paternity and gonadal function with increasing obesity in men*. Fertil Steril 2008;90(2):346-51.
19. Ramlau-Hansen CH, Hansen M, Jensen CR, Olsen J, Bonde JP, Thulstrup AM. *Semen quality and reproductive hormones according to birthweight and body mass index in childhood and adult life: two decades of follow-up*. Fertil Steril 2010;94(2):610-8.

-
20. Wise LA, Rothman KJ, Mikkelsen EM, Sorensen HT, Riis A, Hatch EE. *An internet-based prospective study of body size and time-to-pregnancy*. Hum Reprod 2010;25(1):253-64.
 21. Martini AC, Tissera A, Estofñn D, Molina RI, Mangeaud A, de Cuneo MF et al. *Overweight and seminal quality: a study of 794 patients*. Fertil Steril 2010;94(5):1739-43.
 22. MacDonald AA, Herbison GP, Showell M, Farquhar CM. *The impact of body mass index on semen parameters and reproductive hormones in human males: a systematic review with meta-analysis*. Hum Reprod Update 2010;16(3):293-311.
 23. Håkonsen LB, Thulstrup AM, Skaerbeck AA, Olsen J, Bonde JP, Yding AC et al. *Does weight loss improve semen quality and reproductive hormones? Results from a cohort of severely obese men*. Reprod Health 2011;8(1):24.
 24. WHO (2000) *WHO Manual for the Standardised Investigation, Diagnosis and Management of the Infertile Male*. Cambridge University Press, Cambridge.
 25. Kruger TF, Acosta AA, Simmons KF, Swanson RJ, Matta JF, Oehninger S. *Predictive value of abnormal sperm morphology in in vitro fertilization*. Fertil Steril 1988;49(1):112-7.
 26. Evenson DP, Larson KL, Jost LK. *Sperm chromatin structure assay: its clinical use for detecting sperm DNA fragmentation in male infertility and comparisons with other techniques*. J Androl 2002;23(1):25-43.
 27. Pasquali R. *Obesity and androgens: facts and perspectives*. Fertil Steril 2006;85(5):1319-40.
 28. Stanik S, Dornfeld LP, Maxwell MH, Viosca SP, Korenman SG. *The effect of weight loss on reproductive hormones in obese men*. J Clin Endocrinol Metab 1981;53(4):828-32.
 29. Niskanen L, Laaksonen DE, Punnonen K, Mustajoki P, Kaukua J, Rissanen A. *Changes in sex hormone-binding globulin and testosterone during weight loss and weight maintenance in abdominally obese men with the metabolic syndrome*. Diabetes Obes Metab 2004;6(3):208-15

”NANOKEM”- Nanopartikler i farve og lakindustrien - eksponering og toksiske effekter.

Af Anne Thoustrup Saber¹, Keld Alstrup Jensen¹, Karin Sørig Hougaard¹, Søren Thor Larsen¹, Ismo Kalevi Koponen¹, Niclas Raun Jacobsen¹, Lone Mikkelsen², Martin Roursgaard², Peter Møller², Steffen Loft², Frank Leck Fotel³, Håkan Wallin^{1,2} og Ulla Vogel^{1,4}

Baggrund og formål

Nanoteknologi er en hurtigt voksende gren af dansk erhvervsliv. Danmark er med i front i udviklingen og den kommercielle udnyttelse af nanoteknologi og produkter, hvori der indgår nanoskala-komponenter. Det er derfor vigtigt, at vi også er på forkant med at forebygge eventuelle sundhedsmæssige effekter af utilsigtet udsættelse for nanopartikler og nanopartikelholdige materialer.

Nanoteknologi kan potentielt anvendes i et stort antal processer og produkter, og der er et stort behov for viden om eksponeringer og eventuelle sundhedsmæssige risici. Farve- og lakindustrien anvender allerede nanopartikler i relativt store mængder, og industrien forventer en vækst i anvendelsen af nye nanopartikler de kommende år. Vi fokuserede derfor i projektet NANOKEM på farve- og lakindustrien⁵, så forskningsresultaterne hurtigt kunne opnå praktisk anvendelse og medvirke til at sikre et godt kemisk arbejdsmiljø.

Projektets overordnede formål var at identificere og karakterisere de kritiske led i vurderingen af eksponering og risiko ved udsættelse for nanopartikler i farve- og lakindustrien. Projektet er gennemført i samarbejde med farve- og lakindustriens parter.

Projektet omfattede 4 delprojekter med hvert deres formål:

1. Vurdering af eksponeringsrisiko ved håndtering af nanopartikler og slibning på maling og lak, der indeholdt nanopartikler.
2. Fysisk/kemisk karakterisering af nanopartikler, der anvendes i farver og lak, samt slibestøv fra nanopartikelholdig maling og lak.
3. Toksiske effekter af udvalgte nanopartikler, der anvendes i farver og lak, samt slibestøv fra disse produkter. Projektet bestod af 5 underprojekter:
 - 3.1 Translokation fra lunger til kredsløb
 - 3.2 Kræftfremkaldende effekter
 - 3.3 Effekter på hjerte-kar-systemet
 - 3.4 Fosterskadende effekter
 - 3.5 Allergiforstærkende effekter
4. Udvikling af en model til risikovurdering af nanopartikler, som anvendes eller forventes anvendt i farvelak-industrien de kommende år.

Metoder

Forsøgsdesign

I samarbejde med Dansk Farve- og Limindustri udvalgte vi nanopartikler, som er relevante at anvende i maling, lak og spartelmasse. Dansk

¹ Det Nationale Forskningscenter for Arbejdsmiljø

² Institut for Folkesundhed, Afdeling for Miljø og Sundhed, Københavns Universitet

³ DHI

⁴ DTU Nanotech, Danmarks Tekniske Universitet

⁵ Da projektet startede hed brancheforeningen ”Danmarks Farve- og Lakindustri”. Foreningen skiftede imidlertid navn til ”Danmarks Farve- og Limindustri” undervejs i projektet. Vi har derfor valgt at referere til branchen ved anvendelse af dens nuværende navn, men valgt at bevare det oprindelige navn i titlen på artiklen.

Tabel 1. Oversigt over de testede produkter.

Referencemaling/lak ^{a)}	Nanopartikelholdig maling/lak ^{a)}	Nanopartikel ^{b)}
PVA vægmaling	PVA vægmaling med FinTiO ₂ (10 %)	Fin TiO ₂ : RDI-S
PVA vægmaling	PVA vægmaling med fotokatalytisk TiO ₂ (10 %)	Fotokatalytisk TiO ₂ : TiO ₂ W2730X
PVA vægmaling	PVA vægmaling med kaolin (15 %)	Kaolin: ASP-G90
Grunder	Grunder med akrylpolymeren axilat	Axilat: Axilat LS5000
Indendørs akrylmaling	Indendørs akrylmaling med NanoTiO ₂ (10 %)	NanoTiO ₂ : UV-Titan L181
Indendørs akrylmaling	Indendørs akrylmaling med carbon black (2,5 %)	Carbon black: Flammruss 101
Udendørs akrylmaling	Udendørs akrylmaling med NanoSiO ₂ (10 %)	NanoSiO ₂ : Bindzil 30CC
UV-lak	UV-lak med nanosiliciumdioxid	Nanosiliciumdioxid

- a) Malinger og lakker blev testet i form af slibestøv fremkommet ved slibning af træplader behandlet med de nævnte produkter. Eneste undtagelse er grunderne, som blev testet som suspensioner.
 b) Der findes yderligere information om nanopartiklerne i tabel 2.

Farve- og Limindustri fremstillede fem forskellige produkttyper. Det drejede sig om en polyvinylacetat (PVA) vægmaling, en akrylmaling til indendørs brug, en akrylmaling til udendørs brug, en lak og en spartelmasse. Vi testede produkter uden nanopartikler og tilsvarende produkter med forskellige tilsætninger af nanopartikler. Produkterne blev leveret i én udgave uden nanopartikler samt mindst én udgave tilsat en relevant nanopartikel. Tabel 1 giver en oversigt over de testede produkter. PVA-malingen blev f.eks. leveret i en udgave uden nanopartikler samt tre udgaver med forskellige nanopartikler tilsat. I alt testede vi tretten forskellige malinger og lakker. De forskellige produkter blev påført træplader. Efter tørring og hærkning blev vi pladerne og analyserede frigivelsen af partikler ved slibning. Desuden opsamlede vi slibestøv fra hvert enkelt produkt, så det var muligt at teste støvprøvernes skadelige effekter i mus og cellekulturer. I forsøgene blev den rene kulnanopartikel Printex 90 inkluderet, fordi denne partikeltype er velundersøgt og derfor fungerer som referencepartikel for undersøgelsen.

Resultater og diskussion

1. Eksponeringsrisiko

Risikoen for nanopartikeleksponering blev vurderet ved forskellige metoder. Støvafrigivelsen fra de nanopartikulære pulvere blev vurde-

ret ved hjælp af støvningstest. Vi fandt store forskelle på støvningsindekset mellem de forskellige produkter: F.eks. havde ét nano titaniumdioxid (TiO₂) materiale (UV-Titan L181) et meget højt støvningsindeks, mens et andet TiO₂produkt i pigmentstørrelse (RDI-S) havde et lavt støvningsindeks (1) (tabel 2). Fra et risikoperspektiv viser resultaterne, at eksponeringsrisikoen varierer fra lav til høj ved håndtering af disse pulvere. Alle materialerne frigjorde meget fint støv i størrelsesordenen 100-500 nm. Man skal derfor være opmærksom på valg af ventilationsforhold og masketyper ved arbejde med nanomaterialer.

Reelle arbejdspladsmålinger af pulverhåndtering blev også foretaget på to farve/lakvirksomheder. Resultaterne viste, at man normalt tydeligt kan detektere en forøget koncentration af fint støv i luften omkring arbejdsprocesserne, når der hældes pulver i de mikserne, der blander malingerne. Personbårne målinger viste, at koncentration af fine støvpartikler under 1 µm (PM₁) i enkelte tilfælde var relativt høj (2).

Slibetestningen viste, at slibning af nogle nanopartikelholdige malinger gav anledning til forøget dannelse af partikler i nanostørrelse. Der var dog ingen overordnet systematik i, hvordan tilsætning af nanopartikler ændrede partikelfrigivelse ved slibning af de hærkede farve-lak-

Tabel 2. Overblik over de testede nanopartikler.

Produkt-navn	Kode	Fase	Coating	Gennem-snitlig krystalstørrelse (nm)	Primær partikelstørrelse (nm)	Specifikt overfladeareal (m ² /g)	Støvningsindex - single drop (mg/kg)
RDI-S	FinTiO ₂	100 % rutil ^{*)}	Al, Zr, polyalcohol	288	220	21	84±40
UV-Titan L181	NanoTiO ₂	100 % rutil	Si, Al, Zr, polyalcohol	21	17	108	6115±723
TiO ₂ W2730X	FotoTiO ₂	92 % anatase ^{*)} / 8 % rutil	Ikke bestemt	19 (rutil) 12 (anatase)	<100	Ikke bestemt	Ikke bestemt
ASP-G90	Kaolin	100 % kaolinit	Ikke bestemt	30 x 75	-	23	183±51
Bindzil 30CC	NanoSiO ₂	SiO _x	Ikke bestemt	Amorf	7	Ikke bestemt	Ikke bestemt
Axilat LS5000	Axilat	SiO ₂ akrylat	Ikke bestemt	Amorf	<50	Ikke bestemt	Ikke bestemt
Flamruss 101	FinCB	Carbon	Ikke bestemt	Ikke bestemt	95	24	484±60
Printex90	NanoCB	Carbon	Ikke bestemt	Ikke bestemt	14	295-338	Ikke bestemt

^{*)} Titaniumdioxid forekommer med forskellige krystalstrukturer, heriblandt rutil og anatase.

produkter (3,4). Det kan dog konkluderes, at anvendelse af elektrisk slibemaskine i disse undersøgelser var den største kilde til luftbårne partikler i nm-størrelse i forsøgene.

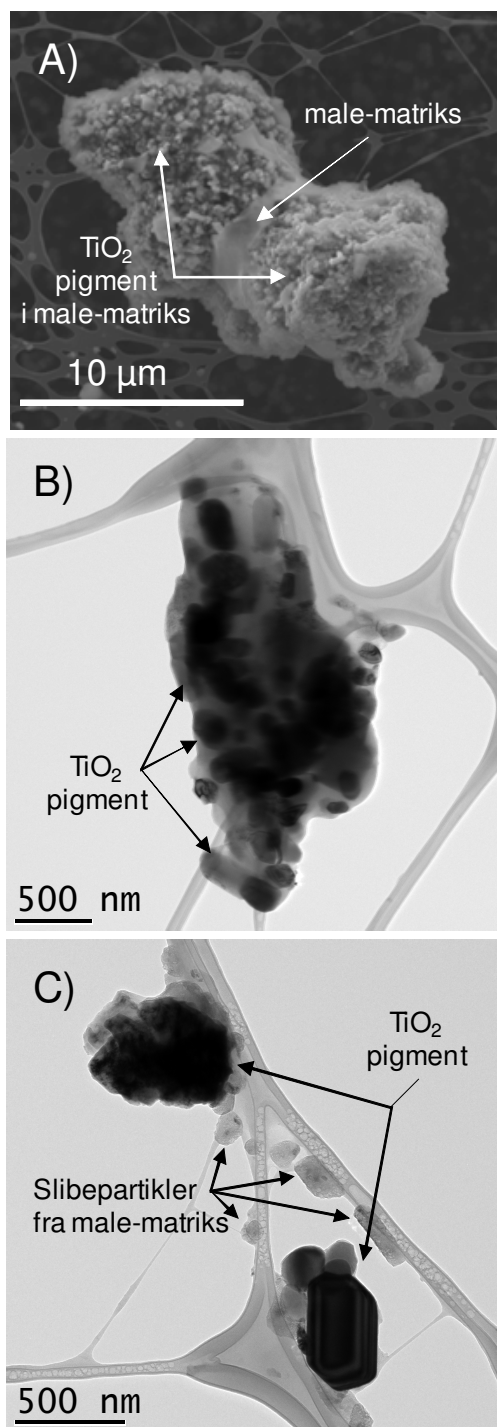
2. Fysisk-kemisk karakterisering

Forskellige partikelkarakteristika som specifikt overfladeareal, volumen og fase er blevet foreslået at have betydning for partiklers toksicitet. Derfor foretog vi i delprojekt 2 en omfattende karakterisering af partikler og støv ved hjælp af en række forskellige metoder til bestemmelse af specifikt overfladeareal (BET), fase, faseandele og krystalstørrelse (XRD), partikelform, generel størrelse, aggregerings- og agglomerationsgrad, in situ kemisk sammensætning (SEM,TEM), størrelsesfordeling i væske (DLS), grundstofkemisk sammensætning (XRF), hydroxyl-radikal-dannelsespotentiale mm. Disse karakteristika indgår som en vigtig komponent i karakteriseringen af materialerne og især i fortolkningen af, hvilke fysisk/kemiske egenskaber der forårsager de observerede

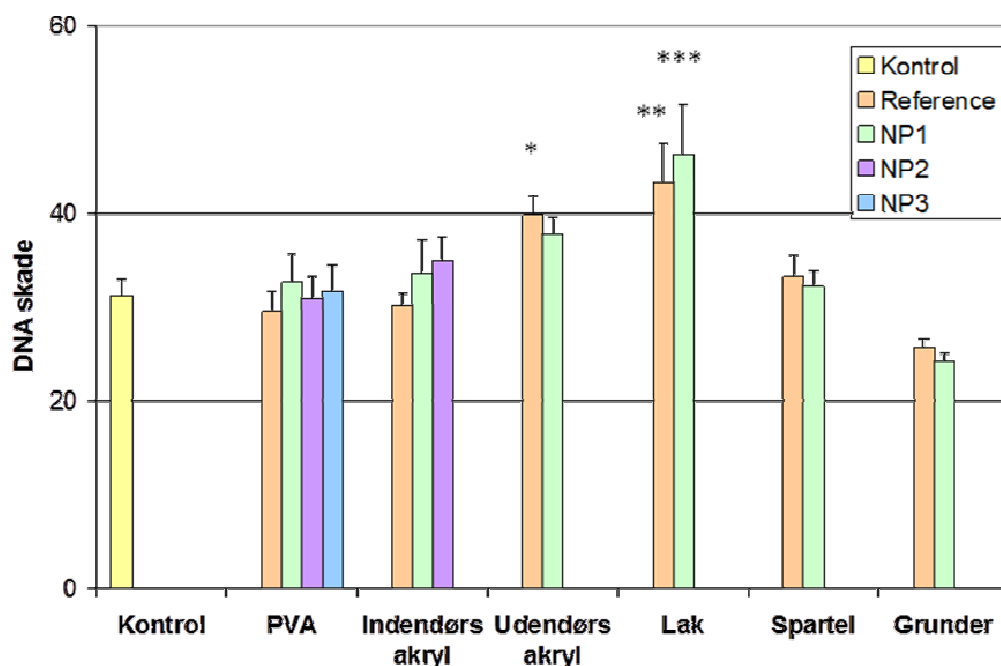
toksiske effekter. På figur 1 ses eksempler på elektronmikroskopibilleder af slibestøvs-partikler og i tabel 2 findes der en oversigt over den fysisk-kemiske karakterisering.

3. Toksiske effekter

Når der findes partikler i luften på arbejdspladsen, vil de blive indåndet. Hvor partiklerne deponeres i luftvejene afhænger af deres størrelse. De største partikler bliver opfanget i de øvre luftveje (bronkier og bronkioler). Her sørger det såkaldte mukociliære system for, at partiklerne bliver transporteret op i svælget igen, hvorefter de synkes. De mindste partikler (nanostørrelse) når helt ned i den dybeste del af lungerne, lungeblærene, hvor det mukociliære system ikke findes. I stedet fjernes partiklerne af makrofager, en celletype, som kan optage partiklerne ved fagocytose. Når der er mange partikler bliver makrofagernes kapacitet til at optage partiklerne imidlertid overskredet. Det kan resultere i, at partiklerne kan forblive i lang tid i lungerne (dage til år). Vi fandt, at 21 %



Figur 1. Elektronmikroskopibilleder med eksempler på slibestøvspartikler fra indendørs Acryl reference maling.
A) Skannings elektronmikroskopibillede, der viser en stor slibestøvspartikel domineret af TiO₂ pigment.
B) Transmission elektronmikroskopibillede, der viser en slibestøvspartikel af maling med TiO₂ pigment partikler indeni.
C) Transmission elektronmikroskopibillede frie sub-μm store TiO₂ pigmentpartikler og slibepartikler af male-matriksen i slibestøvet.



Figur 2. DNA skade i BAL celler fra mus 24 timer efter instillation af forskellige typer slibestøv. DNA skade er målt ved Cometmetoden.

*Statistisk signifikant forskellig fra kontrolmus, $p < 0.05$; **Statistisk signifikant forskellig fra kontrolmus, $p < 0.01$; ***Statistisk signifikant forskellig fra kontrolmus, $p < 0.001$.

Grunder: NP1 = Axilat; Spartel: NP1 = Noblit; Indendørs akryl: NP1 = NanoTiO₂; NP2 = FinCB; Lak: NP1 = NanoSiO₂; NP2 = PhotocatTiO₂; NP3 =Kaolin; Udendørs akryl: NP1 = NanoSiO₂-A; PVA: NP1 = FineTiO₂. Figuren er udført på baggrund af figur i (7).

af de nanoTiO₂ partikler, der blev deponeret i lungen på de eksponerede mus, stadig var til stede i lungerne efter 25 dage (5). I det studie svarede den dosis nanoTiO₂, som musene indåndede, nogenlunde til én arbejdsdag ved grænseværdien for TiO₂ i arbejdsmiljøet. Dette viser, at mennesker, som bliver udsat for nanopartikler i deres arbejdsmiljø i en koncentration svarende til grænseværdien, sandsynligvis har en øget risiko for at ophobe partikler i lungerne i løbet af deres arbejdsliv.

3.1 Translokation

Mus blev eksponeret for sølvpartikler for at vurdere om partiklerne var i stand til at translokere fra lungerne over i kredsløbet. Vi anvendte sølvpartikler som model for de anvendte partikler, eftersom sølv er meget elektrontæt og derfor kan detekteres ved elektronmikroskopi.

3.2 Inflammation og DNA-skadende effekter

Alle materialer (rene nanopartikler og slibestøv) blev testet for celletoksicitet *in vitro* i en lungecellelinie. Ingen af materialerne resulterede i alvorlig toksicitet. Det var derfor forsvarligt at fortsætte med testning af produkterne i mus. Det første dyreforsøg fungerede som en screening af alle rene nanopartikler og alle slibestøvsprøver. Den anvendte dosis var 54 µg pr. mus, og musene blev eksponeret ved at deponere støvet i lungerne under kortvarig bedøvelse. Denne dosis svarer til, hvad en mus ville indånde på halvanden arbejdsdag ved grænseværdien for inert støv ved 50 % deponering i luftvejene (som det forventes for partikler i nanostørrelse; deponeringsgraden er mindre for større partikler). Den relativt høje dosis var valgt for at kunne detektere også svage toksiske effekter. Vi fandt, at flere af de testede nanomaterialer med potentiel anvendelse i

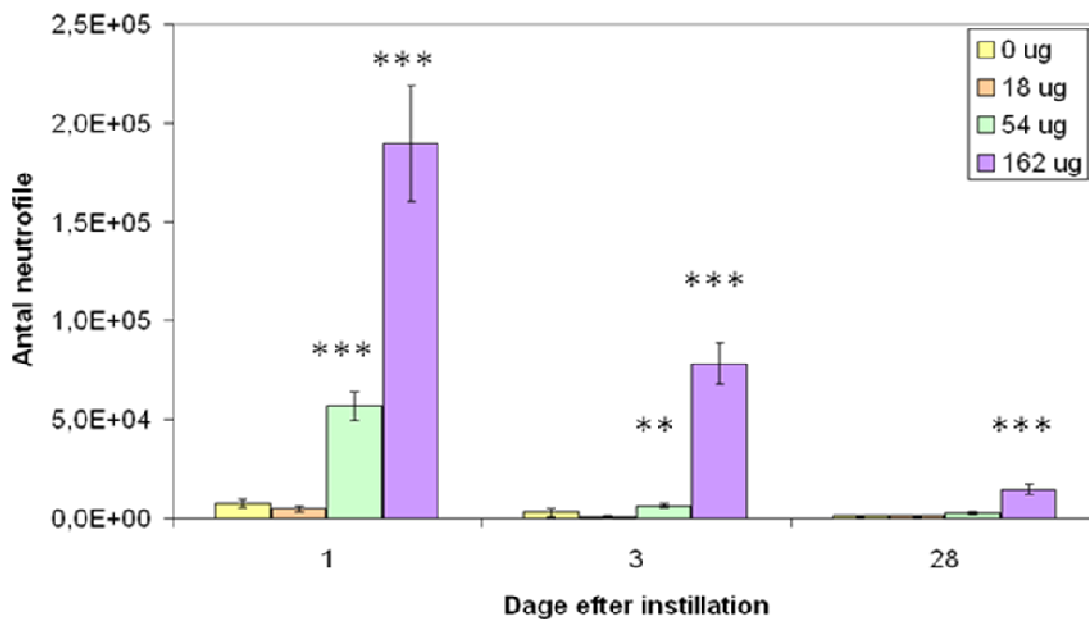
maling/lakker resulterede i et inflammatorisk respons i muselunger (en slags betændelsestilstand), og at den inflammatoriske reaktion korrelerede med partiklernes specifikke overfladeareal (6). To af nanomaterialerne medførte desuden et øget niveau af DNA-skade i form af strengbrud i celler isoleret ved skylning af lungerne (6). Måling af DNA-strengbrud er en meget følsom, men uspecifik, biomarkør for DNA-skadende effekter. Den forøgede mængde strengbrud viser, at der potentielt kan være en kræftfremkaldende effekt af partiklerne. Ved testning af slibestøv fandt vi, at slibestøv fra nanopartikelholdig maling ikke resulterer i mere inflammation og DNA-skade end støv fra konventionelle produkter. Til gengæld fandt vi, at typen af maling/lak er vigtigere end nanopartikeltypen, som tilsættes. Slibestøv fra de testede lakker forårsagede mere DNA-skade end PVA maling (7) (se figur 2). På baggrund af det første dyreforsøg valgte vi at udføre et nyt dyreforsøg for at teste sammenhængen mellem dosis og respons for en enkelt type nanopartikel samt for slibestøv fra den tilhørende maling, med og uden nanopartikel, for lungeinflammation og DNA-skade. Vi valgte at teste den nanoTiO₂, som resulterede i både lungeinflammation og DNA-skade (8). Figur 3 viser, at der var størst lungeinflammation efter første dag. Inflammationen tog af over tid, og efter 28 dage var der kun inflammation i mus, som havde fået den højeste dosis. Figur 4 viser, at der ikke var forskel på lungeinflammation i mus, som blev eksponeret for støv opsamlet ved slibning af plader malet med maling henholdsvis med og uden nanoTiO₂. Forsøgsdesignet gjorde det muligt at sammenligne effekten af nanoTiO₂ alene, og når denne var en del af en malematrice. Malingen indeholdt 10 % nanoTiO₂ og derfor svarede indholdet af nanoTiO₂ i 486 µg malestøv omtrent til 54 µg ren nanoTiO₂. Som det ses af figur 4, var nanoTiO₂ alene årsag til et meget større respons, end når nanoTiO₂ var indlejret i slibestøvet. I ovenstående undersøgelser blev DNA-skade undersøgt i celler isoleret ved skylning af lungerne. For at undersøge om DNA-skadende effekter også fandt sted i selve lungevævet og i levervæv målte vi DNA-strengbrud

og oksidative DNA-skader i lunge- og levervæv fra mus eksponeret for Printex 90 (carbon black). Vi fandt DNA-skade i både lunge- og levervæv ved en dosis, som svarer til den dosis, der ville deponeres hos mus i løbet af 8 timer ved den nuværende danske grænseværdi for carbon black i arbejdsmiljøet (9).

3.3 Hjerte-kar-systemet

Indånding af partikler fra luftforurening er associeret med risiko for hjerte-kar-sygdom. Man har troet, at en af årsagerne til sammenhængen mellem udsættelse for partikler og udvikling af hjerte-kar-sygdom er, at lungeinflammation forårsager syntese af akutfaseproteiner i leveren, selvom man ikke har kunnet finde konsistente sammenhænge mellem eksponering for partikelforurening og plasmaniveauer af akutfaseproteiner hos mennesker. Til gengæld er plasmaniveauer af akutfaseproteiner prospektive risikofaktorer for hjerte-kar-sygdom. Vi har i et tidligere studie vist, at indånding af nanopartikler ikke øger leverens akutfaserespons i mus (10). I delprojekt 3.3 viste vi, at akutfaserespons (serum amyloid A3, Saa3) i lungerne var voldsomt opreguleret i mus eksponeret for nanoTiO₂ (11). Dette tyder på, at akutfaseproteinet Saa3 er en potentiel biomarkør for nanopartikelinduceret hjerte-kar-sygdom.

En anden måde, som nanopartikler kan tænkes at påvirke hjerte-kar-systemet, er ved translokation fra lungerne og ud i kredsløbet, hvor partiklerne kan have en direkte effekt på blodkarrene. Blodkarrenes endothelceller spiller en afgørende rolle for opretholdelsen af en lang række vigtige karfunktioner, herunder afslapning ved tryk og flowpåvirkninger. Ekspresion af intracellulært adhæsionsmolekyle 1 (ICAM-1) og vaskulært celledhæsionsmolekyle 1 (VCAM-1) på membranen af endothelceller er et tidligt respons i åreforkalkning. I delprojekt 3.3 målte vi ekspresionen af ICAM-1 og VCAM-1 i endothelceller, som *in vitro* blev eksponeret for rene nanopartikler og slibestøv fra maling med og uden nanopartikler. Resultaterne viste, at rene nanopartikler havde større effekt end malestøv, og at der



Figur 3. Lungeinflammation i nano-TiO₂ eksponerede mus. Inflammation er afbildet som influx af neutrofile celler i lungerne 1, 3 og 28 dage efter intratrakeal instillation af nano-TiO₂.

*Statistisk signifikant forskellig fra kontrolmus, $p < 0.05$; **Statistisk signifikant forskellig fra kontrolmus, $p < 0.01$; ***Statistisk signifikant forskellig fra kontrolmus, $p < 0.001$.

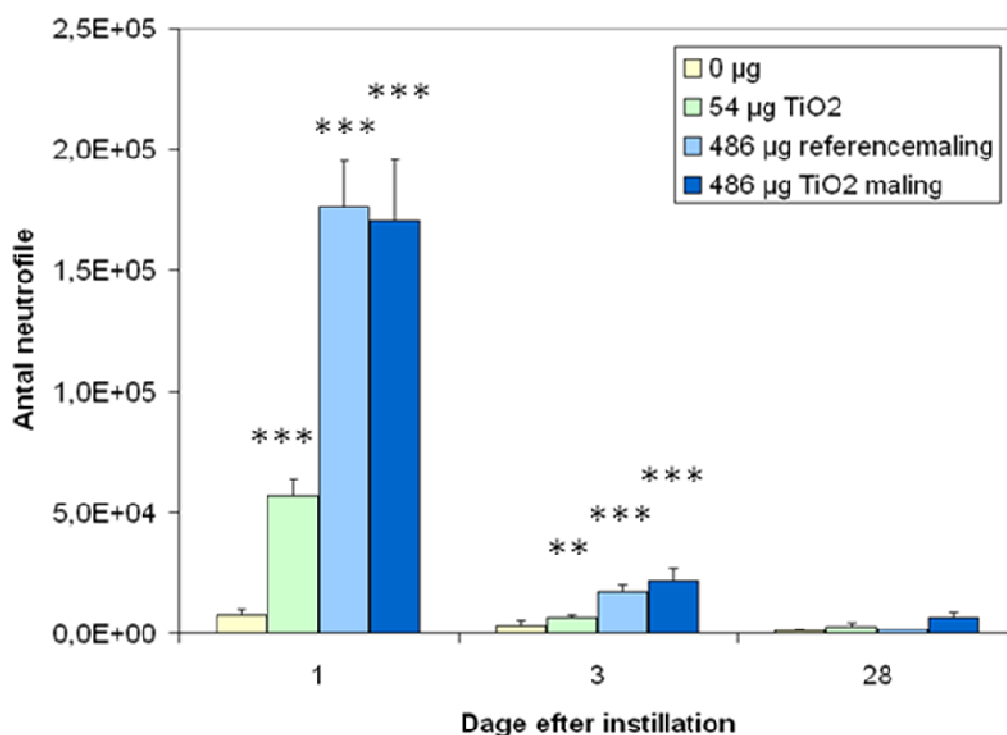
Figuren er udført på baggrund af figur i (8).

ikke var forskel på effekten af slibestøv fra maling med og uden nanotilsætning (12). Nanopartiklers effekt på blodkarrenes funktion og udviklingen af åreforkalkning efter eksponering via luftvejene blev undersøgt i en særlig type genetisk modificerede mus (ApoE^{-/-}mus), som udvikler åreforkalkning. Resultaterne viste, at gentagne eksponeringer for nanoTiO₂ var forbundet med en svag stigning i niveauet af åreforkalkning i mus (13). Den samme type af mus havde dog ingen klar forandring i evnen til vasodilatation ved farmakologisk påvirkning med forskellige karudvidende stoffer. En samlet gennemgang af resultaterne fra ovennævnte to studier findes desuden beskrevet i Lone Mikkelsens ph.d. afhandling (14).

3.4 Påvirkning af fertilitet og fosterudvikling

Dette delprojekt undersøgte effekterne efter lungeeksponering af drægtige mus af TiO₂-nanopartikler. I det første forsøg indåndede drægtige mus hver dag TiO₂ nanopartikler,

nogenlunde svarende en udsættelsen på en arbejdsdag ved den danske grænseværdi. 21 % af de nanoTiO₂-partikler, musene indåndede, blev genfundet i lungerne 25 dage efter eksponeringen sluttede. På dette tidspunkt var der også stadig tydelige tegn på inflammation i musenes lunger. Partiklerne påvirkede ikke fødselsvægt, drægtighedslængde og kuldstørrelse. Som unge voksne blev afkomets funktion af nervesystemet testet i en række adfærdstests, herunder generelt aktivitetsniveau, indlæring og hukommelse samt reaktion på meget høje lyde (reaktivitet). Afkom eksponeret under drægtigheden udviste moderate adfærdsmæssige forandringer. Aktivitetsniveauet blev undersøgt i open field testen. Her bliver dyrene sat ned i en "arena", og deres aktivitet bliver optaget i et tidsrum på 3 minutter. Kontrol dyr og eksponerede dyr bevægede sig lige langt i perioden. Analysen af dyrenes bevægelsesmønster viste imidlertid, at både eksponerede hunner og hanner holdt sig mere ud imod væggen af arenaen end kontroldyrene



Figur 4. Lungeinflammation i mus eksponeret for nano-TiO₂ og slibestøv fra maling med og uden nano-TiO₂. *Statistisk signifikant forskellig fra kontrolmus, p < 0.05; **Statistisk signifikant forskellig fra kontrolmus, p < 0.01; ***Statistisk signifikant forskellig fra kontrolmus, p < 0.001.

gjorde. Det eksponerede hunlige afkom viste desuden en lille forandring i reaktionen på høje lyde. Evnen til læring og hukommelse fandt vi ikke påvirket af moderens udsættelse for TiO₂-nanopartikler i drægtigheden (5).

3.5 Allergifremkaldende effekter

I et indledende forsøg blev sammenhængen for partikelinduceret inflammation undersøgt til forskellige tidspunkter for partikler i mikro- og nanostørrelse. Forsøget viste, at 16 timer efter eksponering var det optimale tidspunkt for at studere akutte effekter, mens 3 måneder efter eksponering var et godt tidspunkt for at observere vedvarende inflammation (15). Efter at have fastlagt det optimale tidspunkt samt bestemt gode markører for inflammation, blev forskellige partikler undersøgt for dosis-respons sammenhæng (16). Visse nanopartikler kan ændre eller forstærke den måde, hvorpå immunsystemet reagerer på allergifremkaldende proteiner (adjuvanseffekt). Vi viste, at

mus, der blev udsat for TiO₂-nanopartikler, udviklede et kraftigere allergirelateret immunrespons, når de blev udsat for allergener (17). Resultaterne for ovenstående studier er beskrevet yderligere i Martin Roursgaards ph.d. afhandling (18).

4. Risikovurdering

Formålet med denne arbejdsopgave var at udvikle en model for risikovurdering af nanopartikler, der kan anvendes i arbejdsmiljøet. Der er foretaget en omfattende litteratursøgning på risikovurdering af nanopartikler. En af de store udfordringer ved risikovurdering af nanopartikler er at beskrive dosis. Der er efterhånden konsensus om, at den traditionelle måde at beskrive dosis (mg/kg kropsvægt per dag) ikke er den mest relevante. Dosis skal snarere beskrives som overfladeareal af partiklerne/kg kropsvægt per dag. På den anden side opfører nanopartikler sig meget dynamisk, således at partikelstørrelse hele tiden ændrer sig som

følge af aggregering og opbrydning af partikler. Det betyder, at eksponeringen vil variere mellem forskellige testsystemer. Derfor er det svært at sammenligne effekter på tværs af forskellige testsystemer. I risikovurdering er målet at udlede den eksponering, der ikke vil give nogen uønsket effekt på arbejderen (Derived No Effect Level, DNEL). For at udlede DNEL skal der etableres dosis-responsrelationer fra *in vivo* data. *In vitro* data kan for nærværende ikke anvendes til at aflede DNEL, men kan anvendes til at identificere en mulig fare (risikoidentifikation). Ud fra de *in vivo* data, der blev genereret, er det forsøgt at aflede DNEL ved at følge REACH Guidance dokumenter. Alle forsøgsresultater fra alle arbejdsopgaver blev indsamlet og systematiseret for at give overblik. I et forsøg på at udnytte de opnåede resultater i *in vitro* forsøgene udvikledes et scorings-system for at rangordne eksperimentielle data på tværs af arbejdsopgaverne. Dette gav et tydeligt mønster, hvor den positive control, carbon black (printex 90), samt nano-TiO₂ opnåede de højeste scores, mens de andre partikler, der var testet, udviste langt mindre toksicitet. På baggrund af en fysisk-kemisk karakterisering af de anvendte partikler samt de opnåede eksperimentielle resultater blev partiklerne rangordnet i control-banding systemet, der er udviklet af Paik et al. (19).

Konklusioner og perspektiver

Nanopartikler bliver anvendt i maling, lak og spartelmasse, fordi det giver produkterne en række fordele, som f.eks. selvrensende egenskaber eller øget modstandsdygtighed mod ridser. Formålet med NANOKEM var at undersøge, hvordan det påvirker eksponeringen og sundhedsskadelige effekter at erstatte større partikler i maling, lak og spartelmasse med nanopartikler af samme kemikalie.

Mere information om NANOKEM og NanoSustain er tilgængelig på:

<http://www.arbejdsmiljoforskning.dk/da/projekter/nanopartikler-i-farve-og-lakindustrien---nanokem>
<http://www.arbejdsmiljoforskning.dk/da/projekter/development-of-sustainable-solutions-for-nanotechnology-based-products---nanosustain>
www.nanosustain.eu

Nanokem er støttet af Arbejdsmiljøforskningsfonden (2006-0068816). Denne artikel er del-

Vi har som nogle af de allerførste screenet for sundhedsskadelige effekter samt eksponering for slibestøv fra en række malinger med og uden nanotilsætning. Produkterne blev udvalgt i samarbejde med Danmarks Farve- og Limindustri og har dermed industriel relevans. Vores resultater viser, at erstatning af kemikalier med samme kemikalier i nanostørrelse kan give større risiko for eksponering pga. nanomaterialernes større støvningspotentiale. Derimod er der ikke øget frigørelse af nanopartikler ved slibning af produkter indeholdende nanopartikler sammenlignet med konventionelle produkter. Vi har vist, at indånding af nano-TiO₂ forårsager langvarig tilstedeværelse af TiO₂ i lungerne på mus samt langvarig inflammation. Vi har fundet, at en række af de rene nanopartikler forårsager inflammation og DNA-skade ved lungeeksponering. Nanopartikler i slibestøv har derimod meget mindre toksiske effekter.

Fremadrettede perspektiver:

Vores forskning i NANOKEM har været direkte årsag til, at vi på Det Nationale Forskningscenter for Arbejdsmiljø indgår som partner og er delprojektleder i EU-projektet NanoSustain. NanoSustain har til formål at foretage eksponerings- og toksikologiske undersøgelser af nanopartikler, som indgår i forskellige kompositmaterialer og matricer. I NanoSustain undersøges følgende produkter: maling med forskellige nanoTiO₂-tilsætninger, epoxy med og uden carbon nanotubes, glasplader behandlet med coating med og uden nanoZnO, og papir med og uden nanocellulose. Som i NANOKEM sammenlignes effekterne af de rene nanopartikler og nanopartiklerne, når de indgår i slibestøv eller coating. Desuden testes frigørelse af nanopartikler fra de forskellige materialer efter udsættelse for vejr og vind.

vist baseret på afslutningsrapporten til Arbejdsmiljøforskningsfonden (20).

Publikationer, som er udgivet på baggrund af resultater i NANOKEM:

Bourdon JA, Saber AT, Jacobsen NR, Jensen KA, Madsen AM, Lamson JS, Wallin H, Moller P, Loft S, Yauk CL, Vogel UB. *Carbon Black Nanoparticle Instillation Induces Sustained Inflammation and Genotoxicity in Mouse Lung and Liver*. Part Fibre Toxicol 2012;9:5-

Halappanavar S, Jackson P, Williams A, Jensen KA, Hougaard KS, Vogel U, Yauk CL, Wallin H. *Pulmonary response to surface-coated nanotitanium dioxide particles includes induction of acute phase response genes, inflammatory cascades, and changes in microRNAs: A toxicogenomic study*. Environ Mol Mutagen 2011;52:425-39 (doi: 10.1002/em.20639).

Hougaard KS, Jackson P, Jensen KA, Sloth JJ, Loschner K, Larsen EH, Birkedal RK, Vibenholt A, Boisen AM, Wallin H, Vogel U. *Effects of prenatal exposure to surface-coated nanosized titanium dioxide (UV-Titan). A study in mice*. Part Fibre Toxicol 2010;7:16-

Koponen IK, Jensen KA, Schneider T. *Sanding dust from nanoparticle-containing paints: physical characterisation*. J Phys: Conf Ser 2009;151:1-9.

Koponen IK, Jensen KA, Schneider T. *Comparison of dust released from sanding conventional and nanoparticle-doped wall and wood coatings*. J Expo Sci Environ Epidemiol 2011; 21:408-18.

Kristensen HV, Hansen SB, Holm GR, Jensen KA, Koponen IK, Saber AT, Nielsen SH, Wallin H. *Nanopartikler i arbejdsmiljøet*. Industriens Branchearbejdsmiljøråd, Branchearbejdsmiljørådet for Undervisning og forskning, Universitets- og bygningsstyrelsen 2010;1-116.

Larsen ST, Roursgaard M, Jensen KA, Nielsen GD. *Nano titanium dioxide particles promote allergic sensitization and lung inflammation in mice*. Basic Clin Pharmacol Toxicol 2010;106:114-7.

Mikkelsen L, Jensen KA, Koponen IK, Saber AT, Wallin H, Loft S, Vogel U, Møller P. *Cytotoxicity, oxidative stress and expression of adhesion molecules in human umbilical vein endothelial cells exposed to dust from paints with or without nanoparticles*. Nanotoxicology (DOI: 10.3109/17435390.2011.641604) 2011.

Mikkelsen L, Sheykhzade M, Jensen KA, Saber AT, Jacobsen NR, Vogel U, Wallin H, Loft S, Moller P. *Modest effect on plaque progression and vasodilatory function in atherosclerosis-prone mice exposed to nanosized TiO₂*. Part Fibre Toxicol 2011;8:32-

Mikkelsen L. *PhD thesis: Cardiovascular health effects of paint dust with and without nanoparticles compared to the primary nanoparticles*. 2010;1-74.

Roursgaard M, Poulsen SS, Poulsen LK, Hammer M, Jensen KA, Utsunomiya S, Ewing RC, Balic-Zunic T, Nielsen GD, Larsen ST. *Time-response relationship of nano and micro particle induced lung inflammation. Quartz as reference compound*. Hum Exp Toxicol 2010;29(11):915-33.

Roursgaard M, Jensen KA, Poulsen SS, Jensen NE, Poulsen LK, Hammer M, Nielsen GD, Larsen ST. *Acute and subchronic airway inflammation after intratracheal instillation of quartz and titanium dioxide agglomerates in mice*. ScientificWorldJournal 2011;11:801-25.

Roursgaard. *PhD thesis: Inflammatory effects of nanoparticles in lungs of mice*. 2009;1-57.

Saber AT, Jensen KA, Hougaard KS, Koponen IK, Larsen ST, Jacobsen NR, Birkedal RK, Fotel F, Roursgaard M, Mikkelsen L, Moller P, Loft S, Wallin H, Vogel U. *NANOKEM: Nanoparticles in the Paint and Lacquer Industry. Exposure and Toxic Properties*. Modern Polymeric Materials for Environmental Applications 2010;4:111-120.

Saber AT, Jensen KA, Jacobsen NR, Birkedal R, Mikkelsen L, Moller P, Loft S, Wallin H, Vogel U. *Inflammatory and genotoxic effects of nanoparticles designed for inclusion in paints and lacquers*. Nanotoxicology 2011; DOI: 10.3109/17435390.2011.587900

Saber AT, Koponen IK, Jensen KA, Jacobsen NR, Mikkelsen L, Moller P, Loft S, Vogel U, Wallin H. *Inflammatory and genotoxic effects of sanding dust generated from nanoparticle-containing paints and lacquers*. Nanotoxicology 2011; DOI: 10.3109/17435390.2011.620745

Saber AT, Jacobsen NR, Mortensen A, Szarek J, Jackson P, Madsen AM, Jensen KA, Koponen IK, Brunborg G, Gutzkow KB, Vogel U, Wallin H. *Nanotitanium dioxide toxicity in mouse lung is reduced in sanding dust from paint*. Part Fibre Toxicol 2012;9:4-

Saber AT, Wallin H, Vogel U. *NANOKEM, Nanopartikler i farve- og lakindustrien – eksponering og toksiske effekter*. Rapport til Arbejdsmiljøforskningsfonden. Rapport tilgængelig på:
<http://arbejdstilsynet.dk/da/om%20arbejdstilsynet/arbejdsmiljoforskningsfonden/afsluttede-projekter/forsknings-og-udviklingsprojekter.aspx>, 2011;1-29.

Yderligere information:

Anne Thoustrup Saber

e-mail: ats@arbejdsmiljoforskning.dk

Referencer

1. Saber AT, Jensen KA, Hougaard KS, Koponen IK, Larsen ST, Jacobsen NR, Birkedal RK, Fotel F, Roursgaard M, Mikkelsen L, Moller P, Loft S, Wallin H, Vogel U. *NANOKEM: Nanoparticles in the Paint and Lacquer Industry. Exposure and Toxic Properties*. Modern Polymeric Materials for Environmental Applications 2010;4:11-120.
2. Kristensen HV, Hansen SBHGR, Jensen KA, Koponen IK, Saber AT, Nielsen SH, Wallin H. *Nanopartikler i arbejdsmiljøet*. Industriens Branchearbejdsmiljøråd, Branchearbejdsmiljørådet for Undervisning og forskning, Universitets- og bygningsstyrelsen 2010;1-116.
3. Koponen IK, Jensen KA, Schneider T. *Sanding dust from nanoparticle-containing paints: physical characterisation*. J Phys: Conf Ser 2009;151:1-9.
4. Koponen IK, Jensen KA, Schneider T. *Comparison of dust released from sanding conventional and nanoparticle-doped wall and wood coatings*. J Expo Sci Environ Epidemiol 2011;21:408-18.
5. Hougaard KS, Jackson P, Jensen KA, Sloth JJ, Loschner K, Larsen EH, Birkedal RK, Vibenholt A, Boisen AM, Wallin H, Vogel U. *Effects of prenatal exposure to surface-coated nanosized titanium dioxide (UV-Titan). A study in mice*. Part Fibre Toxicol 2010;7:16.
6. Saber AT, Jensen KA, Jacobsen NR, Birkedal R, Mikkelsen L, Moller P, Loft S, Wallin H, Vogel U. *Inflammatory and genotoxic effects of nanoparticles designed for inclusion in paints and lacquers*. Nanotoxicology 2011; DOI: 10.3109/17435390.2011.587900:
7. Saber AT, Koponen IK, Jensen KA, Jacobsen NR, Mikkelsen L, Moller P, Loft S, Vogel U, Wallin H. *Inflammatory and genotoxic effects of sanding dust generated from nanoparticle-containing paints and lacquers*. Nanotoxicology 2011; DOI: 10.3109/17435390.2011.620745:
8. Saber AT, Jacobsen NR, Mortensen A, Szarek J, Jackson P, Madsen AM, Jensen KA, Koponen IK, Brunborg G, Gutzkow KB, Vogel U, Wallin H. *Nanotitanium dioxide toxicity in mouse lung is reduced in sanding dust from paint*. Part Fibre Toxicol 2012;9:4.
9. Bourdon JA, Saber AT, Jacobsen NR, Jensen KA, Madsen AM, Lamson JS, Wallin H, Moller P, Loft S, Yauk CL, Vogel UB. *Carbon Black Nanoparticle Instillation Induces Sustained Inflammation and Genotoxicity in Mouse Lung and Liver*. Part Fibre Toxicol 2012;9:5.
10. Saber AT, Halappanavar S, Folkmann JK, Bornholdt J, Boisen AM, Moller P, Williams A, Yauk C, Vogel U, Loft S, Wallin H. *Lack of acute phase response in the livers of mice exposed to diesel exhaust particles or carbon black by inhalation*. Part Fibre Toxicol 2009;6:12.
11. Halappanavar S, Jackson P, Williams A, Jensen KA, Hougaard KS, Vogel U, Yauk CL, Wallin H. *Pulmonary response to surface-coated nanotitanium dioxide particles includes induction of acute phase response genes, inflammatory cascades, and changes in microRNAs: A toxicogenomic study*. Environ Mol Mutagen 2011;52:425-39 (doi: 10.1002/em.20639).
12. Mikkelsen L, Jensen KA, Koponen IK, Saber AT, Wallin H, Loft S, Vogel U, Møller P. *Cytotoxicity, oxidative stress and expression of adhesion molecules in human umbilical vein endothelial cells exposed to dust from paints with or without nanoparticles*. Nanotoxicology (DOI: 10.3109/17435390.2011.641604) 2011;
13. Mikkelsen L, Sheykhzade M, Jensen KA, Saber AT, Jacobsen NR, Vogel U, Wallin H, Loft S, Moller P. *Modest effect on plaque progression and vasodilatory function in atherosclerosis-prone mice exposed to nano-sized TiO₂*. Part Fibre Toxicol 2011;8:32.
14. Mikkelsen L. *PhD thesis: Cardiovascular health effects of paint dust with and without nanoparticles compared to the primary nanoparticles*. 2010;1-74.

-
15. Roursgaard M, Poulsen SS, Poulsen LK, Hammer M, Jensen KA, Utsunomiya S, Ewing RC, Balic-Zunic T, Nielsen GD, Larsen ST. *Time-response relationship of nano and micro particle induced lung inflammation. Quartz as reference compound.* Hum Exp Toxicol 2010; 29(11):915-33.
 16. Roursgaard M, Jensen KA, Poulsen SS, Jensen NE, Poulsen LK, Hammer M, Nielsen GD, Larsen ST. *Acute and subchronic airway inflammation after intratracheal instillation of quartz and titanium dioxide agglomerates in mice.* ScientificWorldJournal 2011;11:801-25.
 17. Larsen ST, Roursgaard M, Jensen KA, Nielsen GD. *Nano titanium dioxide particles promote allergic sensitization and lung inflammation in mice.* Basic Clin Pharmacol Toxicol 2010;106:114-7.
 18. Roursgaard. *PhD thesis: Inflammatory effects of nanoparticles in lungs of mice.* 2009;1-57.
 19. Paik SY, Zalk DM, Swuste P. *Application of a pilot control banding tool for risk level assessment and control of nanoparticle exposures.* Ann Occup Hyg 2008;52: 419-28.
 20. Saber AT, Wallin H, Vogel U. *NANOKEM, Nanopartikler i farve- og lakindustrien – eksponering og toksiske effekter.* Rapport til Arbejds miljøforskningsfonden, 2011;1-29.

Udsættelse for nanopartikler i drægtighedsperioden og effekter på afkommet: resultater fra en dyremodel.

Af Petra Jackson^{1,2}, Ole Andersen², Keld A. Jensen¹, Håkan Wallin^{1,3}, Karin Sørig Hougaard¹ og Ulla Vogel^{1,4}

Baggrund

Partikulær luftforurening er vokset fra at være et lokalt og midlertidigt problem til at være et mere regionalt og tilbagevendende problem. Luftforurening er ydermere associeret med effekter på helbredet, såsom lungekræft, allergi, lungesygdomme og hjerte-kar-sygdom. Med nanoteknologiens udvikling og udbredelse er der opstået en ny kilde til eksponering for luftbårne partikler i nanostørrelse (1).

I årevis er store mængder af partikler i mikrostørrelse blevet anvendt i forbrugerprodukter, f.eks. ved fremstilling af maling. Bittesmå partikler med en diameter på mindre end 100 nm (nanopartikler) indgår nu også i produktion af både industri- og forbrugerprodukter uden forudgående risikovurdering, dvs. afklaring af eksponering og mulige toksiske effekter af nanopartikler i forhold til større partikler. Når man sammenligner nanopartikler med større partikler, så vil der for en given vægtenhed (masse) være et større antal nanopartikler. Nanopartiklerne vil også have et større samlet overfladeareal og en højere kemisk reaktivitet (2) (figur 1). I arbejdsmiljøet foregår eksponering for nanopartikler primært via indånding (3). Det er vist, at nogle, men langt fra alle, nanopartikler støver mere end større partikler af samme materiale (4). Faktisk opfører de mindste partikler sig snarere som en gas end som partikler. Det betyder, at potentialet for eksponering via inhalation er større for nanopartikler end for større partikler. Partiklers

størrelse har desuden stor betydning for hvor i luftvejene partiklerne deponeres (1). Større partikler deponeres i de øvre luftveje, hvorimod nanopartikler deponeres dybt nede i lungen, i lungesækkene (alveolerne). Nanopartikler fjernes kun i begrænset omfang af den mukociliære elevator og de alveolære makrofager. Tilstedeværelsen af nanopartiklerne udløser inflammation i lungen (1). Inflammationen er kendetegnet ved, at der dannes cytokiner og tiltrækkes inflammatoriske celler såsom lymfocytter og neutrofile granulocytter. Luftbårne partikler er især kendt for at forårsage dannelse af radikaler og inflammation i lungen (5), der yderligere kan medføre oksidative DNA-skader (6) og mutationer (7).

Luftforurening og graviditet: epidemiologiske fund

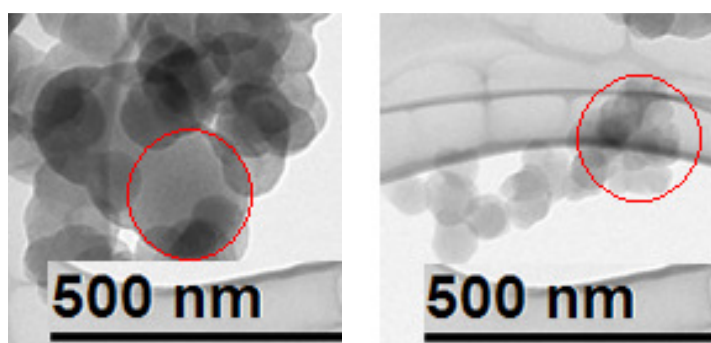
Man ved meget lidt om effekten af eksponering for nanopartikler under graviditet. Resultater fra epidemiologiske undersøgelser indikerer, at udsættelse for luftforurening, især partikulær luftforurening, er forbundet med negative graviditetsudfald, f.eks. for tidlig fødsel, lav fødselsvægt, nedsat vækst af fosteret under graviditeten (8) og øget risiko for dødfødsel (9). Adskillige mekanismer er blevet foreslået, f.eks. partikelinduceret oksidativt stress og inflammation i lunge og placenta (10). En gennemgang af litteraturen viser, at fostrets DNA kan tage skade, hvis moderen har været udsat for luftforurening under graviditeten (10,11). Effekterne omfatter forøget forekomst af DNA-addukter i placentalt bindevæv (12), store DNA-addukter og mikronuklei i navlestrengsblod (13), øget kromosomaberrationsfrekvens i navlestrengsblod (14) og forhøjet niveau af 8-oxodeoxyguanosin i urin (markør

¹ Det Nationale Forskningscenter for Arbejdsmiljø

² Roskilde Universitet (NSM)

³ Københavns Universitet (SUND)

⁴ Danmarks Tekniske Universitet (DTU Nanotech)



1 mg

Diameter	100 nm	10 nm
Partikelantal	10^{12}	10^{15}
Overfladeareal	300 cm^2	3000 cm^2

Figur 1. Sammenligning af nanopartikler med større partikler af samme masse. For samme masseenhed (f.eks. 1 mg) vil antallet af små nanopartikler være væsentligt større, og dermed også det specifikke overfladeareal. Figur baseret på data fra (1).

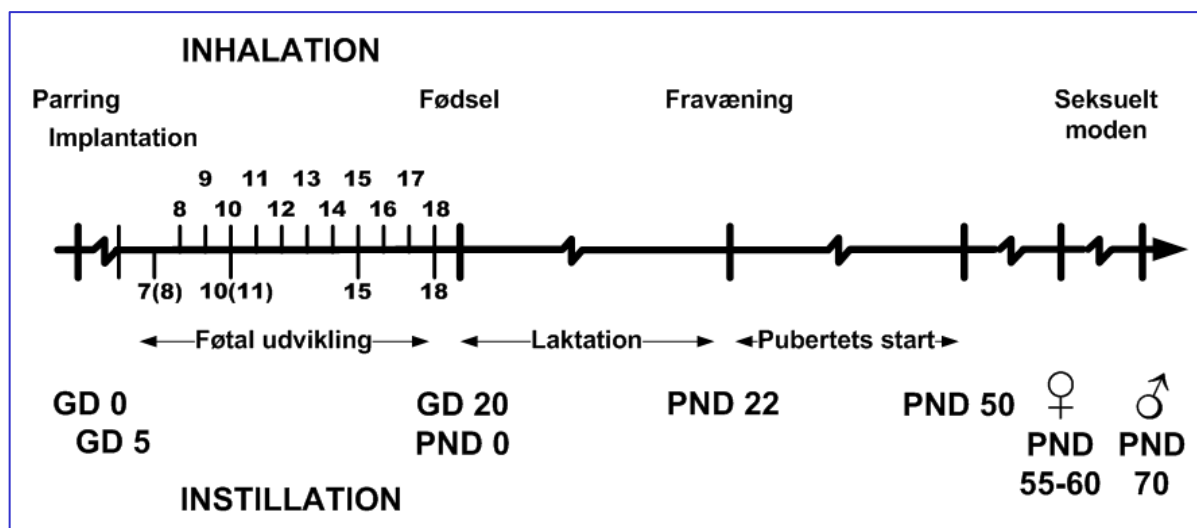
for oksidativt skadet DNA) samt systemisk inflammation hos børn født og opvokset i områder med høj luftforurening (15,16). Der er desuden observeret tegn på, at luftforurening kan påvirke nervesystemets udvikling. I flere studier udviste børn, født af mødre, som igennem graviditeten blev eksponeret for trafikrelateret eller industriel luftforurening, således forringet kognitiv og perceptuel præstationsevne, motorik og sprogfærdigheder (15,17,18). Det er imidlertid vanskeligt at forbinde eksponering for luftforurening med negative reproduktionsudfald i mennesker, fordi mange andre faktorer også påvirker fostrets udvikling (sociale forhold, ernæring, rygning). Humane data findes først, når skaden er sket, og det er uetisk at undersøge skadelige effekter af kemikalier i humane studier. Dyreforsøg udgør derfor en vigtig kilde til at afklare om og hvorfor nanopartikler kan påvirke fostrets udvikling.

Mulige mekanismer for partikeleffekter på maternel fysiologi og fosterudvikling

En graviditet er en kompliceret biologisk proces, hvor fosteret går gennem mange udviklingstrin i samspil med ændringer i moderens fysiologi. Kemisk eksponering kan forstyrre graviditetens forløb forskelligt, alt efter hvor-

når den finder sted. Nanopartikler kan tænkes at påvirke fostrets udvikling på flere forskellige måder: 1) direkte, via partikler og/eller urenheder, som transporteres over moderkagen; 2) ved at ændre moderkagens funktion; eller 3) indirekte ved at cytokiner eller andre inflammatoriske signalstoffer transporteres fra moderen til fosteret, eller påvirker moderkagens funktion (19).

Hvis partikler skal påvirke fostrets udvikling direkte, forudsætter det, at nanopartiklerne passerer fra moderens blod, over moderkagen, til fosteret. Nanopartiklernes translokation afhænger af bl.a.: 1) partikelstørrelse, koncentration, overflade; 2) moderens eksponeringsvej og eksponeringens varighed; 3) tidspunktet i graviditeten (19). Siden translokation af nanopartikler fra moderens lunger til kredsløb anses for at være minimal efter eksponering gennem luftvejene, må også distribution via moderkagen over i fosteret være minimal (20). Det er imidlertid også muligt, at forureninger og overfladebehandlinger dissocierer fra selve nanopartiklerne og passerer moderkagen, og derefter udøver en virkning i fosteret. I dyreforsøg er det f.eks. rapporteret for polycykliske aromatiske kulbrinter udvasket fra kulflyveaske (21), og transplacentale genotoksiner kan inducere skade på DNA i afkommet (22,23).



Figur 2. Forsøgsdesign. I inhalationsstudierne inhalerede de drægtige mus 42 mg/m³ UV-Titan, Printex90 eller filtreret luft en time om dagen på GD 8-18. Den daglige eksponering svarede til ~1,5 dags eksponering ved grænseværdien i arbejdsmiljøet (6 mg titanium dioxid/m³ og 3,5 mg carbon black/m³ (45)). I et tredje studie blev de drægtige mus instilleret intratrakealt med en total dosis på 0, 11, 54 eller 268 µg Printex90, fordelt over fire dage i drægtigheden, GD 7, 10, 15, 18. Det højeste instillerede dosisniveau blev fastsat med henblik på at svare til den forventede deponerede dosis efter inhalationseksponeringen for Printex90. GD, gestationsdag; PND, postnatal dag (dage efter fødsel).

Nanopartikler kan potentielt påvirke funktionen af den humane moderkage. Det er i flere studier observeret, at nanopartikler optages af celler i moderkagen (24,25). Nanopartikler er også vist at påvirke funktionen af placenta i forsøgsdyr efter indgift via injektion (26,27).

Nanopartikler kan også påvirke fosteret indirekte. Eksponering for nanopartikler via luftvejene kan medføre inflammation og genotoksicitet. I dyrestudier resulterede inflammation hos moderen, induceret ved eksponering for lipopolysakkarid (del af bakteriers cellevæg og en model for infektionseffekter), i nedsat aktivitet i hypothalamus-hypofyse-binyrebark (HPA) akse og ændret immunrespons i afkommet senere i livet (28-31). Inflammation under drægtighedsperioden kan også påvirke udviklingen af nervesystemet og den senere funktion heraf (30,32-34).

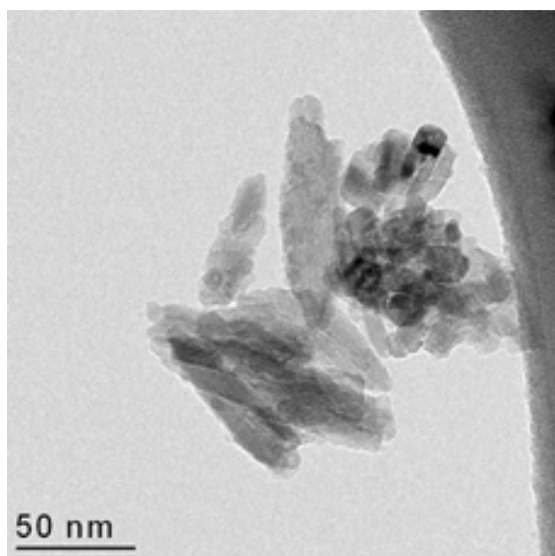
Undersøgelingsdesign og resultater

Formålet med ph.d.-projektet var at undersøge effekter af prænatal eksponering for nanopar-

tikler. Vi anvendte et forsøgsdesign, som vi tidligere har anvendt til at undersøge effekter af prænatal udsættelse for dieseludstødningspartikler (35).

De undersøgte nanopartikler var nano-titaniumdioxid (UV-Titan L181), som er udviklet til brug i farve- og lakindustrien, og carbon black (Printex90), som benyttes som sort pigment f.eks. i trykfarver. Både nano-titaniumdioxid og carbon black udløser inflammation ved lungedeponering (gennemgået i (36,37)), og begge mistænkes for at være genotoksiske (38-40) og kræftfremkaldende (41). De er af International Agency for Research on Cancer (IARC) klassificeret som muligvis kræftfremkaldende for mennesker (Group 2B) (42). Printex90 er derudover i stand til at generere store mængder af reaktive oxygenmolekyler (Reactive Oxygen Species, ROS) (7).

Drægtige mus blev eksponeret for nanopartikler fra 8. til 18. gestationsdag (GD) (figur 2). Eksponeringen fandt altså sted efter at det befrugtede æg var implanteret og startede tidligt i

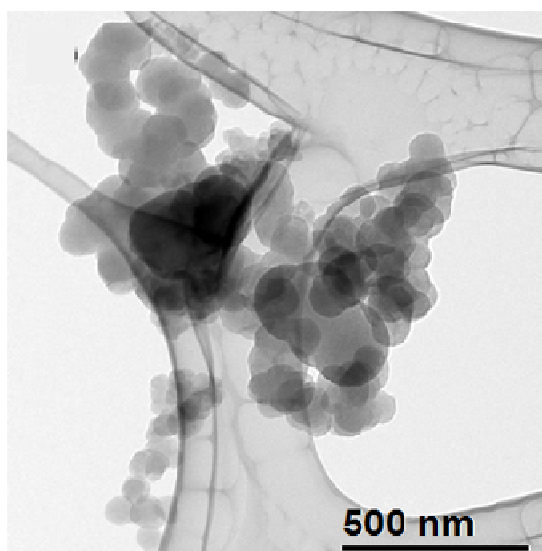


A)

Figur 3. Transmissionelektronmikroskopibilleder (Foto: Keld A. Jensen; NFA).

A) UV-Titan (titaniumdioxid)

B) Printex90 (carbon black)

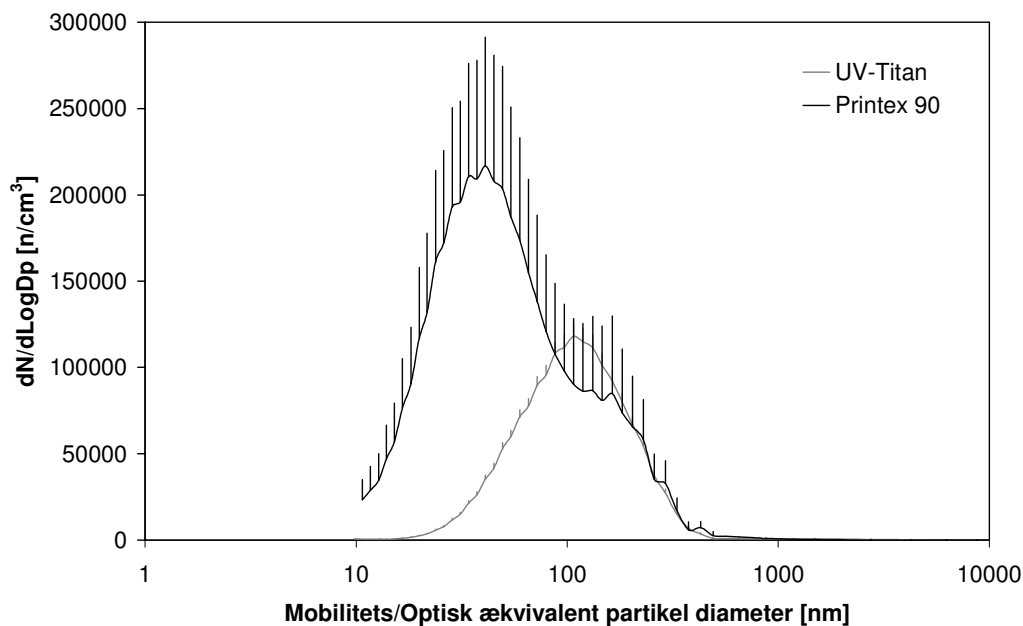


B)

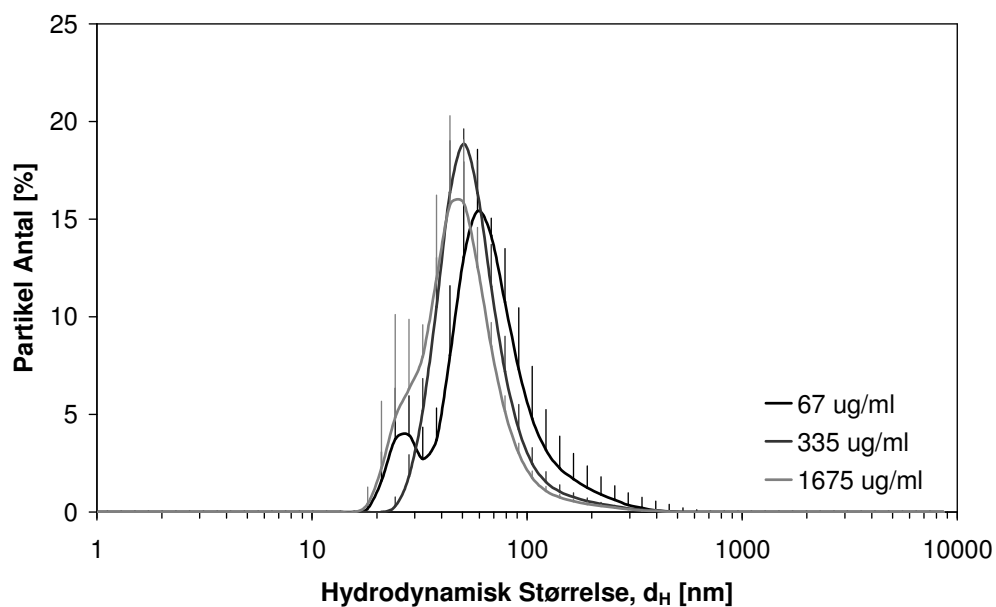
organudviklingen. Eksponeringen svarer groft taget til de to første trimestre i menneskets graviditet, hvor fostrets organer anlægges og udvikles. Eksponering blev afsluttet to dage før forventet fødsel for at undgå at stressere dyrene under fødselsforberedelserne og dermed forebygge negative fødselsudfald. Nanopartikler fjernes meget langsomt fra alveolerne i lungerne, så partiklerne forventes at forblive i lungerne i lang tid. Dette blev bekræftet ved at 21 % af de deponerede TiO_2 -partikler stadig kunne detekteres i maternelle lunger 4 uger efter endt eksponering (43). Traditionelle drægtighedsparametre blev registreret, herunder hvor meget de drægtige dyr tog på under drægtighed og diegivning, længden af drægtigheden, antal anlagte fostre, afkommets vægt ved fødsel og under die- og vækstperioden, størrelsen på kuldet, kønsfordeling og levedygtighed. Da en af hypoteserne for partikel-effekter var, at maternel lungeinflammation kunne påvirke drægtighedsperiodens forløb og fostrets udvikling, blev maternel lungeinflammation undersøgt ved hjælp af cellulært respons i lungeskyllevæske, samt genekspression og genotoksicitet i lunge- og levervæv.

Genekspression og genotoksicitet blev også undersøgt i leveren på afkommet. Desuden blev funktionen af nervesystemet undersøgt i afkommet ved hjælp af forskellige adfærdstests, f.eks. for indlæring og hukommelse, reaktivitet og aktivitet.

Både UV-Titan og Printex90 (figur 3) blev undersøgt efter eksponering ved helkropsinhalation ved 42 mg/m^3 i 1 time/dag på gestationsdag 8–18. Effekterne af Printex90 blev desuden vurderet efter intratrakeal instillation ved tre dosisniveauer (gestationsdag 7, 10, 15 og 18). Det højeste instillerede dosisniveau svarede til den deponerede dosis i lungen af Printex90 efter inhalationseksponeringen. Ved intratrakeal instillation opslemmes partiklerne i væske, der deponeres i lungerne på musene i kortvarig anæstesi. Eftersom denne procedure i sig selv kunne tænkes at udløse stress hos de drægtige mus, sammenlignede vi mus, der fik saltvand sprøjtet ned i lungen i kortvarig anæstesi, med mus, der hverken blev bedøvet eller instilleret. Her blev der ikke observeret effekter i de drægtige mus eller deres afkom (44).



A)

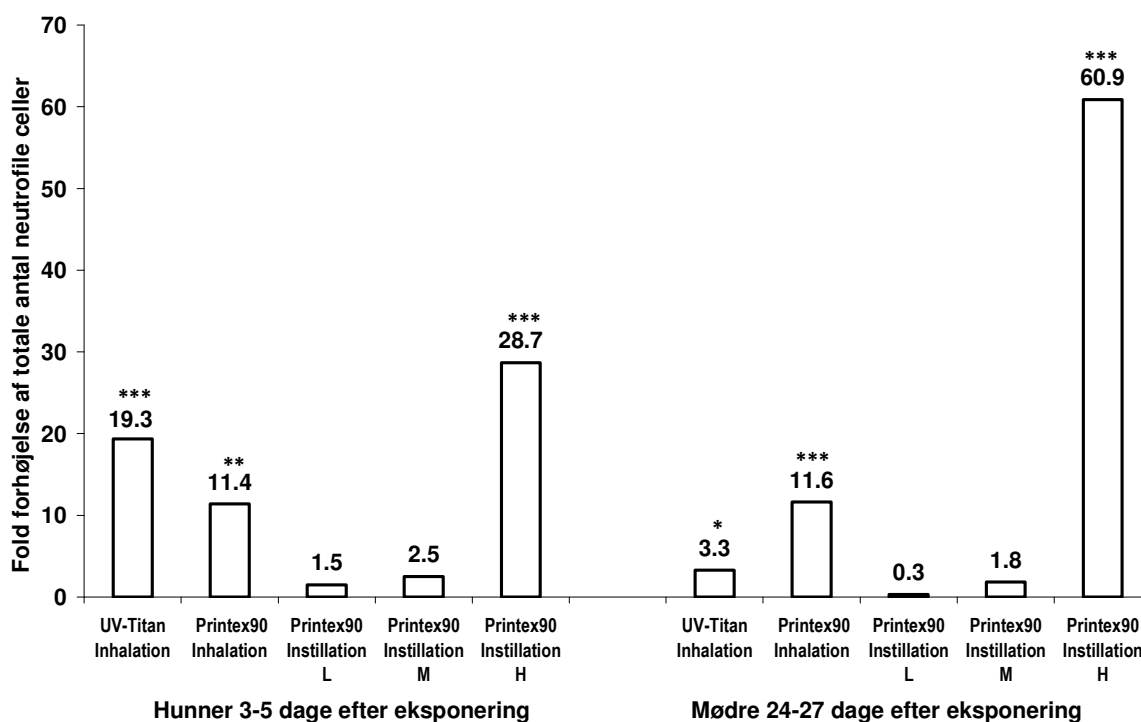


B)

Figur 4. Størrelsesfordelingen af partikler i eksponeringskammeret, ved inhalationseksponering for UV-Titan og Printex90. Standardafvigelsen (lodrette linier) er beregnet baseret på kontinuerte godkendte målinger over hele perioden for alle eksponeringer.

A) Antals-størrelsesfordelingen for luftbårne støvpartikler dannet ved ophvirvling af UV-Titan og Printex90 pulver målt med kombination af ”stepping” partikelmobiliteits- og optisk lysspredningsmålere.

B) Hydrodynamisk antals-størrelsesfordeling for de tre intratrakealt instillerede Printex90 væskedispergeringer, målt med Dynamisk Lysspredning (DLS). Standardafvigelsen (lodrette linier) er beregnet baseret på seks målinger af samme suspension.

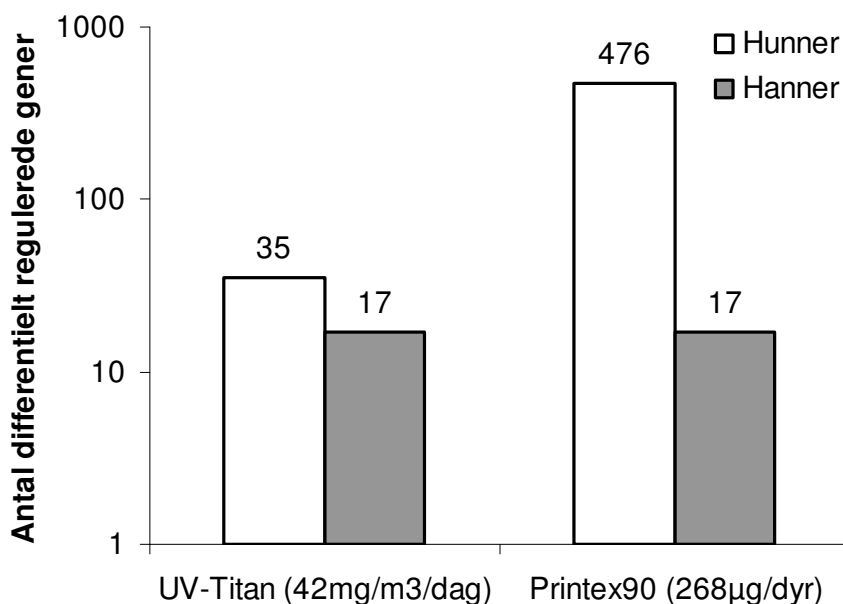


Figur 5. Ændringer i antallet af neutrofile granulocytter i lungevæske dage og uger efter endt eksponering for UV-Titan eller Printex 90 ved inhalation (42 mg/m³/dag), eller for Printex 90 intratrakeal instillation (11, 54, 268 µg/dyr; for henholdsvis L,M,H). Fold er beregnet i forhold til kontrolmus i hvert forsøg.

De udvalgte dosisniveauer var relativt høje, fordi formålet med ph.d.-projektet var at undersøge, om nanopartikler overhovedet påvirker drægtighed og fosterudvikling. De daglige eksponeringer svarede dog omtrent til 1,5 dags eksponering af mus ved den nuværende grænseværdi i arbejdsmiljøet (6 mg titanium/m³ svarende til 9,75 mg/m³ titaniumdioxid og 3,5 mg carbon black/m³ (45)). I undersøgelserne var den gravimetrisk dosis af UV-Titan og Printex90 meget ens. Da de totale inhalerede masser blev beregnet på basis af de observerede størrelsesfordelinger af partiklerne i eksponeringsluften, adskilte eksponeringerne sig fra hinanden med hensyn til partikelstørrelse. UV-Titan partikler dannede relativt store agglomerater i luften, hvorimod Printex90 partiklerne var i nanoskalastørrelse. Partikelstørrelsen påvirkede naturligt nok antallet af partikler i luften, og der var halvt så mange nanopartikler i UV-Titan aerosolen sammenlignet med Printex90 (figur 4).

Indånding af både UV-Titan og Printex90 inducerede kraftig og vedvarende lungeinflammation hos mødrene efter eksponeringen. Det sås ved stor indstrømning af neutrofile granulocytter i lungevæsken (BAL) (figur 5). Der var stadig lungeinflammation 4 uger efter ophørt eksponering (36,43), altså gennem hele dieperioden. På trods af de observerede effekter, påvirkede eksponeringen ikke traditionelle drægtighedsparametre såsom vægtændring hos moder og unger under drægtighed og diegivning, længden af drægtigheden, antal anlagte fostre, kuld størrelse, og kønsfordeling, og levedygtighed (36, 43).

Forsøgene blev udført på hunmus, som burde være drægtige, da de var blevet parret med en hannus. Der er imidlertid altid en vis andel af hunmusene, der alligevel ikke bliver drægtige. Disse blev brugt til at undersøge effekten af eksponeringen kort efter at fødslen skulle have fundet sted (og altså de drægtige hunner havde



Figur 6. Antal differentielt regulerede gener i hunligt og hanligt afkom, hvor moderen blev eksponeret under graviditeten for UV-Titan ved inhalation; eller for Printex90 ved instillation som svarede til den deponerede dosis i lungen ved inhalation af Printex90 i inhalationsstudiet.

født). Der blev udført genekspressionsanalyser på lunge og lever fra disse ikke-drægtige hunner eksponeret for UV-Titan fem dage efter eksponering. Analyserne viste forøget ekspresion af adskillige gener, der er involveret i inflammation, akutfase- og immunrespons i lungen, mens ekspresionen i lever næsten ikke var påvirket (46). Ligeledes fandt vi i moderdyr, som blev eksponeret på det højeste dosisniveau af Printex90 via intratrakeal installation, dramatiske ændringer i ekspresion af forskellige gener og proteiner relateret til lungeinflammation, akutfase- og immunrespons (47). Begge fund understøtter, at lungeeksponering for nanopartikler udløser langvarig inflammation, som i dette tilfælde stadig var til stede ved slutningen af diegivningen. Effekterne ved de lavere doser af Printex90 var minimale (47).

Den globale genekspression i levervæv fra 2 dage gammelt afkom blev dernæst kortlagt. I fostertilstanden er leveren det primært eksponerede organ, hvad enten eksponeringen består af nanopartikler eller f.eks. maternelle cytoki-

ner. Resultaterne viste, at genekspression i leveren var påvirket af moderens lungeeksponering for nanopartikler (figur 6). Der var store forskelle. Overordnet set var der større effekt af prænatal eksponering for Printex90 end af UV-Titan. Effekten var desuden større hos det hunlige end det hanlige afkom (37,47). For UV-Titan var differentielt regulerede gener i hunligt afkom primært involveret i et antiinflammatorisk respons, mens de differentielt regulerede gener hos hanligt afkom var relateret til metabolisme (37). For Printex90 var differentielt regulerede gener hos hunligt afkom relateret til cellulær signalering, inflammation, cellecyklus og fedtomsætning, hvorimod differentielt regulerede gener hos hannerne var relateret til metabolisme (47). Det er mest sandsynligt, at de observerede ændringer i genekspression i nyfødte afkom er en reaktion på inflammation hos moderen snarere end en direkte effekt af translokerede nanopartikler. For at nå fosteret skulle nanopartiklerne nemlig passere to basalmembrankomplekser, dvs. lunge-blod barrieren og placenta. Det forventes derfor, at denne translokation er minimal.

Nogle inflammationsrelaterede signalmolekyler, f.eks. visse cytokiner, passerer muligvis placenta i nogen grad, eller påvirker funktionen af placenta og derigennem fostrets udvikling (48).

Det blev også undersøgt, om mødrenes indånding af nanopartikler inducerede DNA-skader i lunge og lever hos mødrene samt i leveren på afkommet. Der var øget forekomst af DNA-strengbrud i leveren på de hunmus, der blev eksponeret for Printex90 via indånding og i leveren fra deres prænatale eksponerede afkom. Der var stadig DNA-strengbrud i mødre 4 uger efter eksponeringen var afsluttet, samt i 7 uger gammelt afkom. Der blev imidlertid ikke observeret DNA-strengbrud i mus, som blev eksponeret for Printex90 via instillation, og heller ikke i deres afkom (36), ligesom der ikke var tegn på gentoksicitet hos moderdyr og afkom eksponeret for UV-Titan (37).

Prænatale eksponeret afkom udviste små ændringer i adfærd som voksne, både efter maternal inhalation af UV-Titan (43) og maternal instillation af Printex90 (højeste dosisniveau, svarende til deponeret lungedosis ved inhalationseksponering for Printex90; adfærd blev ikke undersøgt ved lav og mellem dosisniveau eller efter inhalation) (49).

Konklusion

Resultaterne viser, at eksponering for nanopartikler (a) inducerer kraftig og vedvarende inflammation, immun- og akutfasesignaler hos voksne hunmus efter eksponering via luftvejene; (b) påvirker genekspression relateret til adskillige biologiske mekanismer hos prænatale eksponeret afkom, sandsynligvis relateret til moderens inflammation; (c) kan medføre genotoksicitet hos både de voksne hunmus og deres afkom; (d) påvirker funktionen af nervesystemet i det prænatale eksponerede afkom; (e) på trods heraf sås der ingen ændringer i drægtighedsparametrene. Helbredseffekter af prænatal udsættelse for nanopartikler kan derfor være svære at påvise ved brug af klassiske parametre for udviklingstoksicitet, i både dyrestudier og epidemiologiske studier.

Følgende artikler indgik i afhandlingen:

- 1) Hougaard KS, Jackson P, Jensen KA, Sloth JJ, Loschner K, Larsen EH et al. *Effects of prenatal exposure to surface-coated nanosized titanium dioxide (UV-Titan). A study in mice.* Part Fibre Toxicol 2010;7(1):16.
- 2) Halappanavar S, Jackson P, Williams A, Jensen KA, Hougaard KS, Vogel U et al. *Pulmonary response to surface-coated nanotitanium dioxide particles includes induction of acute phase response genes, inflammatory cascades, and changes in microRNAs: A toxicogenomic study.* Environ Mol Mutagen 2011;52(6):425-39.
- 3) Jackson P, Halappanavar S, Hougaard KS, Williams A, Madsen AM, Lamson JS et al. *Maternal inhalation of surface-coated nanosized titanium dioxide (UV-Titan) in C57BL/6 mice: Effects in prenatally exposed offspring on hepatic DNA damage and gene expression.* Nanotoxicology 2011;DOI:10.3109/17435390.2011.633715.
- 4) Jackson P, Lund SP, Kristiansen G, Andersen O, Vogel U, Wallin H et al. *An Experimental Protocol for Maternal Pulmonary Exposure in Developmental Toxicology.* Basic Clin Pharmacol Toxicol 2011;108(3):202-7.
- 5) Jackson P, Hougaard KS, Boisen AM, Jacobsen NR, Jensen KA, Møller P et al. *Pulmonary exposure to carbon black by inhalation or instillation in pregnant mice: Effects on liver DNA strand breaks in dams and offspring.* Nanotoxicology 2011;DOI: 10.3109/17435390.2011.587902.
- 6) Jackson P, Vogel U, Wallin H, Hougaard KS. *Prenatal Exposure to Carbon Black (Printex90): Effects on Sexual Development and Neurofunction.* Basic Clin Pharmacol Toxicol 2011; 109(6): 434-7

Tak til Bodil Holst for arbejdet med den danske tekst og Styrelsen for Forskning og Innovation for økonomisk støtte.

Yderligere information:

Petra Jackson

e-mail: pja@nrcwe.dk

Link til ph.d.-afhandling *

En forkortet udgave af ph.d.-afhandlingen er udgivet i "Air Pollution Book" **

Referencer

1. Oberdöster G, Oberdöster E, Oberdöster J. *Nanotoxicology: an emerging discipline evolving from studies of ultrafine particles*. Environ Health Perspect 2005;113:823-39.
2. Duffin R, Tran L, Brown D, Stone V, Donaldson K. *Proinflammogenic effects of low-toxicity and metal nanoparticles in vivo and in vitro: highlighting the role of particle surface area and surface reactivity*. Inhal Toxicol 2007;19:849-56.
3. Maynard A, Kuempel ED. *Airborne nanostructured particles and occupational health*. J Health Science 2005; 7:587-614.
4. Schneider T, Jensen KA. *Combined single-drop and rotating drum dustiness test of fine to nanosize powders using a small drum*. Ann Occup Hyg 2008;52:23-34.
5. Borm PJ, Robbins D, Haubold S, Kuhlbusch T, Fissan H, Donaldson K, Schins R, Stone V, Kreyling W, Lademann J, Krutmann J, Warheit D, Oberdorster E. *The potential risks of nanomaterials: a review carried out for ECETOC*. Part Fibre Toxicol 2006;3:11.
6. Møller P, Jacobsen NR, Folkmann JK, Danielsen PH, Mikkelsen L, Hemmingsen JG, Vesterdal LK, Forchhammer L, Wallin H, Loft S. *Role of oxidative damage in toxicity of particulates*. Free Radic Res 2010;44:1-46.
7. Jacobsen NR, White PA, Gingerich J, Møller P, Saber AT, Douglas GR, Vogel U, Wallin H. *Mutation spectrum in FE1-MUTA(TM) Mouse lung epithelial cells exposed to nanoparticulate carbon black*. Environ Mol Mutagen 2010;52: 331-7.
8. Shah PS, Balkhair T. *Air pollution and birth outcomes: A systematic review*. Environ Int 2010;37:498-516.
9. Pope DP, Mishra V, Thompson L, Siddiqui AR, Rehfuess EA, Weber M, Bruce NG. *Risk of low birth weight and stillbirth associated with indoor air pollution from solid fuel use in developing countries*. Epidemiol Rev 2010;32: 70-81.
10. Kannan S, Misra DP, Dvonch JT, Krishnakumar A. *Exposures to airborne particulate matter and adverse perinatal outcomes: a biologically plausible mechanistic framework for exploring potential*. Cien Saude Colet 2007;12:1591-1602.
11. Neri M, Ugolini D, Bonassi S, Fucic A, Holland N, Knudsen LE, Sram RJ, Ceppi M, Bocchini V, Merlo DF. *Children's exposure to environmental pollutants and biomarkers of genetic damage. II. Results of a comprehensive literature search and meta-analysis*. Mutat Res 2006;612:14-39.
12. Šrám RJ, Binková B, Rossner P, Rubes J, Topinka J, Dejmek J. *Adverse reproductive outcomes from exposure to environmental mutagens*. Mutat Res 1999;428:203-15.
13. Pedersen M, Wichmann J, Autrup H, Dang DA, Decordier I, Hvidberg M, Bossi R, Jakobsen J, Loft S, Knudsen LE. *Increased micronuclei and bulky DNA adducts in cord blood after maternal exposures to traffic-related air pollution*. Environ Res 2009;109: 1012-20.
14. Bocskay KA, Tang D, Orjuela MA, Liu X, Warburton DP, Perera FP. *Chromosomal aberrations in cord blood are associated with prenatal exposure to carcinogenic polycyclic aromatic hydrocarbons*. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 2005;14:506-11.
15. Calderon-Garciduenas L, Villarreal-Calderon R, Valencia-Salazar G, Henriquez-Roldan C, Gutierrez-Castrellon P, Torres-Jardon R, Osnaya-Brizuela N, Romero L, Torres-Jardon R, Solt A, Reed W. *Systemic inflammation, endothelial dysfunction, and activation in clinically healthy children exposed to air pollutants*. Inhal Toxicol 2008;20:499-506.
16. Švecová V, Rossner P Jr, Dostál M, Topinka J, Solansky I, Šrám RJ. *Urinary 8-oxodeoxyguanosine levels in children exposed to air pollutants*. Mutat Res 2009;662:37-43.

* <http://www.arbejdsmiljoforskning.dk/da/nyheder/arkiv/2011/~media/Boeger-og-rapporter/PJA-phd.pdf>

** <http://www.intechopen.com/books/show/title/air-pollution-new-developments>

-
17. Freire C, Ramos R, Puertas R, Lopez-Espinosa MJ, Julvez J, Aguilera I, Cruz F, Fernandez MF, Sunyer J, Olea N. *Association of traffic-related air pollution with cognitive development in children.* J Epidemiol Community Health 2010;64:223-8.
 18. Tang D, Li TY, Liu JJ, Zhou ZJ, Yuan T, Chen YH, Rauh VA, Xie J, Perera F. *Effects of prenatal exposure to coal-burning pollutants on children's development in China.* Environ Health Perspect 2008;116:674-9.
 19. Hougaard KS, Fadeel B, Gulumian M, Kagan VE, Savolainen K. *Developmental toxicity of engineered nanoparticles.* In Reproductive and Developmental Toxicology. Edited by Gupta RC: Academic Press, Amsterdam 2011;269-90.
 20. Sadauskas E, Wallin H, Stoltenberg M, Vogel U, Doering P, Larsen A, Danscher G. *Kupffer cells are central in the removal of nanoparticles from the organism.* Part Fibre Toxicol 2007;4:10.
 21. Srivastava VK, Chauhan SS, Srivastava PK, Kumar V, Misra UK. *Fetal translocation and metabolism of PAH obtained from coal fly ash given intratracheally to pregnant rats.* J Toxicol Environ Health 1986;18:459-69.
 22. Brunborg G, Soderlund EJ, Holme JA, Dybing E. *Organ-specific and transplacental DNA damage and its repair in rats treated with 1,2-dibromo-3-chloropropane.* Chem Biol Interact 1996;101:33-48.
 23. Tripathi DN, Pawar AA, Vikram A, Ramarao P, Jena GB. *Use of the alkaline comet assay for the detection of transplacental genotoxins in newborn mice.* Mutat Res 2008;653:134-9.
 24. Myllynen PK, Loughran MJ, Howard CV, Sormunen R, Walsh AA, Vahakangas KH. *Kinetics of gold nanoparticles in the human placenta.* Reprod Toxicol 2008;26:130-7.
 25. Wick P, Malek A, Manser P, Meili D, Maeder-Althaus X, Diener L, Diener PA, Zisch A, Krug HF, von MU. *Barrier capacity of human placenta for nanosized materials.* Environ Health Perspect 2010;118:432-6.
 26. Pietroiusti A, Massimiani M, Fenoglio I, Colonna M, Valentini F, Palleschi G, Camaioni A, Magrini A, Siracusa G, Bergamaschi A, Sgambato A, Campagnolo L. *Low doses of pristine and oxidized single-wall carbon nanotubes affect mammalian embryonic development.* ACS Nano 2011;5:4624-33.
 27. Yamashita K, Yoshioka Y, Higashisaka K, Mimura K, Morishita Y, Nozaki M, Yoshida T, Ogura T, Nabeshi H, Nagano K, Abe Y, Kamada H, Monobe Y, Imazawa T, Aoshima H, Shishido K, Kawai Y, Mayumi T, Tsunoda S, Itoh N, Yoshikawa T, Yanagihara I, Saito S, Tsutsumi Y. *Silica and titanium dioxide nanoparticles cause pregnancy complications in mice.* Nat Nanotechnol 2011;6:321-8.
 28. Hodyl NA, Krivanek KM, Lawrence E, Clifton VL, Hodgson DM. *Prenatal exposure to a pro-inflammatory stimulus causes delays in the development of the innate immune response to LPS in the offspring.* J Neuroimmunol 2007;190:61-71.
 29. Hodyl NA, Krivanek KM, Clifton VL, Hodgson DM. *Innate immune dysfunction in the neonatal rat following prenatal endotoxin exposure.* J Neuroimmunol 2008;204:126-30.
 30. Lasala N, Zhou H. *Effects of maternal exposure to LPS on the inflammatory response in the offspring.* J Neuroimmunol 2007;189:95-101.
 31. Surriga O, Ortega A, Jadeja V, Bellafronte A, Lasala N, Zhou H. *Altered hepatic inflammatory response in the offspring following prenatal LPS exposure.* Immunol Lett 2009;123:88-95.
 32. Gilmore JH, Fredrik JL, Vadlamudi S, Lauder JM. *Prenatal infection and risk for schizophrenia: IL-1beta, IL-6, and TNFalpha inhibit cortical neuron dendrite development.* Neuropsychopharmacology 2004;29:1221-9.
 33. Graciarena M, Depino AM, Pitossi FJ. *Prenatal inflammation impairs adult neurogenesis and memory related behavior through persistent hippocampal TGFbeta1 downregulation.* Brain Behav Immun 2010;24:1301-9.
 34. Marx CE, Jarskog LF, Lauder JM, Lieberman JA, Gilmore JH. *Cytokine effects on cortical neuron MAP-2 immunoreactivity: implications for schizophrenia.* Biol Psychiatry 2001;50:743-9.
-

-
35. Hougaard KS, Jensen KA, Nordly P, Taxvig C, Vogel U, Saber AT, Wallin H. *Effects of prenatal exposure to diesel exhaust particles on postnatal development, behavior, genotoxicity, and inflammation in mice*. Part Fibre Toxicol 2008;5:3.
 36. Jackson P, Hougaard KS, Boisen AM, Jacobsen NR, Jensen KA, Møller P, Brunborg G, Gützkow KB, Andersen O, Loft S, Vogel U, Wallin H. *Pulmonary exposure to carbon black by inhalation or instillation in pregnant mice: Effects on liver DNA strand breaks in dams and offspring*. Nanotoxicology 2011, DOI: 10.3109/17435390.2011.587902.
 37. Jackson P, Halappanavar S, Hougaard KS, Williams A, Madsen AM, Lamson JS, Andersen O, Yauk C, Wallin H, Vogel U. *Maternal inhalation of surface-coated nano-sized titanium dioxide (UV-Titan) in C57BL/6 mice: Effects in prenatally exposed offspring on hepatic DNA damage and gene expression*. Nanotoxicology 2011, DOI:10.3109/17435390.2011.633715.
 38. Jacobsen NR, Pojana G, White P, Møller P, Cohn CA, Korsholm KS, Vogel U, Marcomini A, Loft S, Wallin H. *Genotoxicity, cytotoxicity, and reactive oxygen species induced by single-walled carbon nanotubes and C(60) fullerenes in the FE1-Muttrade markMouse lung epithelial cells*. Environ Mol Mutagen 2008; 49:476-87.
 39. Jacobsen NR, Møller P, Jensen KA, Vogel U, Ladefoged O, Loft S, Wallin H. *Lung inflammation and genotoxicity following pulmonary exposure to nanoparticles in ApoE-/- mice*. Part Fibre Toxicol 2009;6:2.
 40. Johnston HJ, Hutchison GR, Christensen FM, Peters S, Hankin S, Stone V. *Identification of the mechanisms that drive the toxicity of TiO(2)particulates: the contribution of physicochemical characteristics*. Part Fibre Toxicol 2009;6:33.
 41. Mohr U, Ernst H, Roller M, Pott F. *Pulmonary tumor types induced in Wistar rats of the so-called "19-dust study"*. Exp Toxicol Pathol 2006;58:13-20.
 42. Baan R, Straif K, Grosse Y, Secretan B, El GF, Cogliano V. *Carcinogenicity of carbon black, titanium dioxide, and talc*. Lancet Oncol 2006; 7:295-6.
 43. Hougaard KS, Jackson P, Jensen KA, Sloth JJ, Loschner K, Larsen EH, Birkedal RK, Vibenholt A, Boisen AM, Wallin H, Vogel U. *Effects of prenatal exposure to surface-coated nanosized titanium dioxide (UV-Titan). A study in mice*. Part Fibre Toxicol 2010;7:16.
 44. Jackson P, Lund SP, Kristiansen G, Andersen O, Vogel U, Wallin H, Hougaard KS. *An Experimental Protocol for Maternal Pulmonary Exposure in Developmental Toxicology*. Basic Clin Pharmacol Toxicol 2011;108:202-7.
 45. The Danish Working Environment Authority. *At-vejledning. Stoffer og Materialer - C.O.I. Grænseværdier for stoffer og materialer*. 2007:1-55.
 46. Halappanavar S, Jackson P, Williams A, Jensen KA, Hougaard KS, Vogel U, Yauk CL, Wallin H. *Pulmonary response to surface-coated nanotitanium dioxide particles includes induction of acute phase response genes, inflammatory cascades, and changes in micro-RNAs: A toxicogenomic study*. Environ Mol Mutagen 2011;52:425-39.
 47. Jackson P, Hougaard KS, Vogel U, Wu D, Casavant L, Williams A, Wade M, Yauk C, Wallin H, Halappanavar S. *Exposure of pregnant mice to carbon black by intratracheal instillation: Toxicogenomic effects in dams and offspring*. Mutat Res 2011:DOI: 10.1016/j.mrgentox.2011.09.018.
 48. Jonakait GM. *The effects of maternal inflammation on neuronal development: possible mechanisms*. Int J Dev Neurosci 2007;25:415-25.
 49. Jackson P, Vogel U, Wallin H, Hougaard KS. *Prenatal Exposure to Carbon Black (Printex 90): Effects on Sexual Development and Neurofunction*. Basic Clin Pharmacol Toxicol 2011;109(6):434-7.
 50. Hougaard KS, Jackson P, Jensen KA, Sloth JJ, Loschner K, Larsen EH, Birkedal RK, Vibenholt A, Boisen AM, Wallin H, Vogel U. *Correction: Effects of prenatal exposure to surface-coated nanosized titanium dioxide (UV-Titan). A study in mice*. Part Fibre Toxicol 2011;8:14.
-

51. Jackson P, Vogel U, Wallin H, Hougaard KS. *Maternal exposure to particulate air pollution and engineered nanoparticles: Reproductive and developmental effects*. In Air pollution. New developments. 1 edition. Edited by Anca Maria Moldoveanu: Intech; 2011:59-84.

52. Saber AT, Jensen KA, Jacobsen NR, Birkedal RK, Mikkelsen L, Møller P, Loft S, Wallin H, Vogel U. *Inflammatory and genotoxic effects of nanoparticles designed for inclusion in paints and lacquers*. Nanotoxicology 2011, DOI:10.3109/17435390.2011.620745.

Set på internet

Rapporter

Abstracts, proceedings m.m.

21.-24. februar 2011: 10th International Congress of the European Bioelectromagnetics Association. Proceedings.

<http://proceedings.ebea2011.org/>

17.-19. maj 2011: 1st International Conference on Light in Engineering, Architecture and the Environment. Post Conference Report.

<http://www.wessex.ac.uk/11-conferences/light-2011.html>

9.-11. maj 2011: ICEIN 2011, International Conference on the Environmental Implications of Nanotechnology. Abstract book.

<http://ceint.duke.edu/icein2011>

2.-5. juni 2011: 39th International MEDICHEM Congress on Occupational and Environmental Health in the Production and Use of Chemicals. Congress Brochure with Abstracts.

http://medichem2011.org/webcom/show_page.php?c=10000060/nr-1/lkm-4775/i.html

6.-8. juni 2011: Urban Transport 2011. Post Conference Report.

<http://www.wessex.ac.uk/11-conferences/urbantransport-2011.html>

21.-23. juni 2011: Food and Environment 2011.

<http://www.wessex.ac.uk/11-conferences/foodandenvironment-2011.html>

26.-29. juni 2011: 10th International Conference on Carbonaceous Particles in the Atmosphere. Abstract Book.

<http://www.iccpa.net/>

25.-27. juli 2011: Environmental Health Risk. Post Conference Report.

<http://www.wessex.ac.uk/11-conferences/environmentalhealthrisk-2011.html>

24.-27. august 2011: First Symposium on Ethics of Environmental Health. Presentations.

<http://www.seeh2011.org/>

11.-15. september 2011: 13th EuCheMS International Conference on Chemistry and the Environment. Abstracts.

<http://www.icce2011.org/site/>

19.-21. september 2011: Air Pollution 2011. Post Conference Report.

<http://www.wessex.ac.uk/11-conferences/airpollution-2011.html>

5.- 6. oktober 2011: International konference: Science for the Environment - Environment for Society. Præsentationer.

<http://www.dmu.dk/en/news/arrangements/conferences/environmentconference2011/>

24.-28. oktober 2011: WCRP Open Science Conference: Climate Research in Service to Society. Præsentationer og posters.

<http://conference2011.wcrp-climate.org/structure.html>

Skybrud over København i juli 2011. Præsentationer fra en temadag på Statens Serum Institut.

<http://www.ssi.dk/Smitteberedskab/Infektionshygiejne/Aktuelt/Afrapporteringsmode.aspx>

Børn

Pediatric Environmental Health, American Academy of Pediatrics Council on Environmental Health, januar 2012.

<http://ebooks.aap.org/product/pediatric-environmental-health-3rd-edition>

Forskning

EU-INFORMATION nr. 1, Styrelsen for Forskning og Innovation, januar 2012.

<http://www.fi.dk/publikationer/2012/eu-information-nr-1-januar-2012/>

Forskningsbarometer 2011, Styrelsen for Forskning og Innovation, februar 2012.

<http://www.fi.dk/publikationer/2012/forskningsbarometer-2011>

Indemiljø

PCB eksponering i Farum Midtpunkt - måling i boliger og i blod. Sundhedsstyrelsen, januar 2012.

<http://www.sst.dk/Nyhedscenter/Nyheder/2012/PCBFarum.aspx>

Kemiske stoffer

Chemical cocktails - a serious matter of concern, Nordisk Ministerråd, februar 2012.

<http://www.norden.org/da/publikationer/publikationer/2012-711>

Communication on the safe use of chemicals, European Chemicals Agency, januar 2012.

http://echa.europa.eu/documents/10162/17203/clp_study_en.pdf

Pesticidbelastningen fra jordbruget 2007-2010 Orientering nr. 1, Miljøstyrelsen, januar 2012.

<http://www.mst.dk/Publikationer/Publikationer/2012/januar/978-87-92779-75-5.pdf.htm?WBCMODE=P>

Poolkemikalier Nordisk tilsynsprojekt 2009–2010, Nordisk Ministerråd, januar 2012.

<http://www.norden.org/sv/publikationer/publikationer/2011-573>

The influence of hazard classification on the use of chemicals. A pilot project. TemaNord 2012:507, Nordisk Ministerråd, marts 2012.

<http://www.norden.org/da/publikationer/publikationer/2012-507>

Luftforurening

Air quality in Europe - 2011 report, Det Europæiske Miljøagentur, Technical Report No 12/2011.

<http://www.eea.europa.eu/publications/air-quality-in-europe-2011>

Allergic Inflammation in the Human Lower Respiratory Tract Affected by Exposure to Diesel Exhaust, Research Report 165, The Health Effects Institute, februar 2012.

<http://pubs.healtheffects.org/view.php?id=373>

Assessing the Impact of a Wood Stove Replacement Program on Air Quality and Children's Health. Research Report 162, The Health Effects Institute, December 2011.

<http://pubs.healtheffects.org/view.php?id=367>

Assessment of the Health Impacts of Particulate Matter Characteristics, Research Report 161, The Health Effects Institute, januar 2012.

<http://pubs.healtheffects.org/view.php?id=371>

HEI Annual Report 2011, The Health Effects Institute, januar 2012.

<http://pubs.healtheffects.org/view.php?id=370>

The London Low Emission Zone Baseline Study, Research Report 163, The Health Effects Institute, november 2011.

<http://pubs.healtheffects.org/view.php?id=366>

Luftkvalitetsvurdering af trængselsafgifter i København, Aarhus Universitet, Nationalt Center for Miljø og Energi, 2012.

<http://www2.dmu.dk/Pub/SR16.pdf>

Pulmonary Particulate Matter and Systemic Microvascular Dysfunction Research report 164, The Health Effects Institute, december 2011.

<http://pubs.healtheffects.org/view.php?id=368>

Revealing the costs of air pollution from industrial facilities in Europe, Det Europæiske Miljøagentur, Technical Report No 15/2011.

<http://www.eea.europa.eu/publications/cost-of-air-pollution>

Risikovurderinger

Integrating Emerging Technologies into Chemical Safety Assessment, Council of Canadian Academies, januar 2012.

<http://www.scienceadvice.ca/en/assessments/completed/pesticides.aspx>

NanoRiskCat. Environmental Project 1372, Miljøstyrelsen, 2011.

<http://www.mst.dk/Publikationer/Publications/2011/12/978-87-92779-11-3.htm>

Regulation and Risk Assessment of Nanoparticles: Summary report of 2011 workshop, JRC, januar 2012.

http://ihcp.jrc.ec.europa.eu/our_activities/nanotechnology/challenges-of-regulation-and-risk-assessment-of-nanomaterials-summary-of-joint-jrc-nano-event-2nd-enpra-stakeholders-workshop-2011

UK Climate Change Risk Assessment, Defra januar 2012.

<http://www.defra.gov.uk/environment/climate/government/risk-assessment/#report>

Støj

Virkninger av støy på befolkningen nær militære flyplasser. Folkehelseinstituttet i Norge, oktober 2011.

http://www.fhi.no/eway/default.aspx?pid=233&trg=MainLeft_5583&MainArea_5661=5583:0:15,1134:1:0:0:::0:0&MainLeft_5583=5603:94164::1:5585:6:::0:0

Kalender 2012

Der kan links til møder og konferencer via adressen:

<http://miljoogsundhed.sst.dk/kalender/index.html>

Maj

6.-9. maj: 8th International Symposium on Shiga Toxin (Verocytotoxin)-Producing Escherichia coli Infections, Amsterdam, The Netherlands.

9.-11. maj: 7th International Workshop on Non Ionizing Radiation, Edinburgh, UK.

13.-18. maj: 13th International Congress of the International Radiation Protection Association, Glasgow (Scotland), UK.

13.-18. maj : World Congress on Water, Climate & Energy 2012, Dublin, Irland.

14.-16. maj: Environmental Stressors in the Developmental Origins of Disease: Evidence and Mechanisms, Paris, Frankrig.

15.-17. maj: Urban Transport 2012, A Coruña, Spanien.

16.-18. maj: 20th International Conference on Modelling, Monitoring and Management of Air Pollution, A Coruña, Spanien.

20.-24. maj: 6th SETAC World Congress / SETAC Europe 22nd Annual Meeting Securing a sustainable future: Integrating science, policy and people, Berlin, Tyskland.

21.-27. maj: IFEH 12th World Congress on Environmental Health: New Technologies, Healthy Human Being and Environment, Vilnius, Litauen.

22.-24. maj: Forest Fires 2012, New Forest, UK.

29. maj - 1. juni: International Congress on Environmental Health 2012, Lissabon, Portugal.

30. maj - 1. juni: The Contribution of Epigenetics in Pediatric Environmental Health San Francisco, Californien.

30. maj - 3. juni: Workshop on Emerging Oncogenic Viruses, Puglia, Italien.

Juni

4.-7. juni: Nordic Environmental Chemistry Conference, Turku, Finland.

4. juni samme sted: Nordfluor Workshop. NECC starter om aftenen!

6.-7. juni: Environment and Health Conference, Penang, Malaysia.

13.-15. juni: 13th Joint Fera/JIFSAN Annual Symposium. New Developments in Food Science: Realising the Potential of Omics Technologies, York, United Kingdom.

13.-16. juni: 11th European Society of Contact Dermatology Congress, Malmö, Sverige.

17.-20. juni: Congress of the European Societies of Toxicology Stockholm, Sverige.

17.-20. juni: 10th International Conference Indoor Air Quality in Heritage and Historic Environments, London, United Kingdom

17.-20 juni: 2nd Urban Environmental Pollution Conference, Amsterdam, Holland.

25.-28. juni: The 9th International Symposium on Advanced Environmental Monitoring and Modeling, Helsinki, Finland.

25.-28. juni: 3rd International Conference on Transport, Atmosphere and Climate, Prien am Chiemsee, Tyskland.

Juli

2.-4. juli: Environmental Impact 2012 - First International Conference on Environmental and Economic Impact on Sustainable Development. New Forest, UK.

2.-5. juli: 7th International Conference on the Science of Exposure Assessment (X2012) Edinburgh, Scotland.

6. juli: British Occupational Hygiene Society: International Conference on Working Safely with Nanomaterials, Edinburgh, Scotland.

8.-12. juli: Healthy Buildings 2012, Brisbane, Australien.

10.-12. juli: 2nd International Conference on Sustainable Built Environment, Yogyakarta, Indonesien.

10.-12. juli: Water Pollution 2012, New Forest, UK.

18.-20. juli: Risk 2012: World Congress 3, Sydney, Australien.

August

6.-10. august 2012: 8th International Conference on Urban Climate - ICUC 8, Dublin, Irland.

18.-21. august: XXI World Congress on Asthma, Quebec, Canada.

26.-30. august 2012; 4th EuCheMS Chemistry Congress, Prag, Tjekkiet.

26.-30. august: Twenty-Fourth Conference of the International Society for Environmental Epidemiology, Columbia, South Carolina, USA.

27.-30. august: World Cancer Congress, Montreal, Canada.

28.-30. august: ICEPR 2012: 2nd International Conference on Environmental Pollution and Remediation, Montreal, Quebec, Canada.

September

2.-7. september: European Aerosol Conference (EAC 2012), Granada, Spanien.

4.-7. september 2012: 6th International Conference on Nanotoxicology, Beijing, Kina.

10.-12. september: 7th International Conference on the Environmental Effects of Nanoparticles and Nanomaterials, Alberta, Canada.

19.-21. september: 8th International Conference on Simulation in Risk Analysis and Hazard Mitigation, Kroatien.

23.-26. september: Central European Symposium on Antimicrobials and Antimicrobial resistance. CESAR 2012, Kroatien.

23.-26. september: International Conference on Environmental Odour Monitoring & Control, Palermo, Italien.

30. september - 4. oktober: NIVA Occupational Lung Diseases - Prevention and Risk Factors, Särö, Sverige.

Oktober

1.-5. oktober: Niva Introduction to occupational epidemiology. Gentofte, DK.

8.-12. oktober: 7th International Workshop on Biological effects of Electromagnetic fields, Malta.

21.- 26. oktober: Monte Verita - EMF Health Risk Research: Lessons Learned and Recommendations for the Future - Seven Years Later.

22.-25. oktober: NIVA Indoor air quality, health, comfort and productivity, Bergen, Norge.

28.-31. oktober: SENN2012 - International Congress on Safety of Engineered Nanoparticles and Nanotechnologies, Helsinki, Finland.

November

5.-9. november: 7th Conference of the World Mycotoxin Forum and XIIIth IUPAC International Symposium on Mycotoxins and Phycotoxins, Rotterdam, Holland.

13.-15. november: Nanosafe 2012, Grenoble, Frankrig.

14.-16. november: International Symposium Food Packaging, Berlin, Tyskland.

December

6.-9. december: WAO International Scientific Conference 2012, Hyderabad, Indien.

NB! Bidrag til kalenderen modtages gerne, hib@sst.dk

Skriv til **miljø og sundhed**

skriv om forskningsresultater

skriv til synspunkt

skriv et mødereferat

send nye rapporter

husk også kalenderen

Ring, skriv eller send en e-mail til:

Hilde Balling
Sundhedsstyrelsen
Axel Heides Gade 1
2300 København S
tlf. 72 22 74 00, lokal 77 76
fax 72 22 74 11
e-mail hib@sst.dk

<http://miljoogsundhed.sst.dk>

også hvis du bare har en god idé!