

9. marts 2021

SCREENING AF FORSKNINGSINDSATS I 2020 - STATUS FRA Center for Hormonforstyrrende Stoffe (CEHOS)

Forskningsaktiviteter inden for allergi, hormonforstyrrende stoffer og kemi i fødevarer finansieret af Ny Fælles Kemiindsats 2018-2021

Centerets hovedaktiviteter og finansiering

Center for Hormonforstyrrende Stoffe (CEHOS) er finansieret under 'Ny Fælles kemiindsats 2018-21' med formålet at indsamle og opbygge viden målrettet myndighedernes forebyggende arbejde inden for området hormonforstyrrelser og hormonforstyrrende stoffer i mennesker og dyreliv. CEHOS er et tværfagligt samarbejde mellem Afdeling for Vækst og Reproduktion på Rigshospitalet, Fødevarerinstitutionen ved Danmarks Tekniske Universitet (DTU) og Biologisk Institut ved Syddansk Universitet (SDU). CEHOS er i både national og international sammenhæng en unik konstruktion, der fungerer som bindeled og koordinator imellem myndigheder og forskningsgrupper indenfor human sundhed og miljø.

Centerets aktiviteter i 2020 har bl.a. fokuseret på undersøgelse af nye mekanismer, hvormed udefrakommende kemikalier kan påvirke kroppens egne hormonsystemer, inkl. kortlægning af hidtil oversete eller uerkendte måder, hvorpå kemikalier er hormonforstyrrende, f.eks. effekter direkte på humane sædceller og foster/stamceller. Viden om virkningsmåder er helt afgørende for udvikling af nye testmetoder til at identificere kemikaliers hormonforstyrrende egenskaber.

Vi har i Centret også udviklet nye testmetoder til identifikation af hormonforstyrrende kemikalier og stofgrupper, bl.a. baseret på sådan viden. Flere af Centrets forskere deltager i europæiske samarbejder om udvikling af nye, samt forbedring af eksisterende, toksikologiske tests til mere effektiv påvisning af kemikaliers hormonforstyrrende egenskaber. Den viden, som opbygges gennem CEHOS projekter, inddrages i disse internationale samarbejder og bidrager således på sigt til en mere finmasket opsporing og regulering af hormonforstyrrende stoffer.

I 2019 kom fire af phthalaterne som de første stoffer med i EU-regulativer pga. deres hormonforstyrrende egenskaber. I takt med at velundersøgte hormonforstyrrende stoffer reguleres erstattes de af andre stoffer – hvoraf nogle også er potentielt hormonforstyrrende om end erstatningsstofferne ofte ikke er velundersøgte. I Centret har vi i 2020 fulgt eksponeringen i befolkningen til udvalgte kendte hormonforstyrrende stoffer og deres erstatningsstoffer for at belyse udfasningen af regulerede stoffer og i hvilken grad, de erstattes af lignende stoffer. Centret har også indsamlet prøver fra familier fra den generelle befolkning mhp. at kunne belyse den nuværende eksponering samt ændringer over tid i befolkningens eksponering til en række hormonforstyrrende stoffer, samt associationer mellem eksponeringer og børns udvikling og trivsel.

Identificerede problemstillinger og mulige indsatser overfor specifikke stoffer/stofgrupper

Stof/stofgruppe 1: Benzophenoner

Baggrund

Benzophenoner er en gruppe kemikalier, med den egenskab at de blokerer UV-lys. De bruges i vid udstrækning i bl.a. tryksværte og klare belægninger i trykindustrien samt i en lang række forbrugerprodukter for at beskytte produkterne mod skadelige effekter af UV-lys. Nogle benzophenoner benyttes også i kosmetik og i solcremer. Human biomonitoring har påvist udbredt udsættelse for især benzophenone-3 og -1 i befolkningen. Flere af benzophenonerne er på de danske myndigheders foranledning inkluderet i EU's Community rolling action plan (CoRAP) og er under udredning for bl.a. deres hormonforstyrrende egenskaber under forskellige EU lovgivninger. Flere af dem er også med på "ED list II" på edlists.org, som er en liste over kemikalier, der mistænkes for at være hormonforstyrrende, men hvor data stadig er mangelfuld.

Vi har i CEHOS fornylig i et studie af raske nyfødte og deres forældre analyseret benzophenoner i urinprøver fra deltagerne og har således målinger fra både far, mor og spædbarn fra over 100 familier. Disse data vil gøre os klogere på befolkningens aktuelle eksponering til denne type UV-filtre. Data kan således benyttes til at undersøge graden af udsættelse for benzophenoner indenfor og mellem familier. Vi har også mulighed for at undersøge, om der er sammenhæng mellem en families udsættelse for benzophenoner og børnenes vækst, trivsel og hormoner under den periode tidligt efter fødslen som kaldes minipuberteten. I minipuberteten er spædbørns kønshormoner aktive over nogle måneder, inden de lukkes ned igen indtil den reelle pubertet starter. Denne tidlige aktivering af kønshormonerne menes at spille en vigtig rolle for børns kønsudvikling senere i livet og kan potentielt forstyrres af hormonforstyrrende kemikalier.

Mulig indsats

For at understøtte de danske myndigheders (Miljøstyrelsen) udredning af benzophenoners mulige hormonforstyrrende egenskaber som input til EU regulering, er der brug for mere data for denne stofgruppe. Både humane studier til at belyse befolkningens udsættelse for stofferne og evt. sammenhænge med børns udvikling og helbred generelt samt laboratorieforsøg kan bidrage til at afdække denne stofgruppes mulige hormonforstyrrende effekter og virkningsmekanismer hos mennesker og i miljøet.

Stof/Stofgruppe 2: Østrogene stoffer inkl bisphenoler og antioxidanterBaggrund

Da man for 30 år siden først blev opmærksom på at nogle kemikalier kunne være hormonforstyrrende, var det især østrogene stoffer, man havde fokus på. Ikke mindst fordi en lang række kemiske stoffer som fx bisphenoler og forskellige typer af antioxidanter har vist at have østrogen aktivitet. En række af de østrogene stoffer er påvist at skade sæd kvaliteten eller hunlig/kvindelig fertilitet, mens andre påvirker udviklingen af brystvæv og prostata og muligvis øger risikoen for bryst- og prostatakæft. Billedet af de sundhedsskadelige effekter hos mennesker og i dyremodeller for nogle af disse østrogene kemikalier er dog ikke altid entydig "østrogenlignende", hvilket tyder på at virkningen af dem er mere kompleks. Disse uklarheder om stoffernes østrogenvirkning har i flere tilfælde gjort det vanskeligt at regulere brugen af disse stoffer. En øget forståelse af, hvordan disse stoffer påvirker den tidlige udvikling af det hanlige og det hunlige reproduktionssystem vil muliggøre, at toksikologiske testmetoder i fremtiden vil være i stand til at udpege de stoffer, der virker hormonforstyrrende ved en østrogen virkemåde. Dette vil også bidrage med såkaldte Adverse Outcome Pathways (forkortet AOP, dvs. kæden af negative følgevirkninger fra kemikaliet's første indvirkning på de molekulære processer over påvirket organ/vævs-funktion til manifestation af sygdom eller anden skadelig effekt) til brug for risikovurdering og regulering af problematiske stoffer.

Mulig indsats

Østrogene kemikalier er et område, hvor vi stadig har brug for mere viden ved at generere og indsamle data om, hvordan de virker og evt. interagerer med kroppens egen hormonproduktion, med andre hormoner, og med andre receptorer end de klassiske østrogenreceptorer. Viden indsamlet fra både dyremodeller, laboratoriemodeller og humane studier kan bidrage til at belyse hvilke testmetoder, der skal til, for at vi fremadrettet kan identificere de skadelige østrogene kemikalier i vores miljø.

Evt. yderligere områder hvor der er identificeret problemstillinger og forslag til mulig indsats**Område 1: Afdækning af hormonforstyrrende stoffers virkningsmekanismer og AOP'er* for hormonforstyrrelser**Baggrund

Langt de fleste kemikalier som bruges i stor udstrækning i dag er aldrig blevet testet for, om de er hormonforstyrrende. Det skyldes bl.a. at følsomme testmetoder til at afsløre kemikaliers hormonforstyrrende effekter først er udviklet gennem de senere år, og for flere typer hormonforstyrrende kemikalier og typer hormonforstyrrelser er der stadig mangel på testmetoder. En afdækning af måder hvorpå kemikalier kan være hormonforstyrrende, og hvordan disse hormonforstyrrende effekter kan føre til skadelige effekter hos mennesker og dyr, er helt afgørende for at kunne bruge denne viden til at udvikle bedre og mere effektive testmetoder til at identificere hormonforstyrrende kemikalier. Denne viden kan opnås ved at kortlægge de såkaldte AOP'er. Denne viden er også grundlag for at kunne forfine computermødelles til afdækning af kemikaliers mulige hormonforstyrrende egenskaber bl.a. med henblik på at reducere brugen af forsøgsdyr. Identifikation af et hormonforstyrrende stof kræver både identifikation af en skadelig effekt (adverse outcome) og den specifikke virkningsmekanisme for stoffet, som fører til den skadelige effekt. Begge dele afdækkes i AOP'er, og derfor bliver udvikling af AOP'er et stadig vigtigere værktøj i udviklingen af testmetoder og dermed reguleringen af hormonforstyrrende kemikalier. Udvikling af AOP'er har også stor betydning i forhold til read-across imellem arter dvs. at vi kan bruge testresultater fra én art til at forudsige effekter i en anden art, og dermed reducere brugen af forsøgsdyr, hvilket er hensigtsmæssigt af både dyreetiske, økonomiske og tidsmæssige årsager. Netop udvikling af AOP'er og read-across er i fokus i både OECD og EU, og CEHOS-partnere deltager i flere internationale forskningsprojekter indenfor områderne. Udviklingen af AOP'er er i en rivende udvikling for mennesker og andre hvirveldyr, og dette udviklingsarbejde er vigtigt med henblik på at identificere følsomme testmetoder og øge read-across, så både antallet af dyreforsøg og de økonomiske omkostninger på sigt kan reduceres. Viden fra humane studier inden for medicin og genetik, f.eks af patienter med hormonsygdomme, spiller også en vigtig rolle i kortlægningen af AOP'er.

Den tiltagende biodiversitetskrisen omfatter i særdeleshed de hvirvelløse dyr (f.eks. insekter, orme, snegle, muslinger), og kemikalier er mistænkt for at være en medvirkende årsag. Selvom 95% af klodens dyrearter er hvirvelløse dyr, er viden om kemikaliers effekter på disse meget mangelfuld og kun få AOP'er er udviklede. Der er et stort behov for også at øge forståelsen for den basale biologi inkl. den hormonelle regulering og udvikle AOP'er for hvirvelløse dyr. En større forståelse og udvikling af hormonrelaterede AOP'er for hvirvelløse dyr kan både være et vigtigt kort ift. at afhjælpe biodiversitetskrisen og muligvis på sigt give mulighed for read-across/tidlig advarsel fra hvirvelløse dyr til hvirveldyr for nogle typer af konserverede hormonsystemer, hvorved antallet af forsøg med hvirveldyr kan reduceres og dermed også omkostningerne til tests, idet hvirvelløse dyr har markant kortere livscyklus.

Indenfor risikovurdering af kemikalier er der generelt en erkendelse af at flere humant-baserede modeller til at teste for skadelige effekter af kemikalier er nødvendige for bedre at kunne beskytte befolkningen. Dette skyldes primært de mange stoffer, som vi mangler data på, samt en erkendelse af at dyreforsøg ikke altid forudsiger effekter i mennesker. Derfor er der et meget stort behov for at erstatte eller supplere de nuværende forsøg på rotter med fx humane celle- og computermødelles

I CEHOS har vi gennem de senest år udviklet og benyttet flere forskellige nyskabende testmodeller til at undersøge kemikaliers virkningsmekanismer på vigtige hormonsystemer. Disse inkluderer bl.a.:

- Nyudviklet cellemodel baseret på 3-dimensionelle kulturer af humane stamceller, der efterligner et tidligt humant foster. Cellemodellen kan bruges til at afsløre kemikaliers effekt på fosterudviklingen.
- Cellemodel baseret på humane sædceller for testing af kemikaliers effekter på sædcellemotilitet og funktion
- Vævskulturmodel baseret på humant testikelvæv for testning af kemikaliers effekter på funktionen af testikelceller, herunder de celler som er ansvarlige for dannelsen af det mandlige hormon testosteron
- Organkultur (ex vivo) baseret på gnavere, inkluderet testikler, ovarier, adrenal og thryoidea
- Model for udvikling af øje og svømmeblære, to skjoldbruskkirtelhormon-følsomme endemål, i zebrafisk for test af kemikaliers påvirkning af skjoldbruskkirtelhormonsystemet

Resultat fra disse modeller er direkte anvendelige til udvikling af nye testmetoder og bør opprioriteres.

Mulig indsats

Den fortsatte prioritering af udvikling af nye testmetoder for hormonforstyrrende stoffer er afgørende for at kunne beskytte befolkningen mod de skadelige effekter af hormonforstyrrende stoffer. Som en del af dette er afdækning af virkningsmekanismer og kortlægning af AOP'er afgørende for at skabe grundlaget for udvikling af bedre testmetoder og dermed for identifikation og regulering af de mest skadelige hormonforstyrrende stoffer i vores miljø. Danmark har en stærk position på området, som bør fastholdes og understøttes.

Flere af de testmodeller, som er udviklet i CEHOS projekter har potentialet til at blive videreudviklede til at indgå i fremtidige strategier for testning af hormonforstyrrende egenskaber.

**Adverse Outcome Pathways (AOP): beskrivelse af kæden af følgevirkninger fra kemikaliet's første indvirken på de molekulære processer over påvirket organ/vævs-funktion til manifestation af sygdom eller anden skadelig effekt*

Område 2: Risikovurdering af kombinationseffekter

Baggrund

Der er videnskabelig enighed om, at der i risikovurdering skal tages hensyn til effekten af kemiske blandinger og disse skal integreres mere generelt i kemiske risikovurderinger. Dette er også nævnt i EU Kommissionens nye Kemikaliestrategi. Det er vigtigt, at en samlet risikovurdering af flere stoffer ikke foretages på et for snævert grundlag. I øjeblikket bliver risikovurdering af kombinationseffekter kun foretaget for stoffer af samme type eller med samme virkemåde, f.eks. for gruppen af phtalater med samme virkemåde eller for dioxiner og PCB'er med samme virkemåde. Der er dog brug for værktøjer, eller pragmatisk tilgang, til at foretage en samlet mix-risikovurdering af grupper af kemikalier med effekt på samme AOP, uden at begrænse mix-risikovurdering til stoffer med samme molekulære mekanisme. Et fokus på AOP'er i risikovurdering af kombinationseffekter giver information om hvilke stoffer som bør risikovurderes sammen, samt giver bedre mulighed for brug af både in vitro/screening data og in vivo effekt data, så også stoffer med lille datatilgængelighed inkluderes i en samlet risikovurdering.

Mulig indsats

Et vigtigt indsatsområde er at arbejde mod at en 'ramme' for risikovurdering af kombinationseffekter af hormonforstyrrende stoffer introduceres i REACH og anden EU lovgivning, f.eks. ved indførelse af MAF (Mix assessment factors) og forskningsbaseret rådgivning i, hvordan man bedst kan gruppere relevante stoffer med hensyn til kombinationseffekterne. Kortlagte AOP'er kan blive vigtige for denne indsats (se også indsatsområde 1).

Område 3: Fra far til søn: Nedarvning af hormonforstyrrelser

Baggrund

En sædcelle består primært af mandens arvemasse. Da en far "kun" bidrager til en ny generation med en sædcelle, har man hidtil troet at mandens bidrag til næste generation var rent genetisk. Et stigende antal studier i modelorganismer, som mus og fluer, indikerer dog, at eksponeringer og livsstil kan nedarves fra faren uafhængigt af arvemassen. Det er således vist, at sædceller under deres udvikling optager små stykker RNA, som føres med over i det befrugtede æg. Disse små stykker RNA kan have en fysiologisk effekt på de efterfølgende generationer. Et studie har således vist, at sædceller i mus, der fik en fedtholdig diæt, optog i bitestiklerne specifikke små RNA'er og at disse påvirkede næste generations risiko for at udvikle diabetes. Faktisk kunne man få næste generation til at udvikle diabetes ved blot at sprøjte disse specifikke små stykker RNA ind i et befrugtet æg, som stammer fra en mor og far mus, der har fået en normal diæt. Med andre ord, så kan fars livsstil, gives videre til næste generation uafhængigt af arvemassen. Dette gælder også hormonforstyrrende stoffer. Flere studier har vist transgenerationelle effekter ved eksponering til hormonforstyrrende stoffer i mus, men studier i mennesker eksisterer ikke endnu og er svære at gennemføre pga. den lange generationstid.

På Rigshospitalets afd. for Vækst og Reproduktion har vi i en fødselskohorte fulgt mor, far og barn fra det tidspunkt, hvor mor var gravid og indtil i dag, hvor børnene er 19-23 år. Vi har allerede målt flere kemikalier i prøver fra mor og barn indsamlet på forskellige alderstrin og har netop under CEHOS indsamlet sædprøver fra både far og søn. Vi ønsker at bruge denne eksisterende ressource til at teste 1) om der kan findes små RNA'er i sønnernes sædceller som er associeret til niveauer af hormonforstyrrende stoffer og 2) om nogle af disse små RNA'er også kan findes hos deres

fædre. Vi har allerede indsamlet omkring 260 sædprøver fra sønner og 90 fra fædre og er i stand til at analysere deres indhold af små RNA'er. Med resultaterne håber vi at kunne svare på, om eksponering til hormonforstyrrende stoffer kan ændre indholdet af små RNA'er i sædceller, og om dette kan nedarves fra far til søn. Hvis dette er tilfældet, vil det kunne forårsage en hidtil uopdaget akkumulering af effekter forårsaget af eksponering for hormonforstyrrende stoffer i befolkningen.

Mulig indsats

Videregivelse af miljøeffekter fra far til afkom via sammensætningen af små RNAer i sædceller er en mulig hormonforstyrrende virkningsmekanisme med alvorlige konsekvenser, som man først fornylig er blevet opmærksom på. Forskning i arvelighed af miljøeffekter er et indsatsområde, som bør prioriteres.