

10. februar 2022

SCREENING AF FORSKNINGSINDSATS I 2021 - STATUS FRA Center for Hormonforstyrrende Stoffer (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 Stoffer (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, Fødevareinstituttet 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 2018-2021 har bl.a. involveret:

- Undersøgelser i laboratorie- og dyreforsøg, samt mennesker målrettet øget forståelse af, hvordan kemikalier kan virke hormonforstyrrende og derved forårsage negative helbredseffekter. Opbygning af viden til udvikling af såkaldte Adverse Outcome Pathways (AOPs).
- Udvikling af nye metoder til identifikation og karakterisering af kemikaliers hormonforstyrrende egenskaber; metoder som er afgørende for at hurtigere kunne identificere hormonforstyrrende stoffer mhp. efterfølgende regulering.
- Karakterisering af udvalgte kemikaliers hormonforstyrrende egenskaber i laboratoriet. Vigtig information for fare- og risikovurdering af bl.a. svampemidler (azol fungicider), kemiske UV-filtre, flammehæmmere, nye erstatningsstoffer for bisfenol A og perfluorede stoffer (PFAS).
- Udførelse af befolkningsundersøgelser med indsamling af prøver mhp. biomonitering af befolkningens udsættelse for hormonforstyrrende stoffer.
- Udvikling af nye metoder til at måle menneskers udsættelse for udvalgte hormonforstyrrende stoffer vha. biomonitering, samt kortlægning af den danske befolknings udsættelse for hormonforstyrrende stoffer ved måling i blod og urin inkl. ændringer over tid som følge af regulering for og oplysning om bl.a. forskellige ftalater og bisfenoler.
- Kortlægning af eksisterende viden om udvalgte kemikaliers hormonforstyrrende egenskaber ved systematisk gennemgang af litteraturen mhp. identifikation af videnshuller og risikovurdering.
- Undersøgelser af om eksisterende testmetoder med akvatiske padder beskytter semi-akvatiske paddearter i Danmark

Identificerede problemstillinger og mulige indsatser overfor specifikke stoffer/stofgrupper

Stof/stofgruppe 1: Azol-fungicider

Baggrund

Azol-fungicider repræsenterer en særskilt gruppe hormonforstyrrende stoffer. De bruges verden over som pesticider og biocider til at bekæmpe svampeinfektioner, men også i medicin til dyr og mennesker med samme formål. De mest potente azolfungicider gives kun på recept, men nogle kan også købes som håndkøbsmedicin uden recept. Ny forskning har sat spørgsmålstegn ved, hvor sikkert dette er for gravide kvinder, da eksponering muligvis kan skade fosteret under udviklingen.

Et større antal azoler kan påvirke de enzymer, der producerer steroidhormoner - både i svampe og dyr. De samme enzymer producerer også hormoner i mennesker, så eksponering for azoler kan forstyrre for eksempel dannelsen af kønshormonerne i kroppen. Dette kan have særligt alvorlige konsekvenser, hvis eksponering sker under fosterudviklingen, og kan lede til forskellige reproduktionsskadelige effekter - især hos drengebørn. Tidligere undersøgelser har da også vist en mulig sammenhæng mellem eksponering af gravide kvinder og undervirilisering af drengebørn, men disse data er fremdeles usikre og præliminære, og bør efterprøves i nye studier.

Ud over at forstyrre hormonbalancen, er det også vist, at azoler kan forstyrre andre vigtige signaleringsveje under udviklingen med livsvarige effekter til følge, skulle eksponeringen have fundet sted på kritiske udviklingsstadier. Det er således vigtigt, at vi får en bedre forståelse af, hvilke skadelige effekter azoler kan forårsage i mennesker og samtidig undersøge, hvordan og gennem hvilke mekanismer disse effekter opstår. Dette er nødvendigt, hvis vi skal kunne beskytte menneskers sundhed ved brug af de testmetoder, som er tilgængelige i internationale programmer såsom OECD Test Guidelines. Vi kan bedst opnå den

nødvendige viden ved at kombinere human epidemiologi og biomonitorering med toksikologiske forsøg i rotter, herunder ved brug af avancerede laboratoriemetoder for at dechiffrere detaljerede mekanismer under udviklingen, der kan forstyrres af specifikke azoler.

Mulig indsats

Gennem et tværfagligt projekt, som både indrager undersøgelser af gravide kvinder, dyreforsøg og laboratorie-testmetoder, ønsker partnerne bag CEHOS at belyse effekter af azol-fungicider på især drengefostres virilisering og gennem hvilke virkningsmekanismer, disse effekter opstår.

Ved EDMaRC, Rigshospitalet har vi gennem de sidste to år i det såkaldte COPANA studie etableret en mor-barn kohorte. Hos kvinder er standardbehandling af Candida vaginitis (skedesvamp), som forekommer med en højere frekvens hos gravide, lokalbehandling med imidazoler (f.eks. Clotrimazol (Brentan®), Miconazol) (Canesten®). I sværere tilfælde anvendes peroral (systemisk) behandling med Fluconazol (Diflucan®, enkelt dosis). I COPANA projektet registreres vha ugentlig elektronisk indrapportering brug af Clostrimazol eller, Miconazol (vaginal applikation) samt brug af systemisk applikation af Fluconazol i løbet af graviditeten. Også andet medicinforbrug registreres. Desuden indsamles urinprøver, som kan analyseres for forekomst af en række hormonforstyrrende stoffer i de gravide kvinder, inkl. rester af azol-fungicider benyttet som svampemidler på frugt og bær. Fosterets ano-genitale afstand (AGD), som er et mål for virilisering af fostret, registreres i uge 30 og postnalt ved en kliniske undersøgelse, hvor der også tages blodprøve mhp måling af reproduktionshormoner.

Ved DTU, Fødevareinstituttet vil effekterne af fluconazol undersøges i gravide rotter og deres afkom. Vi har også for nyligt vist, at Clotrimazol er hormonforstyrrende ved doser ellers antaget som sikre for mennesker. Forskellige testmetoder til at afdække virkningsmekanismer i laboratoriet vil også blive inddraget. Effekter på steroidproduktionen vil undersøges ved måling af steroidhormoner vha. følsomme masse-spektrometri analyser.

Evt. yderligere områder hvor der er identificeret problemstillinger og forslag til mulig indsats

Område 1: Afdækning af hormonforstyrrende stoffers virkningsmekanismer og udvikling af AOP'er for hormonforstyrrelser

Dette var et identificeret fokusområde også i 2019 og 2020. Men det er fortsat et utrolig vigtigt igangværende indsatsområde, som er helt afgørende for at udvikle metoder som bredere og hurtigere kan identificere hvilke kemikalier, der har hormonforstyrrende egenskaber; både blandt eksisterende kemikalier, men ikke mindst også i udviklingen af nye kemikalier, som har ønskbare egenskaber uden at være skadelige for sundhed og miljø. Dette er en forsknings- og udviklings-opgave, som vil være aktuel også i årene fremover og som bør have høj prioritet.

Baggrund

Der er forskellige måder, hvorpå kemikalier kan være hormonforstyrrende. Nogle af måderne, eller virkningsmekanismer, er velkendte. Gennem de senere år, er der udviklet en række testmetoder, som kan afsløre om kemikalier virker hormonforstyrrende gennem disse velkendte virkningsmekanismer. Der opdages dog løbende nye måder, hvorpå kemikalier kan forstyrre de naturlige hormoner funktion. Mange gange er disse nyopdagede virkningsmekanismer ikke særlig velbeskrevet og der findes oftest ingen testmetoder til at screene kemikalier for, om de kan interagere med hormonsignaler via dem.

Det er vigtigt at få belyst nye virkningsmekanismer og at undersøge om kemikalier kan medføre skadelige effekter hos mennesker og dyr via disse nyopdagede virkningsmekanismer. Dette undersøges fortrinsvis i vævs- og cellemodeller i laboratoriet, men dyreforsøg kan også være nødvendige. Den viden, som opbygges, bruges til at opbygge såkaldte Adverse Outcome Pathways (forkortet AOP, dvs. kæden af negative følgevirkninger fra kemikaliets første indvirkning på molekylære processer over påvirket organ/vævs-funktion til manifestation af sygdom eller anden skadelig effekt). Klassificering af et kemikalie som værende hormonforstyrrende, kræver både identifikation af en skadelig effekt (adverse outcome) og at denne skadelige effekt opstår via en virkningsmekanisme som påvirker hormonsystemet. Begge dele afdækkes i AOP'er, som derfor er et stadigt vigtigere værktøj til identifikation og dermed regulering af hormonforstyrrende kemikalier. Som nævnt udvikles AOP'er via forskning i laboratoriet, men viden fra humane studier inden for medicin og genetik, f.eks af patienter med hormonsygdomme, så vel som fra studier på dyrelivet, spiller også en vigtig rolle i opbygningen af AOP'er. Det kræver således et tværfagligt

samarbejde som CEHOS, hvor AOP'er udvikles og derefter bringes til godkendelse i OECD, hvor de benyttes som støtte til identifikation af hormonforstyrrende stoffer

Som nævnt i større detalje i CEHOS 2020 notatet har vi i CEHOS gennem de senest år udviklet og benyttet en række nyskabende laboratiemodeller til at undersøge kemikaliers virkningsmekanismer på vigtige hormonsystemer.

Mulig indsats

Den fortsatte prioritering af udvikling af nye testmetoder for hormonforstyrrende stoffer er afgørende for at kunne beskytte befolkningen og miljøet 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. Partnerne i CEHOS har mangeårig erfaring indenfor grundlæggende forskning som bidrager til udvikling af nye testmetoder for hormonforstyrrende effekter. Ligeledes har vi i Centret erfaring i udvikling og validering af testmetoder, som indgår i OECD-arbejdet og som i de senere år er blevet en vigtig del af EU's regulering af hormonforstyrrende stoffer.

Område 2: Human biomonitoring – udvikling og etablering af nye målemetoder til identifikation af "emerging chemicals of concern"

Baggrund

Den almindelige befolkning udsættes dagligt for et væld af menneskeskabte kemikalier, der findes i fødevarer, dagligvarer, byggematerialer etc. Human biomonitoring, dvs at måle efter problematiske kemikalier i prøver fra mennesker for at få et mål for i hvor høj grad befolkningen udsættes for stofferne, har i dag især fokus på de kemikalier, som vi allerede ved eller formoder er hormonforstyrrende. Dels fordi de metoder, som bruges, oftest er udviklet til måling af enkelte stoffer/stofgrupper og dels fordi det er relativt dyre analyser, som derfor oftest begrænses til udvalgte kemikalier. Men denne fremgangsmåde betyder også, at vi ikke har det fulde overblik over, hvilke blandinger af kemikalier befolkningen er udsat for, og om der i denne blanding kan være hormonforstyrrende stoffer, som vi ikke er opmærksomme på og derfor har meget ringe viden om.

I stedet for kun at måle befolkningens udsættelse for enkelte udvalgte kemikalier, har den teknologiske udvikling i dag gjort det muligt at udvikle metoder til at screene for alle kemikalier, der findes i individuelle menneskelige prøver vha. højopløselig analytisk kemi i såkaldte non-target eller suspect screening metoder. De resulterende kemiske "fingeraftryk" kan bruges til at identificere kemikalier, som kan være hormonforstyrrende, men som vi ikke har været opmærksomme på tidligere (chemicals of emerging concern), især hvis de kemiske data kan kobles til helbredsdata. Non-target screening metoderne erstatter ikke de mere specifikke metoder, men vil være et værktøj til at prioritere hvilke stoffer/stofgrupper der efterfølgende bør fokuseres på.

Mulig indsats

Vi bør i Danmark udvikle kapacitet til at udføre non-target og suspect screening i forbindelse med human biomonitoring. Man kan med fordel bygge på den erfaring, man allerede er i gang med at opbygge mht. non-target screening af f.eks. vandprøver, til at overføre teknologien også til humane prøver. I denne forbindelse er det også vigtigt med adgang til biobanker af humane prøver, hvor der også er tilknyttet persondata relateret til livstils- og helbredsdata, der kan knyttes til hormoneffekter.

Område 3: Epigenetik og transgenerationelle effekter

Baggrund

Stadig flere og flere studier peger på at eksponering til hormonforstyrrende stoffer kan medføre eller er associeret til ændringer i epigenetiske mønstre. Epigenetik beskriver kemiske modifikationer af arvemassen, som er med til at kontrollere hvordan arvemassen udtrykkes og disse modifikationer kan nedarves gennem generationer. Således er der god evidens fra studier i mus, at ændringer i epigenetiske mønstre ses selv i 3. generation efter en eksponering, samt at disse epigenetiske mønstre kan kobles til fysiologiske ændringer som f.eks. overvægt og nedsat reproduktion. Disse dyrestudier viser altså klare transgenerationelle effekter af hormonforstyrrende stoffer. Studier i mennesker er dog meget kompliceret

da eksponeringen ikke kan isoleres til enkelte stoffer og generationstiden er meget lang. Enkelte studier i mennesker tyder dog på at samme transgenerationelle effekter også kan findes hos mennesker.

Mulig indsats

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) epigenetiske mønstre i blod fra far og søn og associere disse til eksponeringsniveauer (allerede målt), 2) om der kan findes små RNAer i far og søns sædceller som er associeret til niveauer af hormonforstyrrende stoffer. Vi har allerede indsamlet omkring 260 sædprøver fra sønner og 90 fra fædre og er i stand til at analysere både epigenetiske mønstre og små RNAer. Med resultaterne håber vi at kunne svare på om eksponering til hormonforstyrrende stoffer kan associeres til ændringer i epigenetiske mønstre som nedarves fra far til søn. Hvis dette er tilfældet, vil det kunne forårsage en hidtil uopdaget bioakkumulering af epigenetiske effekter, og tilhørende fysiologiske ændringer, forårsaget af eksponering for hormonforstyrrende stoffer i befolkningen.

Videregivelse af miljøeffekter fra far til søn via epigenetik er en mulig hormonforstyrrende virkningsmekanisme med alvorlige konsekvenser, som man først fornylig er blevet opmærksom på. Forskning i arvelighed af miljøeffekter er kompliceret, men er et indsatsområde, som bør prioriteres.