

---

# miljø og sundhed

Sundhedsstyrelsens Rådgivende Videnskabelige Udvalg for Miljø og Sundhed

Formidlingsblad 25. årgang, nr. 1, maj 2019

---

Læs om

Kulstofnanorørs fysisk-kemiske egenskaber og lungeinflammation

Sædkvalitet og udsættelse for kulstofpartikler i nanostørrelse

Direkte effekter af kemikalier på humane sædceller

Ni "nye" hormonforstyrrende stoffer

Ph.d.-afhandling om parfumeallergi

Ph.d.-afhandling om kort kontakt med nikkel og nikkelallergi

Nyt nordisk netværk om mikroplast

Se også

Kalender 2019-2020

---

---

## Indhold

Kulstofnanorørs fysisk-kemiske egenskaber forudsiger langvarig inflammation i lungerne på mus.....	3
Sperm quality and airway exposure to carbon-based particles and nanomaterials .....	11
Direkte effekter af kemikalier på humane sædceller .....	17
Ni ”nye” hormonforstyrrende stoffer identificeret, men hvor mange er der? <i>The answer is blowin’ in the wind</i> .....	29
Ph.d.-afhandling omhandlende parfumeallergi .....	39
Nikkelallergi: betydning af kort gentagen hudkontakt .....	42
NordMar Plastic: Et nyt nordisk netværk om mikroplast.....	47
Nyheder .....	48
Kalender 2019-2020.....	52

## 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:

Ulla Vogel (ansv)  
Katrín Vorkamp  
Hilde Balling

25. årgang, nr. 1, maj 2019.

Eftertryk mod kildeangivelse.

ISSN elektronisk 1901-4146  
<http://miljoogsundhed.sst.dk/blad/ms1901.pdf>

## Kemiske stoffer igen, igen.....

Trine Berthing et al. skriver om vævsskader i lungerne hos mus efter langvarig udsættelse for kulstofnanorør.

Astrid Skovmand et al. har undersøgt, om udsættelse af voksne mus, herunder drægtige mus, for kulstofpartikler påvirker sædkvaliteten hos hanmus, som enten blev udsat i fostertilstanden eller som voksne mus.

Anders Rehfeld har undersøgt over 100 kemiske stoffers direkte effekter på humane sædceller, herunder stoffer som pesticider ftalater, parabener og kemiske UV-filtre.

Ulla Hass og Sofie Christiansens gennemgang af kemiske stoffer, mistænkt for hormonforstyrrende effekter, finder solidt belæg for hormonforstyrrende effekt hos ni stoffer og estimerer, at der kan være flere end 1.000 hormonforstyrrende stoffer.

Niels Bennike beskriver resultaterne af sin Ph.d. afhandling om parfumeallergi. Malin Ahlström har i sin afhandling undersøgt betydningen af kort gentagen hudkontakt for udvikling af nikkelallergi.

Disse seks artikler og Katrin Vorkamps og Jakob Strands beskrivelse af det nye nordiske netværk om mikroplast viser, at der er behov for et vedvarende fokus på mulige skadelige virkninger af kemiske stoffer, hvad enten vi udsættes for dem i mad, vand og luft eller i boligen og på arbejdspladsen.

Samtidigt viser mange af artiklerne, at der kun er undersøgt en lille del af de kemiske stoffer, som vi udsættes for. Vil vi nogensinde nå dertil, at der ikke er flere kemiske stoffer at skrive artikler om?

På spørgsmålet om, hvor mange stoffer, der er hormonforstyrrende citerer forfatterne, der har identificeret ni nye hormonforstyrrende stoffer, Bob Dylans ”Blowing in the wind”. Lad det også være svaret på ovenstående spørgsmål.

Tak til forfatterne og god læselyst til læserne!

Hilde Balling

---

---

# Kulstofnanorørs fysisk-kemiske egenskaber forudsiger langvarig inflammation i lungerne på mus

Af Trine Berthing<sup>1</sup>, Sarah Søs Poulsen<sup>1</sup>, Kristina Bram Knudsen<sup>1</sup>, Petra Jackson<sup>1</sup>, Alicja Mortensen<sup>1</sup>, Nicklas Raun Jacobsen<sup>1</sup>, Vidar Skaug<sup>2</sup>, Józef Szarek<sup>3</sup>, Karin Sørig Hougaard<sup>1,6</sup>, Henrik Wolff<sup>4</sup>, Håkan Wallin<sup>2</sup>, Ulla Vogel<sup>1,5</sup>

---

Set fra et teknisk perspektiv, så er kulstofnanorør et af de mest lovende og brugbare nanomaterialer på markedet, men sundhedsmæssigt er de et af de mest bekymrende. Kulstofnanorør kan have meget forskellige fysisk-kemiske egenskaber. Tidligere studier viser, at typen og graden af deres akutte lungetoksiske effekter afhænger af deres fysiske og kemiske opbygning. I et nyligt publiceret studie har vi valgt at fokusere på kroniske lunge-toksiske effekter. Her undersøger vi, om kulstofnanorør giver langvarige vævsskader i lungerne og om disse, ligesom med akutte effekter, kan forudsiges ud fra kulstofnanorørens fysisk-kemiske egenskaber.

## Introduktion

Kulstofnanorør består af sammenrullede grafenplader. Selvom de kan være op til flere millimeter lange, så er de klassificeret som nanomaterialer, da de har en diameter på under 100 nm. På grund af deres lange og tynde struktur, mekaniske styrke og elektriske og

termiske egenskaber bliver de allerede brugt i bl.a. sportsudstyr, fladskærme, vindmøllevinger og i mikroskoper. Kulstofnanorør bliver ofte kategoriseret på baggrund af antallet af sammenrullede grafenplader - enten som enkeltvæggede, dobbeltvæggede eller flervæggede kulstofnanorør. Antallet af vægge har betydning for deres diameter og dermed deres fysiske fremtoning. Kulstofnanorør med stor diameter vil oftest have en fiberlignende struktur, som kan minde om stukturen hos asbest. Det frygtes derfor, at udsættelse for disse typer kulstofnanorør kan give skader i lungerne, som er sammenlignelige med de effekter, man ser efter udsættelse for asbest. Faktisk har én bestemt type fiberlignende kulstofnanorør vist sig at give kræft i rotter ved indånding, og den er derfor klassificeret som muligvis kræftfremkaldende for mennesker (1,2). Derudover har vi også i tidligere forsøg vist, at kulstofnanorørens diameter var vigtig for deres genotoksiske potentiale i mus - jo større diameter, desto mere DNA-skade blev der observeret (3).

På baggrund i disse resultater kunne man forestille sig, at kulstofnanorør med små diametre og dermed en mere krøllet struktur var sikre for mennesker at håndtere. Desværre har det vist sig, at kulstofnanorør med små diametre i højere grad end fiberlignende nanorør giver inflammation og akutfaserespons i lungen (3,4). Dette kan skyldes deres relative større overfladeareal i forhold til de tykkere fiberlignende kulstofnanorør. Både inflammation og akutfaserespons øger risikoen for at udvikle hjerte-kar-sygdomme. Udover deres fysiske fremtoning, så kan kulstofnanorør også variere i kemisk sammensætning. Blandt andet type og

---

<sup>1</sup> Det Nationale Forskningscenter for Arbejdsmiljø, Lersø Parkallé 105, 2100 København Ø.

<sup>2</sup> National Institute of Occupational Health, Oslo, Norge.

<sup>3</sup> Department of Pathophysiology, Forensic Veterinary Medicine and Administration, University of Warmia and Mazury in Olsztyn, Olsztyn, Polen.

<sup>4</sup> Finnish Institute of Occupational Health, Helsinki, Finland.

<sup>5</sup> DTU Sundhedsteknologi, DTU, 2800 Kgs. Lyngby.

<sup>6</sup> Institut for Folkesundhedsvidenskab, Københavns Universitet, København K.

Tabel 1. Fysisk-kemisk karakterisering af de 11 udvalgte kulstofnanorør

Kulstof-nanorør	Type	Manufacturer/ Distributor	Product Code	Carbon <sup>a</sup> (%)	Length <sup>b</sup> (µm)	Diameter <sup>b</sup> (nm)	BET <sup>c</sup> (m <sup>2</sup> /g)	CEA:O <sup>d</sup> mmol/g	OH <sup>e</sup> mmol/m <sup>2</sup>	COOH <sup>e</sup> mmol/m <sup>2</sup>
NM-400	Pristine	OECD WPMNM	JRCNM04000a	94.8	0.85±0.10	11±3	254	0.81 ±0.02	0.0032	0.0016
NM-401	Pristine	OECD WPMNM	JRCNM04001a	99.7	4.0±0.37	67±24	18	0.03 ±0.001	0.0017	0.0011
NM-402	Pristine	OECD WPMNM	JRCNM04002a	96.1	1.4±0.19	11±3	226	0.28 ±0.01	0.0012	0.0006
NM-403	Pristine	OECD WPMNM	JRCNM04003a	99.1	0.4±0.03	12±7	135	0.19 ±0.01	0.0014	0.0007
NRCWE-006	Pristine	Mitsui/Hadogaya	XNRI MWNT-7	99.6	5.7±0.49	74 (29-173)	26	0.08 ±0.003	0.0031	0.0015
NRCWE-040	Pristine	Cheaptubes	sku-030102	98.6	0.52±0.59	20.56±6.9	150	0.35 ±0.01	0.0023	0.0012
NRCWE-041	OH	Cheaptubes	sku-030202	99.2	1.0±2.95	26.38±11.1	152	1.69 ±0.07	0.0110	0.0056
NRCWE-042	COOH	Cheaptubes	sku 030302	99.2	0.72±0.97	20.5±5.32	141	4.09 ±0.20	0.0290	<b>0.0069</b>
NRCWE-046	Pristine	Cheaptubes	sku-030111	98.7	0.72±1.2	17.2±5.8	223	0.63 ±0.03	0.0028	0.0014
NRCWE-047	OH	Cheaptubes	sku 030112	98.7	0.53±0.59	12.96±4.4	216	0.26 ±0.01	0.0012	0.0006
NRCWE-048	COOH	Cheaptubes	sku030113	98.8	1.6±5.6	15.08±4.7	185	0.58 ±0.02	0.0031	<b>0.0012</b>
Carbon black	-	Evonik	Printex 90	99.3	-	9	182	1.45 ±0.03		

Yderligere fysisk-kemiske egenskaber er publiceret i Jackson et al. 2015 (14), Poulsen et al. 2016 (3) og Knudsen et al. 2019 (5).

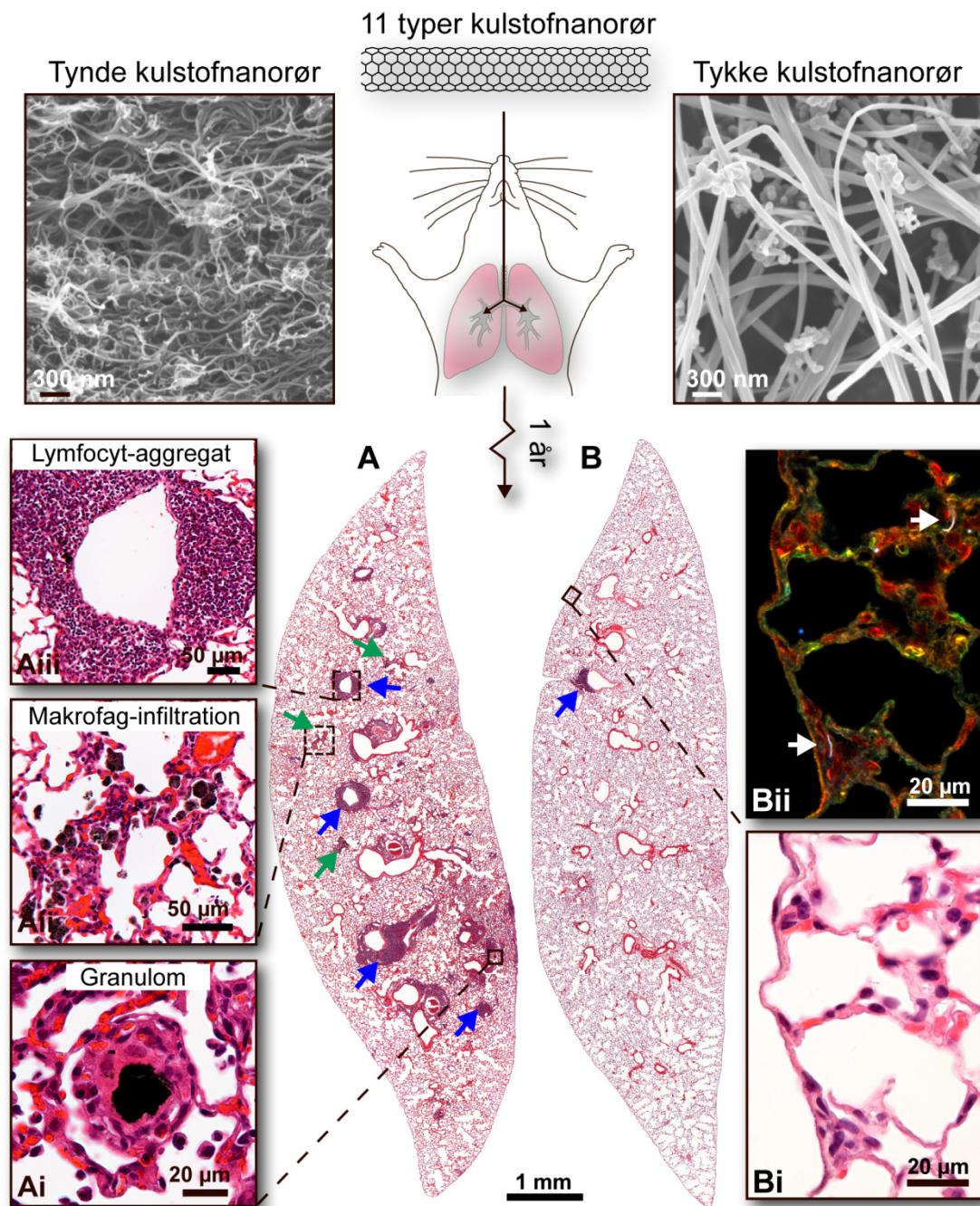
a Kulstof-indhold i vægtprocent

b Dimensioner ±standard afvigelse (SD) målt med elektronmikroskopi.

c Brunauer-Emmett-Teller (BET) analyse af specifik overfladeareal

d Total oxygen-indhold ± ~95 % konfidensgrænse.

e Estimeret overfladedensitet. COOH overfladedensitet med fed skrift er baseret på syre-base titrering (14).



Figur 1. Vævsforandringer i muselunger et år efter lungedeposering af (A) tynde kulstofnanorør (NM-403) og (B) tykke, nålelignende kulstofnanorør (NRCWE-006/Mitsui MWNT-7). Tynde og korte kulstofnanorør blev observeret som sorte agglomerater i lungevæv et år efter eksponering, hvorimod tykkere og længere kulstofnanorør blev detekteret som enkeltfibre (Bii). De tynde kulstofnanorør forårsagede varierende grad af lungebetændelse, i form af granulomer (Ai), makrofaginfiltration (Aii) og lymfocyttagregater (Aiii), hvorimod de tykke og nålelignende kulstofnanorør ikke gjorde. Regressionsanalyse viste, at større diameter og højere indhold af jern og lavere koboltindhold forudsagde færre histopatologiske forandringer. Figuren er gengivet med tilladelse fra Basic and Clinical Pharmacology and Toxicology.

---

mængde af kemiske overfladeforandringer og metalurenheder fra produktionen kan have betydning for kulstofnanorørens farlighed.

I dette studie har vi valgt at forlænge opfølgningsperioden fra 90 dage, som vi har undersøgt i tidligere studier, til et helt år (5). Det har vi gjort for at få en bedre forståelse af langtidsvirkningen af udsættelse for forskellige typer af flervægede kulstofnanorør via lungerne. Vi vil forsøge at afdække hvilke fysisk-kemiske egenskaber, der påvirker langvarig lungetoksicitet, så producenter kan fremstille mere sikre kulstofnanorør. Slutmålet er, at kulstofnanorørs gavnlige egenskaber kan udnyttes uden at udgøre en helbredsrisiko for de mennesker, der skal arbejde med materialet.

## 11 forskellige udvalgte kulstofnanorør

For at undersøge langtidseffekten af kulstofnanorør med forskellige fysisk-kemiske egenskaber udvalgte vi 11 typer kulstofnanorør, udsatte mus for dem via lungerne (intratrakeal instillation) og fulgte derefter musene i 1 år.

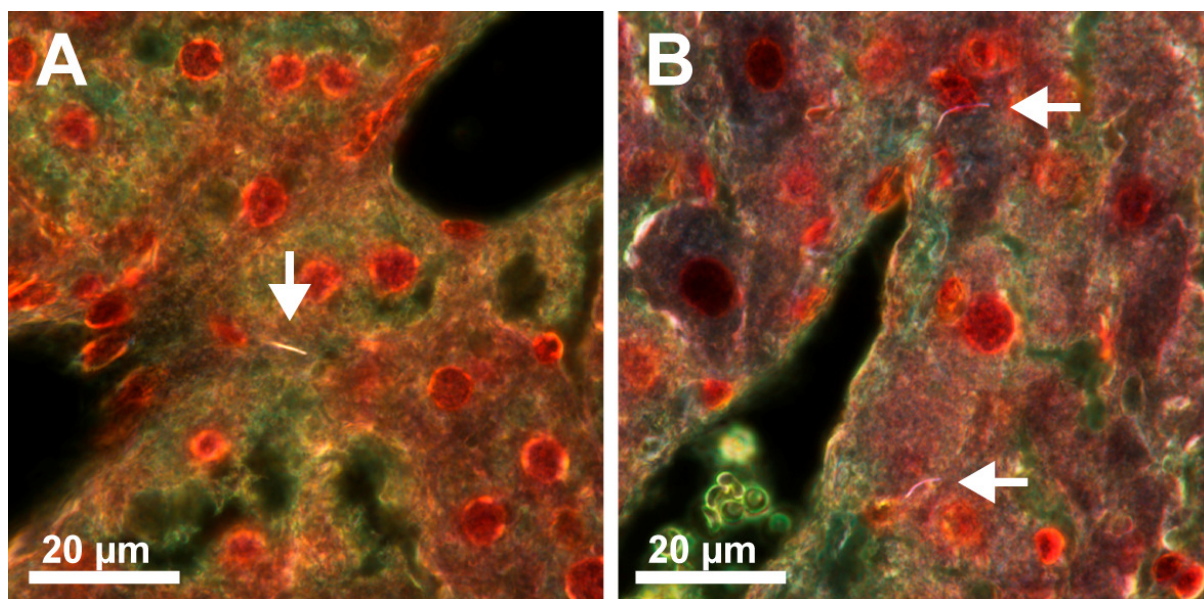
Tabel 1 viser en oversigt over de 11 typer kulstofnanorørs fysisk-kemiske egenskaber. De udvalgte kulstofnanorør repræsenterede et bredt udsnit af fysisk-kemiske egenskaber, herunder størrelse, overfladekemi og metalurenheder. Blandt de kulstofnanorør, som vi inkluderede i forsøget, var der 4 OECD standardmaterialer (NM-400-403) samt den type kulstofnanorør, der er vist at være kræftfremkaldende for rotter (kaldet NRCWE-006 i dette studie). Derudover inkluderede vi 6 typer kommercielle kulstofnanorør fra vores tidligere 90-dages forsøg (NRCWE-040-042 og NRCWE-046-048), som omfattede ubehandlede, hydroxylerede (-OH) og carboxylede (-COOH) kulstofnanorør. NM-401 og NRCWE-006 var tykke, lange og nåleformede (diameter ~70nm, længde ~5µm) med lave niveauer af metalforurening, mens NM-400, NM-402, NM-403 og NRCWE-040-48 var tyndere, kortere og krøllede (diameter ~11-26nm, længde ~1µm). Figur 1 viser elektronmikroskopbilleder af én af de korte og tynde kulstofnanorør NM-403, og én af de tykke og

nålelignende kulstofnanorør NRCWE-006. Derudover inkluderede vi sort pigment (Printex 90) som reference, for at sammenligne kulstofnanorørs toksicitet med en rund, kulstofbaseret nanopartikel med velkendt toksicitet.

## Næsten alle testede kulstofnanorør gav kronisk betændelsestilstand i lungerne efter 1 år

Mus blev udsat for en dosis på 54 µg kulstofnanorør via lungerne, og blev derefter observeret i 1 år. Udsættelsen påvirkede ikke musenes vækst eller overordnede kliniske helbred. Derudover var der også en kontrolgruppe, som ikke blev udsat for kulstofnanorør. Efter 11 måneder blev musenes adfærd testet via deres bevægelsesmønster på en testbane ("Open Field"-test). Testen viste ingen påvirkning af musenes hjernefunktion eller generelle velbefindende.

Et år efter udsættelsen afsluttede vi forsøget, og musenes organer blev undersøgt for vævsforandringer. Figur 1 viser tværsnit af muse-lunger 1 år efter udsættelse for én af de korte og tynde kulstofnanorør NM-403 (Figur 1A), og én af de tykke og nålelignende kulstofnanorør NRCWE-006 (Figur 1B). De fleste tynde typer kulstofnanorør kunne ses i lungen som små sorte klumper optaget i makrofager (Figur 1 Aii) eller som større klumper indkapslet i en skal af makrofager – såkaldte granulomer (Figur 1 Ai). Det var således ikke lykkedes musene at udskille eller nedbryde kulstofnanorørene i løbet af det år, der var gået. Granulomer anses for én af kroppens forsvarsmekanismer mod fremmedlegemer, der hverken kan nedbrydes eller udskilles, men som i stedet afskærmes fra vævet ved at blive indkapslet i celler. Udover granulomer og makrofaginfiltrationer fandt vi ansamlinger af lymfocytter (Figur 1 Aiii), der lå spredt i lungerne og omkring blodkarrene. Dermed viste forsøget, at den langvarige tilstedeværelse af tynde kulstofnanorør forårsagede en kronisk betændelsestilstand i lungerne. Overraskende viste den histopatologiske evaluering, at de to nålelignende kulstofnanorør (NRCWE-006 og



Figur 2. Muselever et år efter lungedeponering af de tykke kulstofnanorør NRCWE-006 (Mitsui MWNT-7) (A) og NM-401 (B). Kulstofnanorør var spredt i leveren som enkeltfibre (hvide pile). H&E-farvet levervæv. Figuren er gengivet med tilladelse fra Basic and Clinical Pharmacology and Toxicology.

NM-401) ikke inducerede vævsforandringer. For de nålelignende kulstofnanorør kunne vi heller ikke finde sorte klumper af materiale. Det antyder, at de to tykke typer kulstofnanorør var blevet udrenset fra lungerne hurtigere end de tynde. Dog kunne vi ved hjælp af en speciel form for mikroskopi se, at de tykke kulstofnanorør ikke var fuldstændigt udrenset, men derimod lå spredt som enkeltfibre i lungevævet (Figur 1Bi-ii). Ud over de spredte fibre i lungerne fandt vi også spredte fibre i leveren (Figur 2), og det tyder derfor på, at en lille del af de kulstofnanorør, der udrenses fra lungerne, spredes til andre organer. Vi fandt dog ingen langvarige vævsforandringer i leveren.

#### Sammenhæng mellem langvarige vævsforandringer og kulstofnanorørs diameter og metalindhold

Vi ønskede at kvantificere graden af vævsforandringer for at fastslå, om der var statistisk signifikante forskelle mellem de forskellige kulstofnanorør. Gradene af vævsforandringer i lungerne blev derfor vurderet per lungetværsnit på en skala fra 0 til 5. 0 blev givet, hvis der

ikke blev observeret forandringer og 5 blev givet for mere end 10 ansamlinger af lymfocytter, mere end 16 granulomer eller, hvis makrofaginfiltrationer optog mere end 50 % af tværsnittets areal. Disse analyser fastslog, at de forskelle, vi havde observeret, også var statistisk signifikante (Tabel 2).

Det næste skridt var at bruge gradueringen til at undersøge, om de fysiske-kemiske egenskaber ved kulstofnanorørene kunne bruges til at forudsige forskellene i vævsforandringerne. Til dette brugte vi to statistiske metoder – multipel regressionsanalyse og logistisk multipel regressionsanalyse - med hvilke vi kunne bestemme effekten af hver enkelt fysisk-kemisk parameter. De fysiske-kemiske egenskaber vi inkluderede var: Overfladeareal, indhold af henholdsvis jern, mangan, magnesium, nikkel og kobolt, diameter, længde og graden af funktionalisering af overfladen. Først var vi dog nødt til at fastslå, om der var parvis afhængighed mellem nogle af egenskaberne, da dette ville påvirke regressionsanalysen.

Tabel 2. Vævsforandringer i muselunger et år efter lungedeponering af 54 µg af 11 forskellige typer kulstofnanorør. Vævsforandringerne er graderet på en skala fra 0-5.

Kulstofnanorør	Gennemsnitlig histopatologisk graduering			Incidens per gruppe	
	Lymfocyt-aggregater	Makrofag-infiltrater	Granulomer	Fibrose <sup>a</sup>	Tumorer <sup>a</sup>
Vehikel kontrol (N=29)	1.3	0.1	0	0/29	0/29
NM-400 (N=10)	2.2	0.3	0	1/10	1/10
NM-401 (N=10)	1.9 <sup>a</sup>	0.2	0	0/10	1/10
NM-402 (N=10)	2.7 <sup>***</sup>	0.8 <sup>***</sup>	0.4 <sup>*</sup>	0/10	0/10
NM-403 (N=9)	3.7 <sup>b</sup> <sup>***</sup>	1.2 <sup>d</sup> <sup>***</sup>	1.44 <sup>***</sup>	1/9	0/9
NRCWE-006 (N=10)	1.2 <sup>c</sup>	0.1	0	0/10	0/10
NRCWE-040 (N=10)	3.3 <sup>***</sup>	0.1	1.8 <sup>***</sup>	0/10	0/10
NRCWE-041 (N=10)	3.2 <sup>***</sup>	0.3	1.1 <sup>***</sup>	0/10	1/10
NRCWE-042 (N=10)	2.2	0.5	0.2	0/10	0/10
NRCWE-046 (N=10)	3.0 <sup>***</sup>	0.5	0.5 <sup>*</sup>	0/10	0/10
NRCWE-047 (N=9)	3.7 <sup>b</sup> <sup>***</sup>	0.6	1.33 <sup>***</sup>	0/9	0/9
NRCWE-048 (N=10)	3.4 <sup>***</sup>	0.6 <sup>*</sup>	1.5 <sup>***</sup>	0/10	0/10
Printex 90 (N=9)	2.6 <sup>**</sup>	0.6 <sup>*</sup>	0	0/9	0/9

\*p < 0.05, \*\*p < 0.01, \*\*\*p < 0.001 statistisk signifikant forskellig fra kontrol-gruppen.

a Statistisk signifikant (p<0.05) lavere lymfocytgraduering sammenlignet med NM-403, NRCWE-040, -047 and -048.

b Statistisk signifikant højere lymfocytgraduering sammenlignet med NM-400, NM-401, NRCWE-006 and -042.

c Statistisk signifikant lavere lymfocytgraduering sammenlignet med NM-402, NM-403, NRCWE-040, -041, -046, -047 and -048.

d Statistisk signifikant højere makrofaggraduering sammenlignet med NM-400, NM-401, NRCWE-006, -040 and -041.

<sup>a</sup>Ingen statistisk signifikant forskel i antal dyr med fibrose eller tumorer.

Vores indledende analyse viste, at der var to grupper af egenskaber, som ikke kunne opdeles: Gruppe 1 inkluderede overfladeareal, diameter, længde og nikkellindhold. I denne gruppe blev kulstofnanorørens diameter valgt som repræsenterende variabel, da den kunne forklare mest af variationen. Gruppe 2 inkluderede indholdet af jern, mangan, magnesium og kobolt (Mn, Mg og Co korrelerede negativt med Fe). I denne gruppe blev kulstofnanorørens jernindhold valgt som repræsenterende variabel. Graden af funktionalisering viste sig at være uafhængig af de andre parametre, så til den multiple regressionsanalyse og logistiske

regressionsanalyse havde vi følgende parametre: Diameter, jernindhold og graden af funktionalisering.

De statistiske regressionsanalyser viste, at mindre diameter og større overfladeareal forårsagede flere vævsforandringer. Dette bekræftede vores observationer fra de kortere dyrestudier. Omvendt fandt vi ikke statistisk betydning af kulstofnanorørens overflademodificeringer. For metalurenheder viste analysen, at et større indhold af jern sammen med et lavere indhold af mangan, magnesium og kobolt gav færre histopatologiske ændringer.



---

Da jern er kendt for at danne skadelige reaktive oxygenforbindelser og mængderne af mangan og magnesium var meget lave, er det mere sandsynligt, at det var mængden af kobolt, der forårsagede toksiciteten. Kobolt er før blevet kædet sammen med skadelige lungeeffekter (6) og er klassificeret som muligvis kræftfremkaldende for mennesker (7).

### Ingen fibrose eller kræft i dette studie

Hos mennesker er kronisk inflammation forårsaget af udsættelse for fibermaterialer en risikofaktor for udvikling af lungekræft og dannelse af arvæv i lungerne (lungefibrose) (8). Flere dyrestudier har vist, at udsættelse for kulstofnanorør via lungerne giver fibrotiske reaktioner (9,10). I denne undersøgelse fandt vi imidlertid kun få og små fibrotiske forandringer i lungerne og ingen i lungehinden. Den dosis af kulstofnanorør, som vi anvendte i denne undersøgelse (54 µg/mus eller ca. 2,9 mg/kg), er lavere end de doser, som blev anvendt i de studier, der rapporterer dannelse af fibrose. Det er således sandsynligt, at der kræves en større dosis for at vurdere kulstofnanorørens evne til at give fibrose. Dosis i vores studie svarer til det tredobbelte af den estimerede lungedosis, der ville akkumuleres i løbet af et helt arbejdsliv ved en grænseværdi anbefalet af NIOSH (0,001 mg/m<sup>3</sup>).

Undersøgelser har vist, at tykke og lange, nåleagtige kulstofnanorør er kræftfremkaldende i rotter (1,11,12,2). Hvorimod en tyndere, kortere og mere krøllet type kulstofnanorør ikke var kræftfremkaldende i et 2-årigt rottestudie, hvor kulstofnanorørene blev deponeret i bughulen (13). Dette er i overensstemmelse med vores tidligere undersøgelser, som sammenkædede tykkere kulstofnanorør med øget genotoksicitet både hos mus og i museceller (14,3). Vores seneste undersøgelse var dog ikke designet til at undersøge for kræftfremkaldende egenskaber, og der blev kun observeret få tilfældige tumorer i lungerne (n = 3), som er normalt for aldrende mus.

### Grænseværdi for erhvervsmæssig udsættelse for kulstofnanorør

Dette studie giver vigtig indsigt i langsigtet toksicitet efter udsættelse for kulstofnanorør og foreslår hvilke fysisk-kemiske egenskaber, der har betydning for toksiciteten. Målet er imidlertid langt fra nået. Yderligere undersøgelser er nødvendige for at afklare, hvordan kulstofnanorør kan blive mere sikre for mennesker at arbejde med. NFA har efter anmodning fra Arbejdstilsynet udarbejdet et forslag til en helbredsbaseeret grænseværdi for kulstofnanorør i arbejdsmiljøet i Danmark. Forslaget er afleveret til Arbejdstilsynet og er under behandling.

Resultaterne i denne artikel stammer fra artiklen: *"Physicochemical predictors of Multi-Walled Carbon Nanotube-induced pulmonary histopathology and toxicity one year after pulmonary deposition of 11 different Multi-Walled Carbon Nanotubes in mice"*, som er tilgængelig on-line.

<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/bcpt.13119>

### Tak

Teknisk bistand fra Michael Gulbrandsen, Eva Terrida, Lourdes Pedersen, Elzbieta Christiansen, Anne-Karin Asp, Zdenka Orabi Kyjovska og Sauli Savukooski er meget værdsat. Forfatterne takker også for den statistiske vejledning fra Birthe Lykke Thomsen og takker Dr. Fiona Murphy fra University of Edinburgh, Skotland for at introducere udtagning af brystkasse og diafragma til histologisk analyse.

Projektet blev støttet af Dansk Center for Nanosikkerhed, bevilling nr. 20110092173-3 fra Arbejds miljøforskningsfondet, Dansk Center for Nanosikkerhed II, EUs syvende rammeprogram [FP7 / 2007-2013] bevilling nr. 310584 [NANoREG], Den Europæiske Unions Horizon 2020-forskning og innovationsprogram under bevilling nr. 686098 [SmartNanoTox] og af Det Frie Forskningsråd (Medicinsk videnskab, bevilling nr. 6110-00103).

---

Yderligere oplysninger:  
Ulla Vogel, [ubv@nfa.dk](mailto:ubv@nfa.dk)

## Referencer

1. Kasai T, Umeda Y, Makoto M, Mine T, Kondo H, Takeuchi T, Matsumoto M, Fukushima S. *Lung Carcinogenicity of Inhaled Multi-Walled Carbon Nanotube in Rats*. Part Fibre Toxicol 2016;13(1):53.  
<https://doi.org/10.1186/s12989-016-0164-2>
2. Grosse Y, Loomis D, Guyton KZ, Véronique Bouvard V, Benbrahim-Tallaa L et al. *Carcinogenicity of Fluoro-Edenite, Silicon Carbide Fibres and Whiskers, and Carbon Nanotubes*. The Lancet Oncology 2014;15(13): 1427-8.  
[https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(14\)71109-X](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(14)71109-X)
3. Poulsen SS, Jackson P, Kling K, Knudsen KB, Skaug V, Kyjovska ZO, Thomsen BL et al. *Multi-Walled Carbon Nanotube Physicochemical Properties Predict Pulmonary Inflammation and Genotoxicity*. Nanotoxicology 2016;10(9): 1263-75.  
<https://doi.org/10.1080/17435390.2016.1202351>
4. Poulsen SS, Knudsen KB, Jackson P, Weydahl IEK, Saber AT, Wallin H, Vogel U. *Multi-Walled Carbon Nanotube-Physicochemical Properties Predict the Systemic Acute Phase Response Following Pulmonary Exposure in Mice*. Edited by Tobias Stoeger. PLOS ONE 2017;12 (4):e0174167.  
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0174167>
5. Knudsen KB, Berthing T, Jackson P, Poulsen SS, Mortensen A, Jacobsen NR, Skaug V et al. *Physicochemical Predictors of Multi-Walled Carbon Nanotube-Induced Pulmonary Histopathology and Toxicity One Year after Pulmonary Deposition of 11 Different Multi-Walled Carbon Nanotubes in Mice*. Basic & Clin Pharmacol Toxicol 2019;124 (2):211-27.  
<https://doi.org/10.1111/bcpt.13119>
6. NIOSH. *Criteria for Controlling Occupational Exposure to Cobalt*. 1981.  
<https://doi.org/10.26616/NIOSH PUB82107>
7. IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. *Cobalt in Hard Metals and Cobalt Sulfate, Gallium Arsenide, Indium Phosphide and Vanadium Pentoxide*. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans 2006;86:1-294.
8. MOSSMAN BROOKE T, ANDREW CHURG. *Mechanisms in the Pathogenesis of Asbestosis and Silicosis*. Amer J Respir Crit Care Med 1998;157(5):1666-80.  
<https://doi.org/10.1164/ajrccm.157.5.9707141>
9. Pothmann D, Simar S, Schuler D, Dony E, Gaering S, Net JL, Okazaki Y et al. *Lung Inflammation and Lack of Genotoxicity in the Comet and Micronucleus Assays of Industrial Multiwalled Carbon Nanotubes Graphi-strength® C100 after a 90-Day Nose-Only Inhalation Exposure of Rats*. Part Fibre Toxicol 2015;12(1):1-28.  
<https://doi.org/10.1186/s12989-015-0096-2>
10. Vietti G, Lison D, van den Brule S. *Mechanisms of Lung Fibrosis Induced by Carbon Nanotubes: Towards an Adverse Outcome Pathway (AOP)*. Part Fibre Toxicol 2016;13(1).  
<https://doi.org/10.1186/s12989-016-0123-y>
11. Suzui M, Futakuchi M, Fukamachi K, Numano T, Abdelgied M, Takahashi S, Ohnishi M et al. *Multiwalled Carbon Nanotubes Intratracheally Instilled into the Rat Lung Induce Development of Pleural Malignant Mesothelioma and Lung Tumors*. Cancer Science 2016;107(7):924-35.  
<https://doi.org/10.1111/cas.12954>
12. Rittinghausen S, Hackbarth A, Creutzenberg O, Ernst H, Heinrich U, Leonhardt A, Schaudien D. *The Carcinogenic Effect of Various Multi-Walled Carbon Nanotubes (MWCNTs) after Intraperitoneal Injection in Rats*. Part Fibre Toxicol 2014;11(1):1-18.  
<https://doi.org/10.1186/s12989-014-0059-z>
13. Muller J, Delos M, Panin N, Rabolli V, Huaux F, Lison D. *Absence of Carcinogenic Response to Multiwall Carbon Nanotubes in a 2-Year Bioassay in the Peritoneal Cavity of the Rat*. Toxicol Sci 2009;110(2):442-8.  
<https://doi.org/10.1093/toxsci/kfp100>
14. Jackson P, Kling K, Jensen KA, Clausen PA, Madsen AM, Wallin H, Vogel U. *Characterization of Genotoxic Response to 15 Multiwalled Carbon Nanotubes with Variable Physicochemical Properties Including Surface Functionalizations in the FE1-Muta(TM) Mouse Lung Epithelial Cell Line*. Environ Mol Mutagen 2015;56(2):183-203.  
<https://doi.org/10.1002/em.21922>

---

# Sperm quality and airway exposure to carbon-based particles and nanomaterials

Af Astrid Skovmand<sup>1,2</sup>, Alexander C. Ø. Jensen<sup>1</sup>, Clotilde Maurice<sup>6</sup>, Francesco Marchetti<sup>6</sup>, Anna J. Lauvås<sup>2</sup>, Ismo K. Koponen<sup>1,8</sup>, Keld A. Jensen<sup>1</sup>, Preben Christensen<sup>7</sup>, Sandra Goericke-Pesch<sup>2,5</sup>, Ulla Vogel<sup>1,4</sup> and Karin S. Hougaard<sup>1,3</sup>

---

## Background

Temporal trends across the world indicate that sperm quality among men is in decline and with no signs of levelling out (1). The decline in men's sperm quality has been the subject of much debate. However, investigations from 2018 in young men from the general population of Finland, who were considered to have good sperm quality, indicate that the sperm quality of Finish men has now reached similar levels as Danish men, who have notoriously low sperm quality (2). Granted that from 1996 to 2016, sperm quality in Denmark has stabilized and sperm concentrations appears to have slightly increased; almost 1 in 4 (23 %) Danish men have suboptimal sperm quality in terms of sperm concentration and sperm morphology (3,4).

Air pollution, especially the particulate fraction, can induce increased levels of systemic inflammation and oxidative stress, to which sperm and other testicular cells are

particularly sensitive. Due to their nano size, inhaled particles may deposit deep into the lungs, translocate into the blood and accumulate in secondary organs. Thus, inhalation of particles may have indirect and direct toxic effects on distal organs like the testes. Exposure to airborne particles during adulthood have been implicated as contributors to poor sperm quality. The general population is exposed to airborne particles mainly via air pollution, in fact, according to the World Health Organisation (WHO) 9 out of 10 people worldwide breathe in polluted air (5). Adults in certain occupations may experience much higher occupational exposure levels to particles compared to the general population (6). Furthermore, exposure to particles and their toxic effects may also occur at much earlier time points in life. Maternal inhalation of particles may have an impact on the developing child and its intrauterine environment. Since testicular function is established during foetal development, *in utero* exposure to airborne particles may result in testicular dysfunction and infertility during adulthood (7).

Human epidemiological studies have attempted to establish an association between air pollution and reduced sperm quality, however, the epidemiological evidence remains weak and is often inconclusive (8). Likewise, only few experimental investigations have been able to demonstrate a causal relationship between inhaled particles and impaired spermatogenesis and testicular dysfunction during adulthood and during development. Previous investigations from our group have shown that during foetal development maternal airway exposure to carbon black Printex 90 caused reduced

---

<sup>1</sup> The National Research Centre for the Working Environment, Denmark

<sup>2</sup> Department of Veterinary Clinical Sciences, University of Copenhagen

<sup>3</sup> Institute of Public Health, University of Copenhagen

<sup>4</sup> Department of Micro- and Nanotechnology, Technical University of Denmark

<sup>5</sup> Reproductive Unit of the Clinics – Clinic for Small Animals, University of Veterinary Medicine

<sup>6</sup> Environmental Health Science Research Bureau, Health Canada

<sup>7</sup> SPZ Lab A/S

<sup>8</sup> Force Technology

---

testicular sperm counts per gram of testes in the second generation in mice (9).

Here we present two projects with the aim to investigate whether airway exposure to carbon-based particles during adulthood and during foetal development *in utero* exposure caused testicular dysfunction, focusing mainly on sperm quality.

## Methods

### *Male reproductive toxicity of airway exposure to carbon-based particles during adulthood*

In order to investigate the effects of airways exposure to carbon-based particles during adulthood on spermatogenesis and testes function, four different nano-sized carbon particles were suspended in nanopure water and instilled into the lungs of sexually mature male NMRI mice. The exposure was performed once a week for seven consecutive weeks. This time frame covered 1.6 spermatogenic cycles, thus at the time of sampling on week eight all developing sperm cells had been exposed. Based on the particle size distribution of aerosolised particles at the current occupational exposure limit in Denmark, it was estimated that a weekly deposited dose for a mouse would correspond to 0.083 mg. The mice were exposed to a dose of 0.1 mg per week; this dose was regarded to be at the higher end of an occupationally relevant exposure. The administered dose corresponded to a total cumulative dose of 17.9 mg/kg, calculated as *(weight of particles in mg \* number of instillations)/mean weight of mice in kg*. The four carbon-based particles were selected according to their distinct physico-chemical characteristics, i.e., shape, size and chemistry. We included two black pigments, since these are widely used and are high volume nanomaterials. Printex 90 and Flammruss 101 are carbon black particles, spherical in shape and have negligible content of PAHs and heavy metals. Printex 90 has a primary particles size of 14 nm, whereas the Flammruss 101 has a primary particles size of 98 nm. Carbon black particles such as Printex

90 are often used as model particles for air pollution, since they mimic the carbon core of combustion particles. Graphene oxide is plate-shaped and has a two-dimensional structure. It has a thickness of 2 nm and a lateral size of up to 2 µm. Finally, the standard reference material NIST 1650b is a diesel exhaust particle collected from a heavy duty diesel engine with a primary particle size between 18 – 30 nm with a similar shape as the carbon black. However, the diesel exhaust particle NIST 1650b contains adhered PAHs and heavy metals.

### *Transgenerational male reproductive toxicity of maternal airway exposure to carbon black particles during foetal development*

In this study we aimed to investigate transgenerational effects on testes function following maternal airway exposure to carbon black Printex 90, described above, during foetal development. Pregnant female NMRI mice were exposed in a whole body inhalation chamber to a low dose of 4.6 mg/m<sup>3</sup> and a high dose of 37 mg/m<sup>3</sup> carbon black Printex 90 from gestation day 4 to 18. The low and high dose in this study corresponded to a 1 hr and 8 hrs, respectively, at the time weighted average occupational exposure limit (3.5 mg/m<sup>3</sup>) in Denmark. The male offspring from the exposed dams were mated with naïve (unexposed) female mice to produce the subsequent generations. Once the males were mated sperm samples were collected. The mating and sampling procedure was repeated for the subsequent generations. A total of four generations were bred and analysed.

### *Sperm quality and testicular function in mice*

Sperm sample from the mice were collected from the epididymal tail. The epididymes was homogenized in 37°C medium and filtered using a stainless steel mesh. Sperm samples were analysed for sperm number concentration, motility and viability using a computer assisted sperm analysis system (CASA). Other parameters measured from the epididymal sperm included sperm morphology and sperm

---

DNA fragmentation. Additional parameters of testicular function included plasma testosterone and daily sperm production.

## Results and discussion

Systemic upregulation of cytokines has been associated with testicular dysfunction which can be reflected in the sperm quality of humans. Burn victims, for example, have a pathophysiologic response that involves increased levels of circulating cytokines such as IL-8 and IL-6 (10). Concomitantly, burn victims may develop impaired spermatogenesis shown as significantly lowered total sperm counts, decreased progressive motility and increased abnormalities of sperm heads (swollen, oblong and round heads) (11). Much like burn victims, inhalation of particles from air pollution can induce an up regulation of circulating cytokines such as IL-6 (12). Researchers have therefore hypothesised that air pollution particles may cause impaired spermatogenesis because of the induced lung and systemic inflammation.

Adulthood exposure to the two carbon blacks (Printex 90 and Flammruss 101), graphene oxide, and the diesel exhaust particle (NIST 1650b) induced a surface area dependent lung inflammation. However, the exposure did not cause changes to epididymal sperm parameters (Table 1), and did not cause changes in testosterone production or daily sperm production in the testes of exposed mice compared to the controls (Figure 1) (13). Our results suggest that in adult mice, the inflammation induced by an occupational exposure dose of 17.9 mg/kg of the different particles is not potent enough to impair spermatogenesis and cause testicular dysfunction. Upon further analysis, the testes revealed normal histological structures with no signs of particle translocation or accumulation. This was more or less expected considering that in order to reach the testes the particles would have to cross two major biological barriers: the alveolar-blood-barrier and the blood-testes-barrier. Besides, most particles

that have translocated from the lungs appear to be retained by the liver and spleen (14).

Our results have been corroborated by other researchers. Airway exposure to 18 mg/kg of ambient air pollution particles (PM<sub>2.5</sub>) caused no changes in sperm counts, testes structure and testosterone production in rats. However, at higher concentrations (54 mg/kg and 162 mg/kg) sperm counts were reduced, the structure of the testes was damaged and testosterone was decreased (15). Note that 18 mg/kg of PM<sub>2.5</sub> reflect annual mean concentrations of PM<sub>2.5</sub> recommended WHO values; and the mid dose of 54 mg/kg reflect high exposure levels seen in countries like China. These results together with our results indicate that airway exposure to particles does not affect spermatogenesis and testes function at occupational and WHO recommended ambient air pollution levels. However, impaired spermatogenesis and testicular dysfunction may occur at higher doses. It remains uncertain if the inflammatory response in the lungs at higher concentrations was potent enough to cause the observed testicular dysfunction.

Maternal inhalation to carbon black Printex 90 did not cause testicular dysfunction in terms of sperm quality, daily sperm production, and testosterone in the four generation offspring; and the fertility of the first three generations remained unaltered (16). The results from our maternal exposure did not support previous investigations which showed reduced sperm counts in the second generation of intratracheally instilled pregnant dams with Printex 90. There are differences between the two studies that may account for the disparities in toxic response. The effects observed in the intratracheally instilled dams may have been caused by the introduction of artefacts from the exposure method that would otherwise be absent in an inhalation scenario. Intratracheal instillations are often used in particle toxicology because it is an exposure method that guarantees the delivery of an exact dose to the lungs. However, it is not a physiologically

Table 1. Body weight, testes and epididymes weight, and epididymal sperm parameters

	Control	Graphene oxide	Flammruss 101	Printex 90	NIST 1650b
Body weight	39.4 ± 3.2	40.3 ± 3.8	39.9 ± 4.2	38.0 ± 2.2	40.1 ± 3.5
Absolute testes weight	107.7 ± 6.6	103.1 ± 14.0	107.9 ± 15.4	107.9 ± 10.3	103.1 ± 17.5
Relative testes weight	2.8 ± 0.2	2.6 ± 0.4	2.7 ± 0.4	2.9 ± 0.3	2.6 ± 0.4
Absolute epididymes weight	45.3 ± 6.2	43.3 ± 6.3	39.5 ± 9.3	43.7 ± 4.0	41.1 ± 12.4
Relative epididymes weight	1.2 ± 0.1	1.1 ± 0.1	1.0 ± 0.2	1.2 ± 0.1	1.1 ± 0.1
Total epididymal sperm counts (x10 <sup>6</sup> )	17.5 ± 5.7	17.6 ± 5.6	17.0 ± 5.3	17.5 ± 5.9	17.8 ± 5.2
Total motility (%)	47.8 ± 11.5	46.3 ± 15.1	40.2 ± 10.2	50.3 ± 11.1	44.9 ± 13.6
Progressive motility (%)	24.9 ± 8.0	19.0 ± 8.0	19.3 ± 8.0	24.7 ± 7.8	21.5 ± 9.2
Viability (%)	21.5 ± 9.9	19.6 ± 9.8	18.1 ± 6.2	20.5 ± 8.6	19.7 ± 5.2
DNA fragmentation	4.1 ± 2.6	9.7 ± 23.3	5.3 ± 8.4	3.8 ± 1.6	4.6 ± 3.1

Mean ± SD, Skovmand et al. (13)

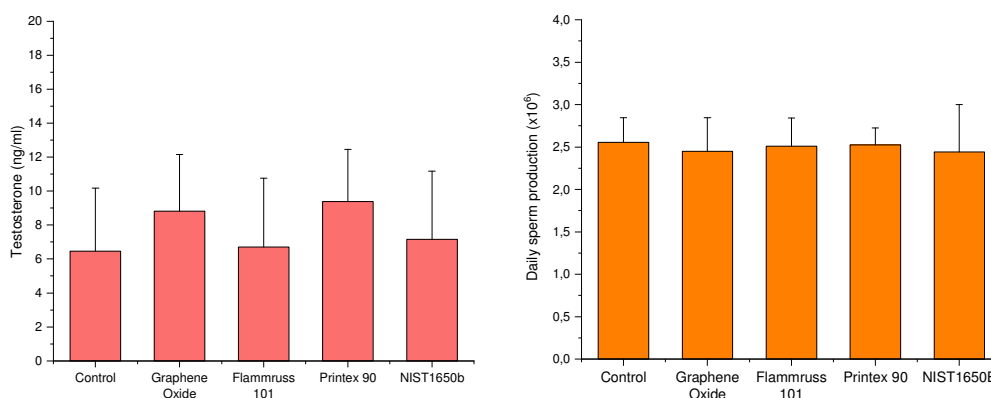


Figure 1. Plasma testosterone concentrations (ng/ml) geometric mean ± geometric SD and daily sperm production in the testes (x10<sup>6</sup>) mean ± SD, Skovmand et al. (13).

---

relevant exposure method and the delivery of a bolus dose can induce unwanted effects such as higher levels of lung inflammation and a non-homogeneous lung distribution of the material (17). Analysis of the lung cells revealed that there was no pulmonary inflammation in the exposed pregnant mice 26 – 28 days after the inhalation exposure. Although, because carbon black induced lung inflammation is reduced over time, we cannot completely rule out that lung inflammation occurred at an earlier time point (16). Another important difference involves the use of different strains of mice. Different strains of laboratory rodents can have different susceptibility to toxic insult. NMRI male mice, for example, have shown to be more resistant to the reproductive toxic effects of lead compared to other strains such as BALB/c mice (18).

Our results show maternal inhalation of carbon black to occupationally relevant exposure levels does not affect the reproductive development of the male offspring. However, it has been previously shown that *in utero* exposure to diesel exhaust particles NIST2975 induced microsatellite instability in the male germline (19). The soluble fraction of NIST2975 including PAHs may be driving the toxicity of particles on the reproductive development of male offspring.

In conclusion, our results indicate that inhalation of carbon-based particles during adulthood and during foetal development does not affect spermatogenesis and testicular function. However, because the male reproductive system, in particular spermatogenesis, of mice is quite robust compared to that of humans, it would be premature to conclude that airway exposure to carbon-based particles can not impair spermatogenesis and cause testicular dysfunction.

Yderligere oplysninger:  
Astrid Skovmand  
[aes@nfa.dk](mailto:aes@nfa.dk)

## References

1. Levine H, Jørgensen N, Martino-Andrade A, Mendiola J, Weksler-Derri D, Mindlis I et al. *Temporal trends in sperm count: A systematic review and meta-regression analysis*. Hum Reprod Update 2017;23(6):646-59.
2. Rodprasert W, Virtanen HE, Sadov S, Perheentupa A, Skakkebaek NE, Jørgensen N et al. *An update on semen quality among young Finnish men and comparison with Danish data*. Andrology 2019;7:15-23.
3. Pastuszak AW, Lipshultz LI. *Re: Human semen quality in the new millennium: A prospective cross-sectional population-based study of 4867 men*. Eur Urol 2012;62(6):1197-8.
4. Priskorn L, Nordkap L, Bang AK, Krause M, Holmboe SA, Egeberg Palme DL et al. *Average sperm count remains unchanged despite reduction in maternal smoking: results from a large cross-sectional study with annual investigations over 21 years*. Hum Reprod 2018;33(6):998-1008.
5. World Health Organization. *Air Pollution and Health [Internet]*. 2018 [cited 2019 March 28]. Available from: <https://www.who.int/airpollution/en/>
6. Bergamaschi E. *Occupational exposure to nanomaterials: Present knowledge and future development*. Nanotoxicology 2009;3(3):194-201.
7. Ema M, Hougaard KS, Kishimoto A, Honda K. *Reproductive and developmental toxicity of carbon-based nanomaterials: A literature review*. Nanotoxicology 2016;10(4):391-412.
8. Lafuente R, García-Blàquez N, Jacquemin B, Checa MA. *Outdoor air pollution and sperm quality*. Fertil Steril 2016;106(4):880-96.
9. Kyjovska ZO, Boisen AMZ, Jackson P, Wallin H, Vogel U, Hougaard KS. *Daily sperm production: Application in studies of prenatal exposure to nanoparticles in mice*. Reprod Toxicol 2013;36:88-97.

- 
10. Kulp G, Suman OE, Norbury WB, Branski LK, Gauglitz GG, Mlcak RP et al. *The pathophysiologic response to severe burn injury*. Ann Surg 2008;248(3):387-401.
  11. Jewo PI, Fadeyibi IO, Saalu LC, Akinola OI, Duru FI, Ademiluyi SA. *Sperm quality changes in survivors of severe burns*. Ann Burn Fire Disasters 2009;22(3):138-41.
  12. van Eeden SF, Tan WC, Suwa T, Mukae H, Terashima T, Fujii T et al. *Cytokines Involved in the Systemic Inflammatory Response Induced by Exposure to Particulate Matter Air Pollutants (PM10)*. Am J Respir Crit Care Med 2001;164:826–30.
  13. Skovmand A, Jacobsen Lauvås A, Christensen P, Vogel U, Sørig Hougaard K, Goericke-Pesch S. *Pulmonary exposure to carbonaceous nanomaterials and sperm quality*. Part Fibre Toxicol 2018;15:10.
  14. Modrzynska J, Berthing T, Ravn-Haren G, Jacobsen NR, Weydahl IK, Loeschner K et al. *Primary genotoxicity in the liver following pulmonary exposure to carbon black nanoparticles in mice*. Part Fibre Toxicol 2018;15:12.
  15. Liu J, Ren L, Wei J, Zhang J, Zhu Y, Li X et al. *Fine particle matter disrupts the blood–testis barrier by activating TGF- $\beta$ 3/p38 MAPK pathway and decreasing testosterone secretion in rat*. Environ Toxicol 2018;33:711–19.
  16. Skovmand A, Jensen ACØ, Maurice C, Marchetti F, Lauvås AJ, Koponen IK et al. *Effects of maternal inhalation of carbon black nanoparticles on reproductive and fertility parameters in a four-generation study of male mice*. Part Fibre Toxicol 2019;16:13.
  17. Driscoll KE, Costa DL, Hatch G, Henderson R, Oberdorster G, Salem H et al. *Intratracheal instillation as an exposure technique for the evaluation of respiratory tract toxicity: uses and limitations*. Toxicol Sci 2000;55:24-35.
  18. Apostoli P, Kiss P, Porru S, Bonde JP, Vanhoorne M. *Male reproductive toxicity of lead in animals and humans*. Occup Environ Med 1998;55:364–74.
  19. Ritz C, Ruminski W, Hougaard KS, Wallin H, Vogel U, Yauk CL. *Germline mutation rates in mice following in utero exposure to diesel exhaust particles by maternal inhalation*. Mutat Res - Fundam Mol Mech Mutagen 2011;712:55–8.



---

# Direkte effekter af kemikalier på humane sædceller

*Af Anders Rehfeld, Anna-Maria Andersson og Niels Erik Skakkebæk, Afdelingen for Vækst og Reproduktion, Rigshospitalet.*

---

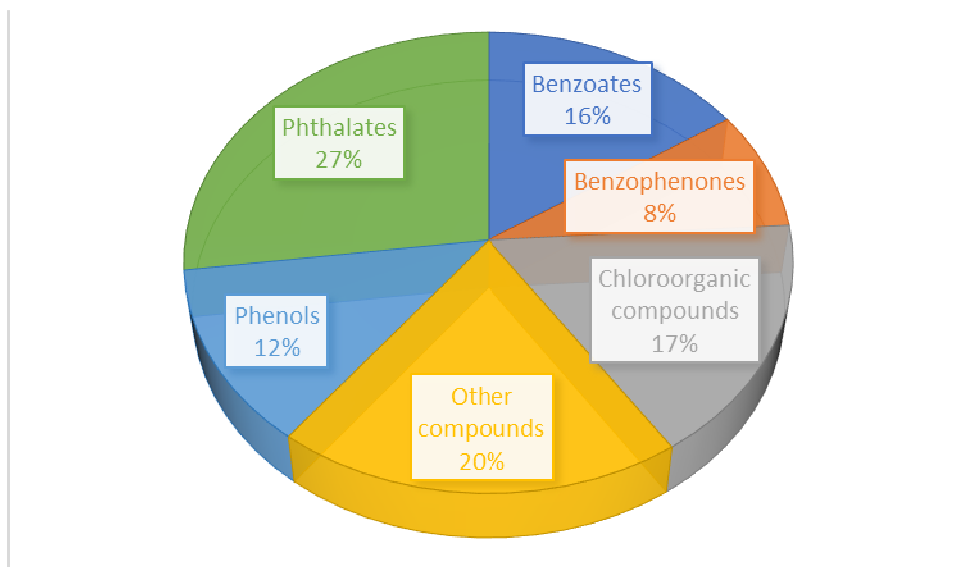
## Introduktion

I Danmark bliver 15-20 % af alle par ramt af ufrivillig barnløshed (1). Hos 10-15 % af disse par finder man aktuelt ingen forklaring på dette (1). I de seneste årtier har brugen af kunstig befrugtning, især ICSI (Intra Cytoplasmic Sperm Injection), været i kraftig stigning i USA (2,3) og Europa (4). Da ICSI bruges som behandling mod dysfunktionelle sædceller (5), kunne det tyde på, at der er en øget forekomst af sædcelledysfunktion i befolkningen og at dette kunne være en del af forklaringen på den høje forekomst af ufrivillig barnløshed. Sædcellens funktioner reguleres i stort omfang gennem intracellulær  $Ca^{2+}$ -signalering (6), herunder dens svømmemønster og dens evne til at undergå den såkaldte akrosomreaktion; frigivelsen af enzymer, som hjælper sædcellen til at trænge igennem den kappe, som omgiver ægcellen. I humane sædceller sker al optag af  $Ca^{2+}$  fra omgivelserne gennem  $Ca^{2+}$ -kanalen CatSper (7,8). CatSper bliver åbnet af det kvindelige kønshormon progesteron, som frigives i store mængder fra ægcellen (7,9). Ved kemotaksisk at følge progesterongradienten mod ægcellen kan sædcellen finde frem til ægcellen (10). Mænd, der har mutationer i CatSper, er sterile (11-17), hvilket illustrerer den altafgørende betydning af CatSper for normal mandlig fertilitet. Tidligere studier viste, at CatSper ikke blot aktiveres af progesteron, men ligeledes af flere forskellige andre signalmolekyler (18). På baggrund af denne promiskuøse aktivering af CatSper, vigtigheden af  $Ca^{2+}$ -signalering for sædcellens funktioner og normal mandlig fertilitet samt den mulige øgede forekomst af sædcelle dysfunktion valgte vi i et nyligt afsluttet PhD projekt (19) at undersøge, om en række menneskeskabte kemikalier kunne påvirke  $Ca^{2+}$ -signalering i humane sædceller via

CatSper samt hvilke funktionelle konsekvenser dette kunne have.

## Resultater

I forbindelse med projektet har vi undersøgt over 100 kemikalier, som vi ved befolkningen er udsat for, og målt deres direkte effekter på  $Ca^{2+}$ -signalering i humane sædceller (20-22). I det første projekt (20) undersøgte vi 96 kemikalier af forskellige typer (figur 1, tabel 1), blandt andet pesticider, ftalater, parabener og kemiske UV filtre. Vores screening viste, at mere end 1/3 af de undersøgte kemikalier kunne inducere en stigning i mængden af  $Ca^{2+}$  i sædcellerne og derved efterligne effekten af progesteron (figur 2 + 3). I et opfølgende studie (21), som undersøgte alle kemiske UV filtre tilladt til brug i solcreme i EU og USA, kunne vi tilsvarende vise, at 13 ud af de 29 testede kemiske UV filtre (44 %) kunne inducere en stigning i mængden af  $Ca^{2+}$  i sædcellerne (tabel 2). Med farmakologiske hæmmere af CatSper kunne vi vise, at flere af kemikalierne øgede mængden af  $Ca^{2+}$  i sædcellen ved specifikt at aktivere CatSper og derved virkede på samme måde som progesteron på sædcellen (20,21). Ved at undersøge, om kemikalierne kunne konkurrere med progesteron om at aktivere CatSper, kunne vi desuden vise, at flere af kemikalierne bandt til det eksakt samme bindingssted på sædcellen som progesteron og derved aktiverede CatSper på præcis samme måde (20,21). I tilstedeværelse af disse kemikalier skulle der derfor en betydelig større mængde progesteron til for at inducere et signal i sædcellen (20,21). Samtidig kunne vi gennem funktionelle studier vise, at kemikalierne kunne inducere de samme ændringer i sædcellens svømmemønster som progesteron samt inducere akrosomreaktion ligesom



Figur 1: Diagram over typen af de 96 kemikalier, der blev undersøgt. Brugt med tilladelse fra Schiffer et al. 2014 (20).

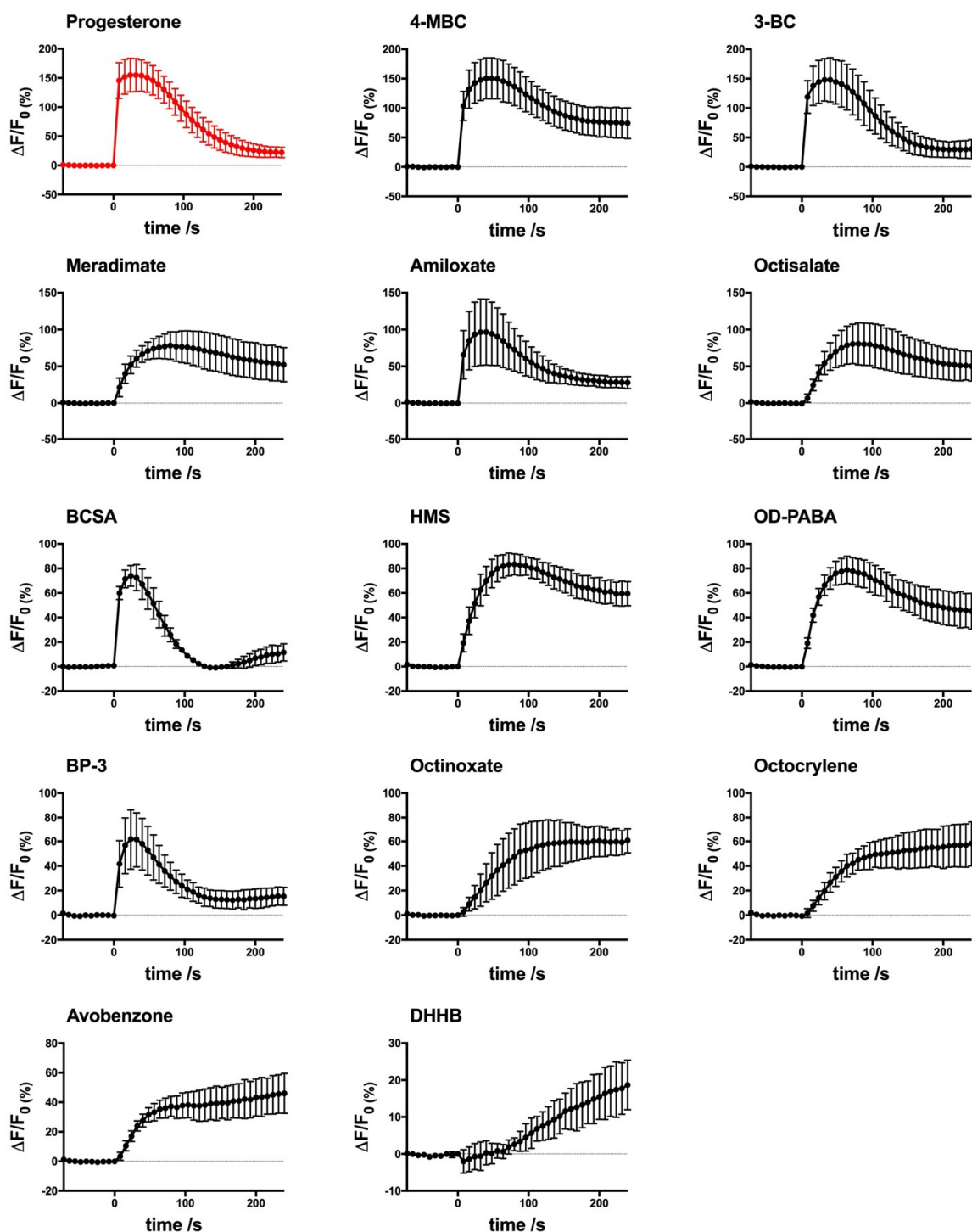
progesteron (20,23). Forsøgene viste, at der var en direkte sammenhæng mellem amplituden på det inducerede  $Ca^{2+}$ -signal og påvirkningen af den funktionelle parameter (23). For at undersøge, om kemikalierne havde en effekt i fysiologisk relevante doser, undersøgte vi dosis-respons forholdet for kemikalierne. For flere af stoffernes vedkommende så vi effekter ved doser, som var lavere end hvad man har kunnet måle i blodet hos mennesker efter eksponering (20,21). Desuden viste vores forsøg, at kemikalierne kunne samarbejde om at aktivere CatSper (20,21). Det vil sige, at når vi tog kemikalier i lave koncentrationer, hvor det enkelte kemikalie i sig selv ikke har nogen effekt, og blandede dem sammen, så fandt vi, at blandingen alligevel havde en betydelig effekt på sædcellerne - det der også kaldes for cocktaileffekt. Yderligere undersøgelser af denne kombinationseffekt viste, at der både kunne optræde additive og synergetiske vekselvirkninger mellem kemikalierne på CatSper (24).

## Diskussion

Vores studier viser tydeligt, at adskillige kemikalier kan påvirke  $Ca^{2+}$ -signaleringen i humane sædceller via CatSper. På den måde

efterligner de effekten på sædcellerne af det naturlige kvindelige kønshormon progesteron, der er altafgørende for den normale befrugtning af ægcellen. Andre grupper har gjort lignende fund for kemikalierne p,p'-DDE (25,26) og diethylstilbestrol (27). Dette tyder på, at de effekter, der ses for kemikalier på  $Ca^{2+}$ -signaleringen i humane sædceller, er robuste og reproducerbare.

Vi mistænker, at kemikaliernes påvirkning af  $Ca^{2+}$ -signaleringen i humane sædceller via CatSper potentielt kan have en skadelig effekt på fertiliteten både hos kvinder og mænd. Hos kvinden kunne kemikalier i væskerne i de kvindelige kønsveje påvirke sædcellernes funktion ved at efterligne progesteron og derved, på det forkerte sted og tidspunkt, lede sædcellerne på afveje. Progesteron helt ned i pM doser er blevet vist at kunne tiltrække sædcellerne kemotaktisk (29), og vi har i vores studier vist, at kemikalier i lave doser, enten alene eller i blandinger, kunne inducere et  $Ca^{2+}$ -signal af samme styrke som det induceret af progesteron i pM doser (20,21). Yderligere kunne kemikalierne tænkes at inducere akrosomreaktion i sædcellerne præmaturt, hvorved sædcellerne ikke kan binde til ægcellen (28). Vi og andre har vist, at



Figur 2: Eksempel på screeningsdata fra forsøg, hvor effekten af kemikalier på  $\text{Ca}^{2+}$ -signaleringen i humane sædceller er blevet målt. De tidsmæssige ændringer i fluorescens  $\Delta F$ , i forhold til baseline fluorescens  $F_0$ , som udtryk for ændringen i mængden af  $\text{Ca}^{2+}$  i sædcellens cytoplasma er målt via den fluorescerende  $\text{Ca}^{2+}$ -markør Fluo-4. De enkelte figurer viser effekten på  $\text{Ca}^{2+}$ -signaleringen i humane sædceller efter tilsætning af det naturlige hormon progesteron, som åbner CatSper, samt de 13 kemiske UV filtre, der blev karakteriseret som ”positive hits”. Brugt med tilladelse fra Rehfeld et al. 2016 (21).

Tabel 1: Oversigt over de 96 testede kemikalier og deres gennemsnitlige effekt ( $\Delta F/F_0$  i %) på  $Ca^{2+}$ -signalering ved 10, 1 og 0,1  $\mu M$ , samt deres CAS # og forkortelse. Kemikalierne er rangeret efter deres effekt ved 10  $\mu M$ . De 33 højest rangerede kemikalier blev klassificeret som "positive hits", da de ved 10  $\mu M$  inducerede  $Ca^{2+}$ -signaler, som var større end  $\text{gennemsnit} \pm 3 \cdot SD$  for de negative kontroller. Modifieret med tilladelse fra Supplementary Table 1 i Schiffer et al. 2014 (20).

#	Gruppe	Trivialnavn	Forkortelse	CAS nummer	Gennemsnitlige signal (i %) ved:		
					10 $\mu M$	1 $\mu M$	0,1 $\mu M$
1	Other compounds	3-(4-methylbenzylidene)camphor	4-MBC	36861-47-9	125,9	41,4	13,0
2	Benzoates	nonylparaben	n-NP	38713-56-3	114,4	10,0	3,6
3	Chloroorganic compounds	chlorophenothane	4,4'-DDT	50-29-3	110,0	30,1	16,2
4	Phenols	4-octylphenol	4-OP	1806-26-4	96,5	14,6	3,9
5	Phenols	4-nonylphenol	4-NP	104-40-5	88,9	9,0	2,8
6	Chloroorganic compounds	Methoxy-DDT	Met-DDT	72-43-5	87,6	30,9	5,0
7	Chloroorganic compounds	Triclosan	TCS	3380-34-5	72,6	17,5	6,7
8	Phthalate esters	Dipentyl phthalate	DPP	131-18-0	65,1	12,7	5,9
9	Benzoates	Hexylparaben	n-HxP	1083-27-8	64,1	6,0	5,6
10	Other compounds	3-benzylidene camphor	3-BC	15087-24-8	60,3	14,6	-2,3
11	Benzoates	Homosalate	HMS	118-56-9	58,2	14,4	0,0
12	Chloroorganic compounds	DDT dehydrochloride	4,4'-DDE	72-55-9	48,1	10,4	2,0
13	Phthalate esters	Benzyl butyl phthalate	BBzP	85-68-7	46,7	2,6	-1,2
14	Benzoates	Padimate O	OD-PABA	21245-02-3	44,1	18,2	2,2
15	Other compounds	$\alpha$ -zearalenol	$\alpha$ -zearalenol	36455-72-8	43,5	16,9	5,0
16	Phthalate esters	Di-iso-butyl phthalate	DiBP	84-69-5	41,0	11,3	4,9
17	Chloroorganic compounds	Dieldrin	Dieldrin	60-57-1	36,0	0,6	-2,1
18	Phthalate esters	Dibutyl phthalate	DnBP	84-74-2	35,4	5,1	0,4
19	Benzophenones	4-methylbenzophenone	4-MBP	134-84-9	35,3	0,9	-2,6
20	Other compounds	Octocrylene	OCT	6197-30-4	33,8	7,2	-1,1
21	Other compounds	Octinoxate	OMC	5466-77-3	32,9	3,0	-2,4
22	Phenols	4-tert-octylphenol	4-tOP	140-66-9	32,1	-5,0	-5,5
23	Benzophenones	Benzophenone-7	BP-7	85-19-8	30,0	-0,3	-2,7
24	Chloroorganic compounds	Hexachlorocyclohexane	gamma-HCH	58-89-9	29,5	-1,1	-1,6
25	Chloroorganic compounds	Vinclozoline	Vinclozoline	50471-44-8	29,3	-0,3	-1,8
26	Benzoates	Benzylparaben	BzP	94-18-8	26,4	1,6	0,0
27	Phenols	2-phenylphenol	2-PP	90-43-7	24,9	-0,6	-1,8
28	Benzophenones	Benzophenone-3	BP-3	131-57-7	21,4	0,2	0,2

29	Other compounds	Tributyltin acetate	tributyltin acetate	56-36-0	21,3	8,6	-4,9
30	Phenols	Diethylstilbestrol	DES	56-53-1	20,8	-0,9	-2,5
31	Other compounds	Perfluorooctanoic acid	PFOA	335-67-1	20,6	-1,6	-2,9
32	Other compounds	Tributyltin chloride	tributyltin chloride	1461-22-9	20,2	8,0	-5,5
33	Phenols	4-phenylphenol	4-PP	92-69-3	10,5	-1,6	-1,2
34	Benzoates	Iso-butyl benzoate	i-BuB	120-50-3	10,1	0,2	1,3
35	Benzoates	Iso-butylparaben	i-BuP	4247-02-3	8,9	5,5	5,6
36	Other compounds	Diazinon	Diazinon	333-41-5	8,6	0,5	-0,2
37	Chloroorganic compounds	2,3,3',4,4',5-hexachlorobiphenyl	PCB-156	38380-08-4	7,1	4,5	4,6
38	Benzophenones	Benzophenone	BP	119-61-9	6,2	-4,7	-5,0
39	Phthalate esters	Dipropyl phthalate	DPrP	131-16-8	6,2	-1,2	-0,4
40	Chloroorganic compounds	Triclocarban	TCCB	101-20-2	5,8	6,6	5,6
41	Chloroorganic compounds	2,4,5-trichlorophenol	2,4,5-TCP	95-95-4	5,3	5,2	5,4
42	Phthalate esters	Diethyl phthalate	DOP	117-84-0	5,2	1,2	2,2
43	Benzoates	Sec-butylparaben	sec-BuP	17696-61-6	5,1	5,7	5,1
44	Benzoates	Butylparaben	n-BuP	94-26-8	5,0	4,2	4,8
45	Benzophenones	4-hydroxybenzophenone	4-HBP	1137-42-4	4,7	2,1	2,7
46	Other compounds	4-aminobenzoic	PABA	150-13-0	2,7	0,7	0,0
47	Other compounds	Perfluorooctanesulfonic acid	PFOS	1763-23-1	2,4	1,4	0,1
48	Other compounds	Coumestrol	Coumestrol	479-13-0	2,1	-2,3	1,8
49	Benzophenones	Benzophenone-1	BP-1	131-56-6	2,0	-2,9	-3,5
50	Phthalate esters	Bis(2-ethylhexyl) phthalate	DEHP	117-81-7	2,0	0,5	1,4
51	Benzoates	Methyl 3-hydroxybenzoate	Me-3OH-P	19438-10-9	0,7	2,6	2,9
52	Phthalate esters	Diethyl phthalate	DEP	84-66-2	0,6	-0,3	-0,9
53	Chloroorganic compounds	2,4,6-trichlorophenol	2,4,6-TCP	88-06-2	0,4	-1,2	-1,0
54	Phthalate esters	Di-iso-nonyl phthalate	DiNP	68515-48-0	-0,3	0,8	0,1
55	Benzophenones	Benzophenone-4	BP-4	4065-45-6	-0,8	-1,1	-0,5
56	Benzoates	Ethylparaben	EtP	120-47-8	-1,0	-1,5	0,7
57	Chloroorganic compounds	2,3,3',4,4',5'-hexachlorobiphenyl	PCB-138	35065-28-2	-1,0	-2,0	-0,5
58	Phthalate esters	Monobutyl phthalate	MnBP	131-70-4	-1,0	0,0	-0,2
59	Chloroorganic compounds	2,5-dichlorophenol	2,5-DCP	583-78-8	-1,6	-0,1	0,0
60	Benzoates	Propylparaben	n-PrP	94-13-3	-2,0	-0,2	-2,5
61	Benzoates	Iso-propylparaben	i-PrP	4191-73-5	-2,1	0,1	-0,8
62	Benzoates	Methylparaben	MeP	99-76-3	-2,1	-1,2	-1,0
63	Chloroorganic compounds	$\beta$ -hexachlorocyclohexane	beta-HCH	319-85-7	-2,2	-0,1	-0,6

64	Benzoates	Ethyl 3-hydroxybenzoate	Et-3OH-P	7781-98-8	-2,3	-2,4	-1,0
65	Other compounds	Aspirin	ASA	50-78-2	-2,6	-0,4	-0,9
66	Other compounds	Flutamide	Flutamide	13311-84-7	-2,8	-2,5	-2,3
67	Other compounds	Atrazine	Atrazine	1912-24-9	-3,1	-4,0	-2,4
68	Other compounds	Simazine	Simazine	122-34-9	-3,2	-0,8	-2,0
69	Other compounds	4-methylumbelliferone	4-methylumbelliferone	90-33-5	-3,3	-0,4	-0,8
70	Phenols	Tert-butylhydroquinone	Tert-butylhydroquinone	1948-33-0	-3,3	-3,0	-3,6
71	Other compounds	Boric acid	Boric acid	10043-35-3	-4,4	-1,7	-1,2
72	Benzophenones	Benzophenone-2	BP-2	131-55-5	-5,2	-4,7	-2,9
73	Phthalate esters	Dimethyl phthalate	DMP	131-11-3	-5,9	-2,7	-3,4
74	Chloroorganic compounds	2,2',4,6'-tetrachlorobiphenyl	PCB-51	68194-04-7	-6,1	-3,8	-2,6
75	Chloroorganic compounds	2,4-dichlorophenol	2,4-DCP	120-83-2	-7,1	-5,3	-5,7
76	Phenols	Bisphenol A	BPA	80-05-7	-7,7	-1,5	-0,9
77	Other compounds	Melengestrol acetate	MGA	2919-66-6	-15,3	-8,0	-4,0
78	Phenols	(±)-equol	(±)-equol	94105-90-5			-5,6
79	Phenols	Daidzein	Daidzein	486-66-8			-5,0
80	Phenols	Genistein	Genistein	446-72-0			-3,4
81	Phenols	Tetrabromobisphenol A	Tetrabromobisphenol A	79-94-7			-1,3
82	Phenols	Enterolactone	Enterolactone	78473-71-9			-4,5
83	Phthalate esters	Mono(2-ethyl-5-hydroxyhexyl) phthalate	MEHHP	40321-99-1			-6,7
84	Phthalate esters	Mono(3-carboxypropyl) phthalate	MCPP	66851-46-5			-2,0
85	Phthalate esters	Mono(4-methyl-7-carboxyheptyl) phthalate	MCiOP				-5,9
86	Phthalate esters	Mono(4-methyl-7-hydroxyoctyl) phthalate	MHiNP				-4,4
87	Phthalate esters	Mono(4-methyl-7-oxooctyl) phthalate	MOiNP				-5,9
88	Phthalate esters	Mono(5-carboxy-2-ethylpentyl) phthalate	MECPP	40809-41-4			-4,7
89	Phthalate esters	Mono-2-ethylhexyl phthalate	MEHP	4376-20-9			-4,6
90	Phthalate esters	Monobenzyl phthalate	MBzP	2528-16-7			1,7
91	Phthalate esters	Monoethyl phthalate	MEP	2306-33-4			-3,9
92	Phthalate esters	Mono-iso-butyl phthalate	MiBP	30833-53-5			-9,4
93	Phthalate esters	Mono-iso-decyl phthalate	MiDP				-5,4
94	Phthalate esters	Monomethyl phthalate	MMP	4376-18-5			-4,8
95	Phthalate esters	Mono-n-octyl phthalate	MOP	5393-19-1			-4,2
96	Phthalate esters	Mono-n-pentyl phthalate	MPP	24539-56-8			-4,7

---

kemikalier kan påvirke akrosomreaktionen i humane sædceller (20,23,25-27). Tilstedeværelsen af kemikalierne i væskerne i de kvindelige kønsveje kunne desuden bevirke, at der skal betydelig større mængde progesteron til for at inducere et signal i sædcellen, som både vores og andre studier har vist (20,21,27), da flere af kemikalierne kunne konkurrere med progesteron om dennes bindested. Da der i adskillige studier er blevet vist en klar sammenhæng mellem progesterons evne til at inducere et  $\text{Ca}^{2+}$ -signal og sædcellernes evne til at befrugte ægcellen (14,30-37), kunne det tyde på, at kemikalierne alene via denne hæmning af progesteronsignalet muligvis kunne påvirke fertiliteten negativt. For flere af de kemikalier, vi har undersøgt, har vi set effekter på sædcellerne ved doser, der er lavere end hvad man har målt i blodet (20,21). Vi har desuden vist, at blandinger af kemikalier i lave doser kan samarbejde om at påvirke sædcellerne (20,21), endda på synergistisk vis i nogen tilfælde (24).

Hos manden er det indtil videre uvist hvilke effekter kemikaliers påvirkning af  $\text{Ca}^{2+}$ -signaleringen i humane sædceller via CatSper kunne have. CatSper er dog følsom for progesteron selv i spermatider (forstadier til sædceller) ekstraheret direkte fra testiklen (12), hvilket betyder, at følsomheden for progesteron opstår på et tidligt tidspunkt i løbet af dannelsen af sædcellerne. Det er derfor muligt, at der kunne være effekter af kemikalierne på selve dannelsen af sædcellerne eller på sædcellerne under den efterfølgende lange modning i testiklen, selvom  $\text{Ca}^{2+}$ -signaleringens rolle for sædcellerne på disse stadier er ukendt (39,40).

### Perspektiver

Selvom vi nu har undersøgt over 100 kemikalier for effekter på  $\text{Ca}^{2+}$ -signalering i humane sædceller, er vi meget langt fra at have undersøgt alle relevante højeksponeringskemikalier. Eksperter gætter på, at vi mennesker er eksponeret for omkring 5.000 kemikalier i vores hverdag (41) ud af de omkring 100.000 kemikalier, som er

tilgængelige kommercielt (42). Dette estimat på 5.000 kan endda være sat lavt, da det ikke inkluderer metabolitter. Nyere studier tyder på, at der kan være omkring 40.000 eksogene substanser tilstede i blodplasma hos mennesker (43). Dette tal sætter vores fund omkring kombinationseffekter i perspektiv og viser, at det kan være svært at fastsætte en sikker grænseværdi for eksponeringen af et enkelt kemikalie, da man i så fald burde tage højde for en mulig kombinationseffekt sammen med samtlige andre kemikalier tilstede. At vi kun har undersøgt omkring 100 kemikalier betyder samtidig, at der er meget lang vej endnu, før den samlede mængde af relevante kemikalier er undersøgt for effekter direkte på humane sædceller. Et godt sted at begynde ville være at undersøge kemikalier, som der er en bred eksponering for, f.eks. pesticider, ligesom det ville være oplagt at undersøge udvalgte lægemidler, da de ofte er til stede i kroppen i høje niveauer i veldefinerede kohorter af patienter, hvorved denne tilgang forhåbentlig kunne bruges til at undersøge de mulige konsekvenser *in vivo* nærmere.

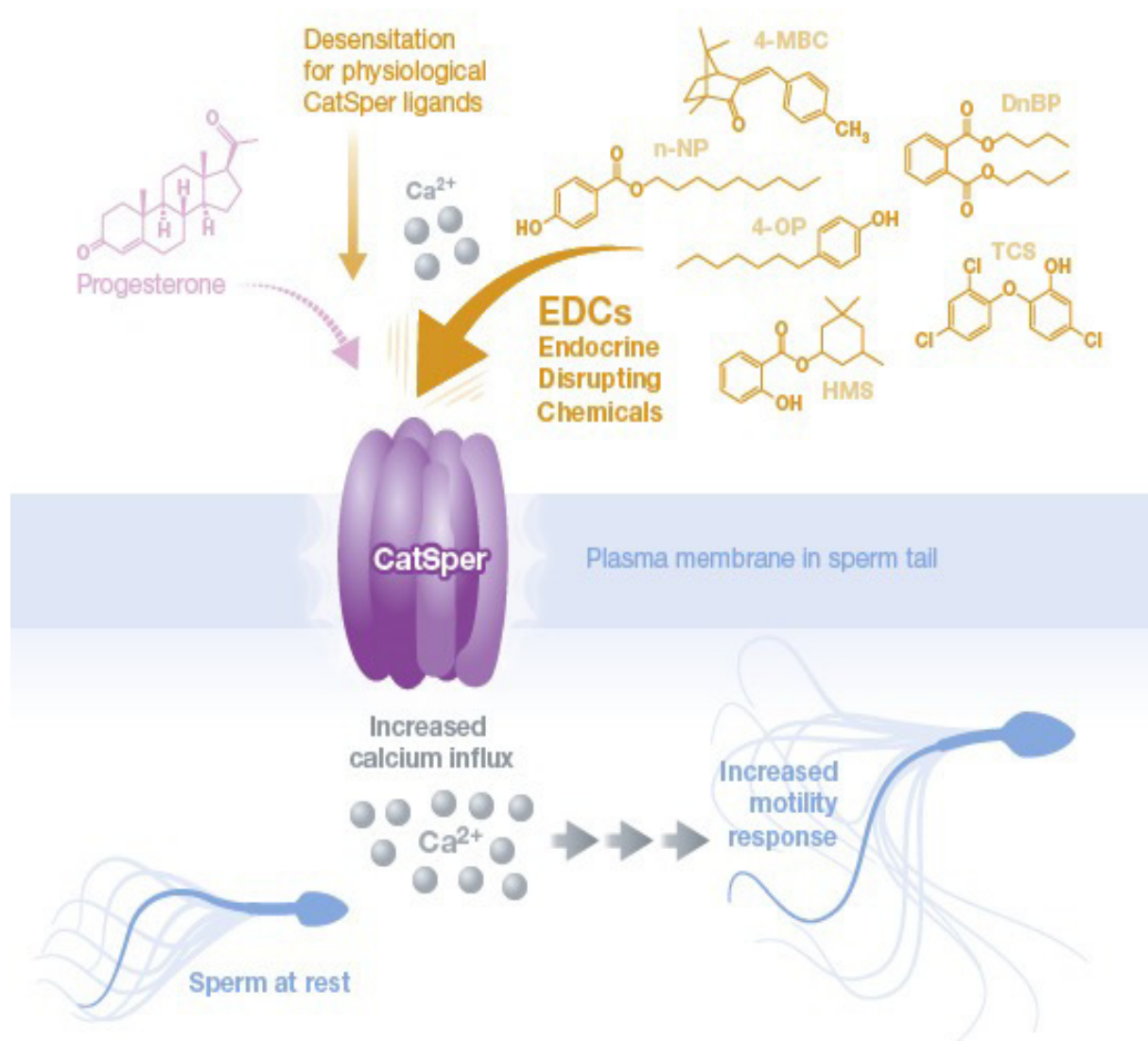
Det er vigtigt at pointere, at vores forsøg alle er udført *in vitro* i laboratoriet, og at det endnu ikke vides, om effekter af kemikalier på sædceller gør sig gældende *in vivo*. Fremtidige studier vil forhåbentlig afklare dette. Dog er der indtil videre kun blevet vist effekter af progesteron på CatSper hos sædceller fra mennesker (7,9) og aber (38), mens CatSper hos mus hverken aktiveres af progesteron (9) eller nogen af de kemikalier, som er blevet vist at påvirke CatSper hos mennesker (20). Det er derfor ikke sandsynligt, at vi i den nærmeste fremtid kommer til at kunne få *in vivo* data fra andre dyremodeller. På grund af de klare etiske problemstillinger forbundet med eksponeringsforsøg hos aber og mennesker er det mest sandsynlige derfor, at en kombination af epidemiologiske humane associationsstudier sammen med *in vitro* forsøg med humane sædceller er den bedste vej frem indtil en passende dyremodel opdages.

Tabel 2: Oversigt over de 29 testede kemiske UV filtre og deres relative gennemsnitlige effekt ( $\Delta F/F_0$  i %) på  $Ca^{2+}$ -signaler ved 10  $\mu M$  i forhold til effekten af den positive kontrol (progesteron 5  $\mu M$ ) for det enkelte eksperiment. Kemikalierne er rangeret efter deres effekt ved 10  $\mu M$ . De 13 højst rangerede kemikalier blev klassificeret som "positive hits", da de ved 10  $\mu M$  inducerede  $Ca^{2+}$ -signaler, som var større end gennemsnit  $\pm 3 \cdot SD$  for de negative kontroller. Desuden er oplyst: INCI navn, CAS #, forkortelse og tilladte mængde i solcreme i EU og USA. Brugt med tilladelse fra Rehfeld et al. 2016 (21).

Rank	INCI Name	CAS #	Abbreviation	Allowance in sunscreens		Mean relative maximal $Ca^{2+}$ signal at 10 $\mu M$ (in %) (n=3)	
Positive hits	1	4-METHYLBENZYLIDENE CAMPHOR	36861-47-9 / 38102-62-4	4-MBC	EU, 4%	97,1	
	2	3-BENZYLIDENE CAMPHOR	15087-24-8	3-BC	EU, 2%	92,7	
	3	MENTHYL ANTHRANILATE	134-09-8	Meradimate		US, 5%	79,8
	4	ISOAMYL P-METHOXYCINNAMATE	71617-10-2	Amiloxate	EU, 10%		62,9
	5	ETHYLHEXYL SALICYLATE	118-60-5	Octisalate	EU, 5%	US, 5%	53,4
	6	BENZYLIDENE CAMPHOR SULFONIC ACID	56039-58-8	BCSA	EU, 6%		52,7
	7	HOMOSALATE	118-56-9	HMS	EU, 10%	US, 15%	47,6
	8	ETHYLHEXYL DIMETHYL PABA	21245-02-3	OD-PABA	EU, 8%	US, 8%	46,0
	9	BENZOPHENONE-3	131-57-7	BP-3	EU, 10%	US, 6%	38,2
	10	ETHYLHEXYL METHOXYCINNAMATE	5466-77-3	Octinoxate	EU, 10%	US, 7.5%	29,4
	11	OCTOCRYLENE	6197-30-4	Octocrylene	EU, 10%	US, 10%	24,2
	12	BUTYL METHOXYDIBENZOYL METHANE	70356-09-1	Avobenzone	EU, 5%	US, 3%	22,5
	13	DIETHYLAMINO HYDROXYBENZOYL HEXYL BENZOATE	302776-68-7	DHBB	EU, 10%		10,7



Negative hits	14	BENZOPHENONE-8	131-53-3	Dioxybenzon		US, 3%	4,0
	15	CAMPHOR BENZALKONIUM METHOSULFATE	52793-97-2	CBM	EU, 6%		4,0
	16	POLYSILICONE-15	207574-74-1	POLYSILIC ONE-15	EU, 10%		3,6
	17	DROMETRIZOLE TRISILOXANE	155633-54-8	Drometrizole trisolane	EU, 15%		3,3
	18	BENZOPHENONE-4	4065-45-6	BP-4	EU, 5%	US, 10%	1,2
	19	DIETHYLHEXYL BUTAMIDO TRIAZONE	154702-15-5	Iscotrizinol	EU, 10%		1,0
	20	ETHYLHEXYL TRIAZONE	88122-99-0	Ethylhexyl triazone	EU, 5%		0,9
	21	CINOXATE	104-28-9	Cinoxate		US, 3%	0,1
	22	PEG-25 PABA	116242-27-4	PEG-25 PABA	EU, 10%		0,04
	23	BIS- ETHYLHEXYLOXY PHENOL METHOXYPHENY L TRIAZINE	187393-00-6	Bemotrizinol	EU, 10%		-0,3
	24	TEA-SALICYLATE	2174-16-5	TEA salicylate		US, 12%	-0,6
	25	PHENYLBENZIMID AZOLE SULFONIC ACID	27503-81-7	Ensulizole	EU, 8%	US, 4%	-3,1
	26	PABA	150-13-0	PABA		US, 15%	-3,1
	27	DISODIUM PHENYL DIBENZIMIDAZOL E TETRASULFONAT E	180898-37-7	Bisdisulizole	EU, 10%		-3,4
28	BENZOPHENONE-5	6628-37-1	BP-5	EU, 5%		-3,5	
29	TEREPHTHALYLID ENE DICAMPHOR SULFONIC ACID	92761-26-7 / 90457-82-2	Ecamsule	EU, 10%		-3,5	



Figur 3: Progesteron kan åbne den sædcelle-specifikke Ca<sup>2+</sup>-kanal CatSper, hvilket fører til en øget mængde Ca<sup>2+</sup> i sædcellen og påvirker dens funktioner, f.eks. svømmemønsteret som illustreret. Kemikalier af forskellige typer, heriblandt UV filtrene 4-methylbenzylidene-camphor (4-MBC) og homosalate (HMS), ftalatet dibutyl phthalate (DnBP), parabenet nonylparaben (n-NP), biocidet triclosan (TCS) og fenolen 4-octylphenol (4-OP) kan ligeledes føre til åbning af CatSper. Flere kemikalier, heriblandt 4-MBC, kan desuden konkurrere med progesteron om at binde til progesteronbindestedet, som aktiverer CatSper, og herved gøre det svært for progesteron at inducere et respons i sædcellen. Figur brugt med tilladelse Schiffer et al. 2014 (20).

---

Yderligere oplysninger:

Anders Rehfeld

[rehfeld@sund.ku.dk](mailto:rehfeld@sund.ku.dk)

## Referencer

1. *Infertilitet eller nedsat frugtbarhed* - Sundhed.dk. Available at: \*
2. Jain T, Gupta RS. *Trends in the use of intracytoplasmic sperm injection in the United States*. N Engl J Med 2007;357:251-7.
3. Centers for Disease Control and Prevention, American Society for Reproductive Medicine, Society for Assisted Reproductive Technology. *2014 Assisted Reproductive Technology National Summary Report*. Atlanta (GA): US Dept of Health and Human Services. (2016).
4. Kupka MS et al. *Assisted reproductive technology in Europe, 2010: results generated from European registers by ESHRE†*. Hum Reprod 2014. doi:10.1093/humrep/deu175
5. Palermo GD, Neri QV, Schlegel PN, Rosenwaks Z. *Intracytoplasmic sperm injection (ICSI) in extreme cases of male infertility*. PLoS One 9, e113671 (2014).
6. Publicover S, Harper CV, Barratt C. *[Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub> signalling in sperm--making the most of what you've got*. Nat Cell Biol 2007;9:235-42.
7. Strünker T et al. *The CatSper channel mediates progesterone-induced Ca<sup>2+</sup> influx in human sperm*. Nature 2011;471:382-6.
8. Lishko PV et al. *The control of male fertility by spermatozoan ion channels*. Annu Rev Physiol 2012;74:453-75.
9. Lishko PV, Botchkina IL, Kirichok Y. *Progesterone activates the principal Ca<sup>2+</sup> channel of human sperm*. Nature 2011;471:387-91.
10. Eisenbach M, Giojalas LC. *Sperm guidance in mammals - an unpaved road to the egg*. Nat Rev Mol Cell Biol 2006;7:276-85.
11. Avenarius MR et al. *Human male infertility caused by mutations in the CATSPER1 channel protein*. Am J Hum Genet 2009;84:505-10.
12. Smith JF et al. *Disruption of the principal, progesterone-activated sperm Ca<sup>2+</sup> channel in a CatSper2-deficient infertile patient*. Proc Natl Acad Sci USA 2013;110:6823-8.
13. Hildebrand MS et al. *Genetic male infertility and mutation of CATSPER ion channels*. Eur J Hum Genet 2010;18:1178-84.
14. Williams HL et al. *Specific loss of CatSper function is sufficient to compromise fertilizing capacity of human spermatozoa*. Hum Reprod 2015;30:2737-46.
15. Avidan N et al. *CATSPER2, a human autosomal nonsyndromic male infertility gene*. Eur J Hum Genet 2003;11:497-502.
16. Zhang Y et al. *Sensorineural deafness and male infertility: a contiguous gene deletion syndrome*. BMJ Case Rep 2009.
17. Jaiswal D, Singh V, Dwivedi US, Trivedi S, Singh K. *Chromosome microarray analysis: a case report of infertile brothers with CATSPER gene deletion*. Gene 2014;542:263-5.
18. Brenker C et al. *The CatSper channel: a polymodal chemosensor in human sperm*. EMBO J 2012;31:1654-65.
19. Rehfeld A. *Do endocrine disrupting chemicals affect human sperm cell function?* (University of Copenhagen, 2017).
20. Schiffer C et al. *Direct action of endocrine disrupting chemicals on human sperm*. EMBO Rep. (2014). doi:10.15252/embr.201438869
21. Rehfeld A, Dissing S, Skakkebaek NE. *Chemical UV Filters Mimic the Effect of Progesterone on Ca<sup>(2+)</sup> Signaling in Human Sperm Cells*. Endocrinology 2016;157:4297-308.

\*<https://www.sundhed.dk/sundhedsfaglig/laegehaandbogen/gynaekologi/tilstande-og-sygdomme/diverse/infertilitet-eller-nedsat-frugtbarhed/>

---

- 
22. Shannon M et al. In vitro bioassay investigations of the endocrine disrupting potential of steviol glycosides and their metabolite steviol, components of the natural sweetener Stevia. *Mol Cell Endocrinol* 2016;427:65-72.
23. Rehfeld A et al. *Chemical UV filters can affect human sperm function in a progesterone-like manner.* *Endocr Connect* (2017). doi:10.1530/EC-17-0156.
24. Brenker C et al. *Synergistic activation of CatSper Ca<sup>2+</sup> channels in human sperm by oviductal ligands and endocrine disrupting chemicals.* *Hum Reprod* 2018;33:1915-23.
25. Tavares RS et al. *p,p'-DDE activates CatSper and compromises human sperm function at environmentally relevant concentrations.* *Hum Reprod* 2013;28:3167-77.
26. Tavares RS, Amaral S, Paiva C, Baptista M, Ramalho-Santos J. *In vitro exposure to the organochlorine p,p'-DDE affects functional human sperm parameters.* *Chemosphere* 2015;120:443-6.
27. Zou Q-X et al. *Diethylstilbestrol activates CatSper and disturbs progesterone actions in human spermatozoa.* *Hum Reprod* 2017;32:290-98.
28. Liu DY, Garrett C, Baker HWG. *Acrosome-reacted human sperm in insemination medium do not bind to the zona pellucida of human oocytes.* *Int J Androl* 2006;29:475-81.
29. Teves ME et al. *Progesterone at the picomolar range is a chemoattractant for mammalian spermatozoa.* *Fertil Steril* 2006;86:745-9.
30. Krausz C et al. *Intracellular calcium increase and acrosome reaction in response to progesterone in human spermatozoa are correlated with in-vitro fertilization.* *Hum Reprod* 1995;10:120-4.
31. Oehninger S et al. *Defective calcium influx and acrosome reaction (spontaneous and progesterone-induced) in spermatozoa of infertile men with severe teratozoospermia.* *Fertil Steril* 1994;61:349-54.
32. Shimizu Y, Nord EP, Bronson RA. *Progesterone-evoked increases in sperm [Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub> correlate with the egg penetrating ability of sperm from fertile but not infertile men.* *Fertil Steril* 1993;60:526-32.
33. Falsetti C et al. *Decreased responsiveness to progesterone of spermatozoa in oligozoospermic patients.* *J Androl* 1993;14: 17-22.
34. Forti G et al. *Effects of progesterone on human spermatozoa: clinical implications.* *Ann Endocrinol (Paris)* 1999;60:107-10.
35. Krausz C et al. *Two functional assays of sperm responsiveness to progesterone and their predictive values in in-vitro fertilization.* *Hum Reprod* 1996;11:1661-7.
36. Kelly MC et al. *Single-cell analysis of [Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub> signalling in sub-fertile men: characteristics and relation to fertilization outcome.* *Hum Reprod* 2018;33:1023-33.
37. Brown SG et al. *Homozygous in-frame deletion in CATSPERE in a man producing spermatozoa with loss of CatSper function and compromised fertilizing capacity.* *Hum Reprod* 2018;33:1812-16.
38. Sumigama S et al. *Progesterone Accelerates the Completion of Sperm Capacitation and Activates CatSper Channel in Spermatozoa from the Rhesus Macaque.* *Biol Reprod* 2015;93:130.
39. Darszon A, Nishigaki T, Beltran C, Treviño CL. *Calcium channels in the development, maturation, and function of spermatozoa.* *Physiol Rev* 2011;91:1305-55.
40. Dacheux J-L, Dacheux F. *New insights into epididymal function in relation to sperm maturation.* *Reproduction* 2014;147:R27-42.
41. Gruber K. *Cleaning up pollutants to protect future health.* *Nature* 2018;555:S20-S22.
42. Di Renzo GC et al. *International Federation of Gynecology and Obstetrics opinion on reproductive health impacts of exposure to toxic environmental chemicals.* *Int J Gynaecol Obstet* 2015;131:219-25.
43. Sitnikov DG, Monnin CS, Vuckovic D. *Systematic Assessment of Seven Solvent and Solid-Phase Extraction Methods for Metabolomics Analysis of Human Plasma by LC-MS.* *Sci Rep* 2016;6:38885.
-

---

## Ni ”nye” hormonforstyrrende stoffer identificeret, men hvor mange er der? *The answer is blowin’ in the wind.....*

Af Ulla Hass og Sofie Christiansen, DTU Fødevareinstituttet, Afdeling for Kost, Sygdomsforebyggelse og Toksikologi

---

### Baggrund og formål

Mange års forskning har vist hormonforstyrrende effekter for en lang række kemiske stoffer. Både i Danmark og internationalt er der politisk enighed om, at menneskers og miljøets udsættelse for hormonforstyrrende stoffer (ED’er) skal minimeres. Men for at kunne prioritere indsatsen og øge kemikaliesikkerheden er det vigtigt at vide hvilke stoffer, der har en hormonforstyrrende effekt i mennesker og miljøet. Myndigheder og NGO’er verden over har sammensat lister over flere tusind stoffer, som er mistænkt for hormonforstyrrende virkning.

Forskere fra DTU Fødevareinstituttet og Syddansk Universitet har i et projekt for Miljøstyrelsen lavet en slags listernes liste over mistænkte hormonforstyrrende stoffer og vurderet den videnskabelige litteratur for en række af stofferne. Det er sket ud fra de kriterier, som EU, efter mange års forsinkelse, har fastsat for identificering af hormonforstyrrende biocider og pesticider.

Miljøstyrelsen har støttet projektet, fordi den videnskabelige dokumentation kan bruges til at påvirke EU reguleringen, så den beskytter forbrugerne og miljøet bedre end hidtil.

Formålene i projektet var at:

1. Indsamle relevante lister (kaldet baggrundslister) over mistænkte hormonforstyrrende stoffer og samle dem i én liste, kaldet basislisten
2. Prioritere stofferne ud fra eksponering og farlighed
3. Vurdere om nogle af de højt prioriterede stofferne opfylder de EU kriterier, som gælder for identificering af hormonforstyrrende biocider og pesticider

Rapporten er publiceret af Center for Hormonforstyrrende stoffer (<http://cend.dk/ed-liste.html>)<sup>1</sup>

### Listernes liste - basislisten

Figur 1 viser et overblik over oprettelsen af basislisten og prioriteringen af stoffer til grundig vurdering.

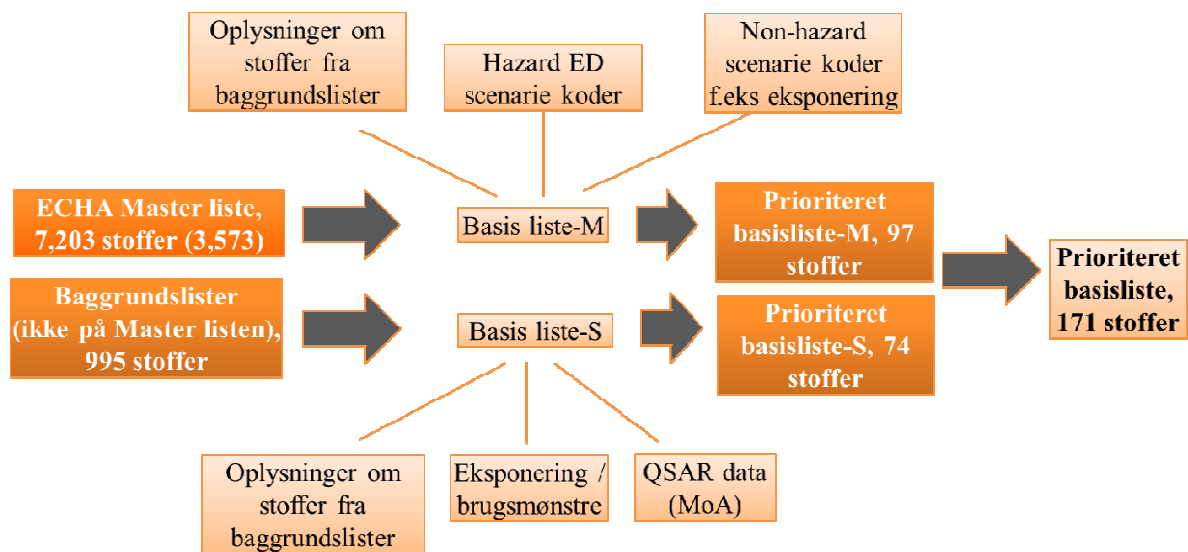
Det var oprindeligt planen at fokusere på allerede eksisterende og offentligt tilgængelige lister over mistænkte ED’er. Baggrundslisterne blev delvist fundet via et udkast til en IPCS rapport, mens andre allerede var kendt af projektgruppens medlemmer. Tabel 1 viser et overblik over baggrundslisterne inkl. antal stoffer, antal stoffer med Chemical Abstracts Service (CAS) nummer og hvor listerne er fra.

---

<sup>1</sup> ED LIST: Hass U, Christiansen S, Andersen MD, Rosenberg SA, Egebjerg KM, Brandt S, Nikolov NG, Holbech H, Morthorst JE (2018) List of Endocrine Disrupting Chemicals. Report from Danish Centre on Endocrine Disrupters for Danish EPA.

Link til rapport: [http://cend.dk/files/DK\\_ED-list-final\\_2018.pdf](http://cend.dk/files/DK_ED-list-final_2018.pdf)

Link til appendix [http://cend.dk/files/DK\\_ED-list-final\\_appendix1\\_2018.pdf](http://cend.dk/files/DK_ED-list-final_appendix1_2018.pdf)



Figur 1. Oprettelse af basisliste og prioritering af stoffer til videre analyse – oversigt. Af de 7.203 stoffer på Masterlisten var de 3.573 positive i en eller flere “ED scenarie koder” (tallet i parentes)

Tabel 1. Baggrundslisterne.

	Antal stoffer	Antal med CAS nr.
Udgivet af myndigheder		
CeHoS vurderinger <sup>1</sup>	26	26
EU Com Prio list <sup>2</sup>	408	408
Udgivet af NGO'er		
DK Consumer Council list <sup>3</sup>	32	34
SIN list <sup>4</sup>	94	97
Trade Union list <sup>5</sup>	71	115
TEDX list <sup>6</sup>	1038	1052
WHO list <sup>7</sup>	176	181

- 1) Assessment of Danish Criteria for Identification of Endocrine Disruptors (CeHoS 22+4 project) (Hass *et al.* 2012a, 2012b)
- 2) Priority List of Chemicals (European Commission, 2016a)
- 3) 32 Endocrine Disrupting Chemicals (Consumer Council, 2016)
- 4) Substitute it now! (SIN) list (ChemSec, 2016)
- 5) Trade Union Priority List for REACH Authorization (European Trade Union Confederation, 2010)
- 6) List of potential Endocrine Disruptors (TEDX, 2016)
- 7) State of the science of Endocrine Disrupting Chemicals 2012 (WHO, 2012)

Tidligt i projektforløbet blev det dog besluttet også at inkludere en upubliceret database fra European Chemicals Agency (ECHA) kaldet ECHA masterliste (herefter Masterlisten) med screeningdata for 7.203 stoffer. Masterlisten indeholdt en del information om stofferne fra nogle af baggrundslisterne, dvs. the Priority List of Chemicals (European Commission, 2016a), the SIN list (ChemSec, 2016), the List of potential Endocrine Disruptors (TEDX, 2016) and Endocrine Disrupting Chemicals 2012 (WHO, 2012). Ud fra Masterlisten fremkom basisliste-M med CAS numre og al relevant information.

De stoffer fra baggrundslisterne, hvis CAS numre ikke var på Masterlisten blev samlet i en supplerende liste, kaldet basisliste-S (se fig. 1).

Prioriteringen af stoffer på de to basislister blev udført hver for sig, fordi de ikke indeholdt den samme information, dvs. basisliste-M inkluderede koder for "hazard" (farlighed) og "non-hazard" (f.eks. eksponering) fra Masterlisten, mens dette ikke var muligt at fremskaffe for stofferne på basisliste-S.

Udviklingen af basisliste-S var baseret på CAS numre og der var totalt 987 stoffer. Der blev tilføjet eksponeringsdata fra SPIN databasen (Substances in Preparations in Nordic Countries; [www.spin2000.net](http://www.spin2000.net)) og MoA (Mode

of Action) information fra QSAR forudsigelser i en tidligere rapport til Miljøstyrelsen (Wedebye, 2014). Der var SPIN data for 190 af de 987 stoffer. Der var QSAR data for 381 af stofferne på basisliste-S, heraf havde 297 af stofferne en QSAR prædiktion af endokrin aktivitet (androgen receptor antagonisme, østrogen aktivitet eller thyreoidea receptor binding).

### Prioritering af stofferne

Blandt de 7.203 stoffer på basisliste-M var de 3.573 positive i en eller flere "ED scenario koder" (detaljeret beskrivelse kan ses på ECHAs hjemmeside<sup>1</sup>). De 3.573 stoffer blev prioriteret; først med kombinationer af ED scenario koderne for "toxicity to endocrine organs"; derefter med koder for ED MoA i QSAR og/eller ToxCast; og til slut ud fra eksponeringsdata i SPIN. En oversigt over resultaterne kan ses i tabel 2.

Stofferne på basisliste-S blev først prioritet ud fra QSAR prædiktion af endokrin virkningsmåde og derefter ud fra eksponeringsdata i SPIN databasen. En oversigt over resultaterne kan ses i tabel 3.

De samlede antal mistænkte hormonforstyrrende stoffer på basislisten og antallet af højt prioriterede stoffer er vist i tabel 4.

Tabel 2. Prioritering af stofferne på basisliste-M.

Antal stoffer med CAS nummer på ECHAs Masterliste og basisliste-M	7,203
Stoffer med en eller flere "ED scenario koder"	3,573
Stoffer med ED scenario kode "Toxicity to endocrine organs"	1,231
Stoffer med MoA ED scenario code (i QSAR og/eller ToxCast)	126
Stoffer rapporteret i SPIN databasen med sandsynlig til meget sandsynlig risiko for eksponering ("Likely to very likely")	<b>110* (97)</b>

\* Tallet (97) er antallet af stoffer (110) minus 11 stoffer, der er på CoRAP listen (ECHA's Community rolling action plan), og 2 stoffer der er på REACH kandidatliste over SVHC (Substances of Very High concern).

<sup>1</sup> [https://echa.europa.eu/documents/10162/19126370/screening\\_definition\\_document\\_en.pdf/e588a9f8-c55e-4412-a760-49ddb7ac687](https://echa.europa.eu/documents/10162/19126370/screening_definition_document_en.pdf/e588a9f8-c55e-4412-a760-49ddb7ac687)

Tabel 3. Prioritering af stofferne på basisliste-S.

Antal stoffer med CAS nummer på basisliste-S	995
Stoffer med prædiktion af endokrin virkningsmåde i QSAR	298
Stoffer med SPIN data	83
Stoffer rapporteret i SPIN databasen med sandsynlig til meget sandsynlig risiko for eksponering ("Likely to very likely")	<b>79(74)*</b>

\* Tallet (74) er antallet af stoffer (79) minus 5 stoffer, der er på the REACH kandidatliste.

Tabel 4. Samlede antal mistænkte stoffer på basislisten og antallet af højt prioriterede stoffer.

Antal stoffer med CAS nummer (7,203 + 995)	8,198
Antal mistænkte stoffer med CAS nummer (3,573+995)	4,568
Antal højt prioriterede stoffer	<b>189 (171*)</b>

\* Tallet (171) er antallet af stoffer (189) minus stoffer, der er på CoRAP listen (ECHA's Community rolling action plan) eller på REACH kandidatliste over SVHC (Substances of Very High Concern).

## Litteraturscreening og vurdering af stoffer for hormonforstyrrende effekt

### Er der data nok?

De prioriterede stoffer på basislisten er alle mistænkte for hormonforstyrrende effekt, men omfanget af data viste sig at variere fra meget få (næsten ingen) til en hel del data. Et tilfældigt udvalg af stoffer til vurdering ville derfor kunne medføre, at der ville mangle data for en del af stofferne og en grundig vurdering ville blive vanskelig (eller umulig). Der blev derfor foretaget en litteraturscreening i bl.a. PubMed inden valget af stoffer til grundig vurdering blev foretaget. Stoffer på CoRAP listen (ECHA's Community rolling action plan) eller på REACH kandidatliste pga. hormonforstyrrende effekt såvel som stoffer, der tidligere var blevet vurderet af CEHoS (Hass et al. 2012a and Hass et al. 2012b) blev ikke valgt til denne litteraturscreening.

Blandt de højt prioriterede stoffer (171) blev udvalgt 52 til litteraturscreening. Valget af de 52 stoffer var hovedsageligt tilfældigt og antallet afspejler, at der ikke var ressourcer til at lave litteraturscreening på alle de højt

prioriterede stoffer. Et overblik over dette arbejde kan ses i figur 2.

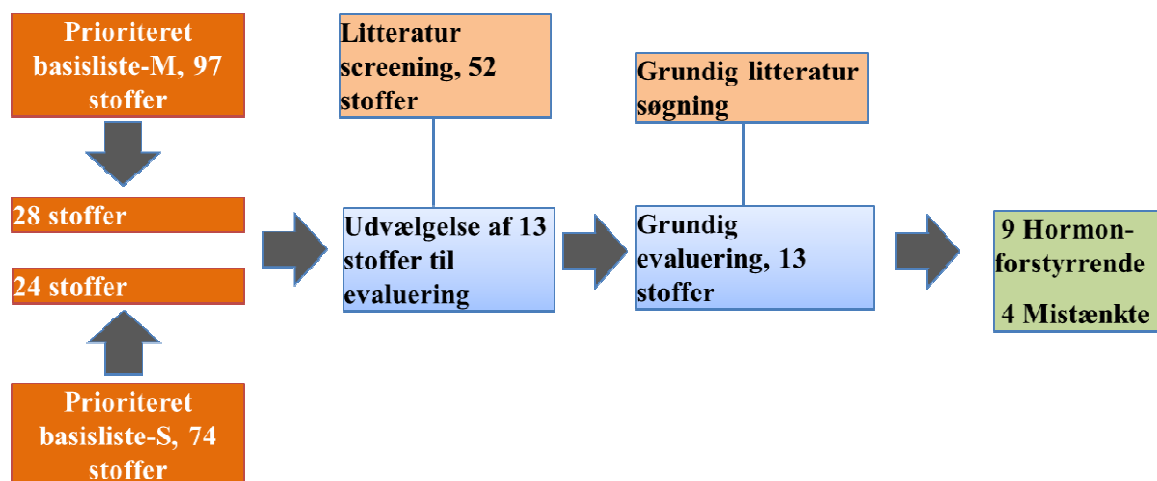
Resultaterne af screeningen tydede på, at der ville være data om både endokrin virkningsmåde og om relevante skadelige effekter for 26 af de 52 stoffer. Blandt disse blev udvalgt 13 stoffer, som blev evalueret grundigt ud fra EU's nye kriterier for biocider og pesticider. De 13 stoffer kan ses i tabel 5.

### Kriterier for vurdering af hormonforstyrrende effekt

Vurderingen af de 13 stoffer var baseret på de nye EU kriterier, som gælder for identificering af hormonforstyrrende biocider og pesticider. Ifølge et udkast til EU rapport om identificering af hormonforstyrrende stoffer<sup>1</sup> skal et stof anses som hormonforstyrrende, hvis det opfylder alle følgende kriterier:

<sup>1</sup> Draft for public consultation Guidance for the identification of endocrine disruptors in the context of Regulations (EU) No 528/2012 and (EC) No 1107/2009, December 7, 2017





Figur 2. Screening og evaluering af stoffer med hormonforstyrrende egenskaber – overblik.

- stoffet har skadelig virkning i en intakt organisme eller dens afkom og
- stoffet har endokrin virkningsmåde, dvs. ændrer funktionen / funktionerne i det endokrine system og
- der er en biologisk sandsynlig forbindelse mellem den endokrine aktivitet og den skadelige virkning

#### Vurdering af data

Alle studier for hvert af stofferne blev vurderet mht. kvalitet af studiet og graden af evidens. Kvalitetsvurderingen omfattede styrker og begrænsninger, inkl. identifikation af stoffet med CAS nr., oplysninger om renhed af stoffer, antallet af testede doser og gruppestørrelse for *in vivo* undersøgelser osv. Kvaliteten blev vurderet som lav, medium eller høj.

Evidensen i hvert studie blev vurderet som svag, moderat eller stærk baseret på bl.a. størrelsesorden af effekt og relevans af de undersøgte effekter. Det blev også vurderet, om de observerede effekter kunne være sekundære uspecifikke følger af andre toksiske effekter såsom cytotoxicitet (*in vitro* studier) eller generel toksicitet (dyreforsøg).

Den samlede evidens for *in vitro* og *in vivo* endokrin virkningsmåde, hormonrelaterede skadelige effekter og sandsynligheden for årsagssammenhæng mellem en hormonforstyrrende virkning af et stof og den skadelige effekt blev vurderet som svag, moderat eller stærk.

For at opfylde EU kriterierne blev det vurderet, at evidensen mindst skulle være moderat for både endokrin virkningsmåde (*in vitro* eller *in vivo*), hormon-relaterede skadelige effekter og sandsynligheden for forbindelse mellem endokrin virkningsmåde og skadelig effekt.

Human relevans af resultater fra dyreforsøg blev i overensstemmelse med EU kriterierne formodet, med mindre der var klare data, der viste mangel på human relevans.

#### Yderligere 9 stoffer vurderes som hormonforstyrrende

Der var solidt videnskabeligt belæg for den hormonforstyrrende effekt for 9 af de 13 stoffer. Der var huller i den tilgængelige viden om de fire andre, men der var betydeligt belæg for at betegne dem som mistænkt hormonforstyrrende. Et overblik ses i tabel 5.

Tabel 5. Overblik over resultaterne af grundig vurdering af 13 højt prioriterede stoffer fra basislisten. Der er angivet graden og typen af evidens. Stoffer mærket med H er vurderet mht. effekter på mennesker, mens stoffer mærket med M er vurderet mht. effekter på miljøet. Både Prochloraz og BPAF blev vurderet for H og M.

Stof (CAS)	<i>In vitro</i> virkningsmåde	<i>In vivo</i> virkningsmåde	Skadelig effekt	Sandsynlig forbindelse
<b>Stoffer vurderet som hormonforstyrrende</b>				
Prochloraz, H og M (67747-09-5)	Stærk; anti-østrogen og anti-androgen	Stærk; anti-androgen	Stærk; Anti-androgene effekter	Stærk
Triclocarban (101-20-2), H	Moderat; Forstærkning af androgen- og østrogen-aktivitet	Stærk; Androgen	Moderat; Øget vægt af alle accessoriske kønsorganer	Stærk
Octamethylcyclo-tetrasiloxane (D4) (556-67-2), H	Stærk; Østrogen	Stærk; Østrogen	Stærk; Reduceret fertilitet, atrofi af ovarier mv.	Stærk
Tris(methylphenyl) phosphate (1330-78-5), H	Stærk; Øget østrogenniveau	Ingen-svag	Stærk; Reproduktionsskader hos voksne hanner	Moderat
Salicylic acid (69-72-7), H	Moderat; Reduceret testosteron	Moderat; Anti-androgen, reduceret testosteron	Moderat; Effekt på sædceller	Stærk
Fenitrothion (122-14-5), H	Moderat; Anti-androgen og androgen	Stærk; Anti-androgen	Stærk; Nedsat AGD og øget antal brystvorter hos hanunger, effekt på testikler og sæd	Stærk
Di-n-pentylphthalate (131-18-0), H	Stærk; Nedsat steroidsyntese, Anti-androgen	Stærk; Anti-androgen	Stærk; Nedsat AGD, øget antal brystvorter og misdannelser af kønsorganer hos hanunger, effekt på reproduktionsorganer og sæd	Stærk
Bisphenol AF (1478-61-1), H og M	Stærk; Østrogen	Stærk; Østrogen	Stærk; Forsinket pubertet og klar effekt på fertilitet hos hanner; tidlig pubertet hos hunner	Stærk
Isobutylparaben (4247-02-3), H	Stærk; Østrogen	Stærk; Østrogen	Moderat; Effekter på sæd i hanunger; effekter på kønsspecifik adfærd	Moderat
<b>Stoffer vurderet som mistænkt hormonforstyrrende</b>				
Deltamethrin (52918-63-5), H	Stærk; AR antagonisme	Svag; AR antagonisme	Moderat; reproduktionsorganer hos hanner	Moderat
2-(4-tert-butylbenzyl)-propionaldehyde (80-54-6), H	Stærk; Østrogen Svag; anti-androgen	Ingen data	Svag til moderat; atrofi af testikler	Moderat

Stof (CAS)	In vitro virkningsmåde	In vivo virkningsmåde	Skadelig effekt	Sandsynlig forbindelse
<b>Stoffer vurderet som hormonforstyrrende</b>				
Bifenthrin (82657-04-3), M	Stærk: Østrogen	Moderat-Stærk: Østrogene metabolitter	Lav-moderat: Effekt på fertilitet i fisk	Moderat
Hexachlorophene (70-30-4), H	Moderat; Anti-østrogen	Ingen relevante data	Svag til moderat; Skadelige effekter på testikelhistologi	Svag

## Diskussion

### *Begrænsninger mht. eksponeringsdata, virkningsmåde eller skadelige effekter*

Under prioriteringen af stofferne på basislisten blev det tydeligt, at der manglede eksponeringsdata og/eller data om endokrin virkningsmåde for en hel del af stofferne. Det betyder, at der for nogle ikke-prioriterede stoffer på basislisten kan være høj eksponering eller endokrin virkningsmåde, men de er ikke blevet højt prioriterede i dette projekt pga. datamangel. Derudover dækker eksponeringsdata i SPIN databasen kun data fra nordiske lande. Så vidt vi ved, findes der ikke databaser svarende til SPIN databasen for andre EU lande, og det var derfor ikke muligt at skaffe eksponeringsdata for andre EU lande. Samlet set betyder det, at der kan være (langt) flere stoffer end de fundne 171 stoffer, der kunne være højt prioriterede.

Litteraturscreeningen af de 52 højt prioriterede stoffer viste, at der var mangel på relevante data om endokrin virkningsmåde eller skadelige effekter for ca. 40-50 % af stofferne (20-26 ud af 52) (Figur 3). For alle disse mistænkte stoffer peger eksponeringsdata på, at der er sandsynlig til meget sandsynlig risiko for eksponering, og det er derfor bekymrende, at der ikke er tilstrækkelige data til at vurdere, om stofferne er hormonforstyrrende.

### *Hvor mange stoffer er hormonforstyrrende?*

De ni ”nye” hormonforstyrrende stoffer, der er identificeret i projektet, viser kun toppen af isbjerget. I tabel 6 er vist et estimat af antallet

af hormonforstyrrende stoffer ud fra dette projekts resultater. Basis for estimatet er de resultater, der er fundet i projektet, dvs.:

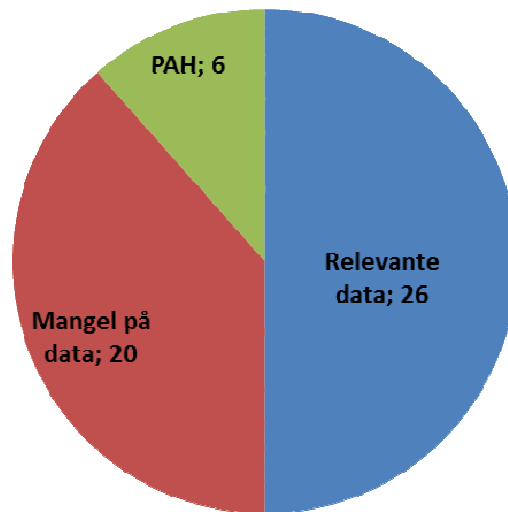
- Litteraturscreeningen tydede på at der er tilstrækkelige og relevante data for ca. 56 % af stofferne
- Den grundige vurdering af de stoffer, hvor litteraturscreening tydede på tilstrækkelige og relevante data, førte til, at 69 % af stofferne blev vurderede som hormonforstyrrende.

Estimatet tyder på, at der kan være flere end 1.000 hormonforstyrrende stoffer, men det er vigtigt at huske, at estimatet er behæftet med stor usikkerhed. For nogle af de potentielt hormonforstyrrende stoffer er der brug for en detaljeret vurdering. For ganske mange er der brug for mere forskning og flere data for at vurdere stoffernes hormonforstyrrende virkning, eventuelle skadelige effekt og for at vurdere, i hvor stort omfang mennesker og miljøet bliver udsat for stofferne. Denne mangel på data betyder at antallet af hormonforstyrrende stoffer kan være både lavere og højere end 1.000. Så svaret på spørgsmålet om, hvor mange stoffer, der er hormonforstyrrende, giver anledning at citere fra en gammel sang:

*“How many times can a man turn his head  
And pretend that he just doesn't see?*

*The answer, my friend, is blowin' in the wind*

*The answer is blowin' in the wind” (Bob Dylan 1963)*



Figur 3. Overblik over litteraturscreening af 52 stoffer af de 171 højt prioriterede stoffer på basislisten. "Mangel på data": mangler data om endokrin virkningsmåde eller relevante skadelige effekter; "Relevante data": Screeningen for data om endokrin virkningsmåde og relevante skadelige effekter tydede på, at stoffet er meget relevant at vurdere mht. hormonforstyrrende effekt; "PAH": PAH'er (polycykliske aromatiske hydrocarboner) blev fravalgt efter aftale med Miljøstyrelsen og det er derfor uvist, om der er relevante data.

Tabel 6. Estimat på antallet af hormonforstyrrende stoffer ud fra dette projekts resultater. Resultater fra projektet er angivet med sort skrift, mens estimater er angivet med blå skrift.

Stoffer	Antal	Data?	Hormonforstyrrende?
Evalueret	13	13 (100 %)	9 (69 %)
Screenet for litteratur	52	29 (56 %)	20 (69 %)
Prioriteret basisliste	171	99 (56 %)	68 (69 %)
Basisliste	4.568	2.548 (56 %)	1.758 (69 %)

## Konklusioner og anbefalinger

Projektets væsentligste konklusioner er at:

- Der er omkring 4.500 stoffer, der er mistænkte for at være hormonforstyrrende på "listernes liste", dvs. basislisten.
- Data for de enkelte mistænkte stoffer varierer betragteligt fra meget sparsomme til ganske omfattende.
- Prioritering baseret på data om skadelige effekter, endokrin virkningsmåde og risiko for eksponering førte til ca. 180 stoffer på en prioriterede basisliste.
- Litteraturscreening af 52 af de højt prioriterede stoffer viste datamangel for 40-50 % af stofferne.
- Grundig vurdering af 13 af de prioriterede stoffer konkluderede, at de 9 af stofferne opfylder EU's kriterier for hormonforstyrrende stoffer, mens 4 er klart mistænkte.

- 
- Et estimat på antallet af hormonforstyrrende stoffer ud fra dette projekts resultater tyder på, at der kan være flere end 1000 hormonforstyrrende stoffer, men estimatet er behæftet med stor usikkerhed pga. datamangel for mange stoffer

Det er vigtigt at huske at; - *"Absence of evidence for an effect is not evidence for absence of such an effect"*

Det anbefales at foretage yderlige vurderinger af stofferne på den prioriterede basisliste med fokus på:

- Grundig vurdering af resten af de relevante stoffer fra litteraturscreeningen, dvs. 13 stoffer
- Litteraturscreening af de ikke-screenede 119 højt prioriterede stoffer og grundig evaluering af de potentielt relevante stoffer

Yderligere oplysninger:

Ulla Hass, professor emerita,  
[ulha@food.dtu.dk](mailto:ulha@food.dtu.dk)

## Referencer

ChemSec. (2016). *SIN List*. Retrieved September 26, 2016, from <http://sinlist.chemsec.org/>

European Chemicals Agency (2016a). *ECHA's Annex XV report: "Proposal for identification of a substance of very high concern on the basis of the criteria set out in REACH article 57"*.  
<https://echa.europa.eu/en/support/authorisation/substances-of-very-high-concern-identification>

European Chemicals Agency (2016b). *Candidate List of substances of very high concern for Authorisation*. Retrieved December 14, 2016, from <http://echa.europa.eu/candidate-list-table>

European Chemicals Agency (2016c). *Substance evaluation - CoRAP*. Retrieved December 14, 2016, from <https://echa.europa.eu/information-on-chemicals/evaluation/community-rolling-action-plan/corap-list-of-substances>

European Commission. (2016a). *Priority List*. Retrieved September 26, 2016, from [http://ec.europa.eu/environment/chemicals/endocrine/strategy/substances\\_en.htm](http://ec.europa.eu/environment/chemicals/endocrine/strategy/substances_en.htm)

European Trade Union Confederation. (2010). *Trade Union Priority List*. Retrieved September 26, 2016, from <https://www.etuc.org/trade-union-priority-list>

Hass U, Christiansen S, Boberg J, Vinggaard AM, Andersson A-M, Skakkebæk NE, Bay K, Holbech H, Bjerregaard P. (2012a). *Evaluation of 22 SIN List 2.0 substances according to the Danish proposal on criteria for endocrine disrupters*. Report from Danish Centre on Endocrine Disrupters for Danish EPA  
<http://orbit.dtu.dk/files/51554411/SINreportandAnnex.pdf>

Derudover anbefales det generelt at afhjælpe datamangel med hensyn til endokrin virkningsmåde og hormonrelevante skadelige effekter for de mange stoffer, der mistænkes for at være hormonforstyrrende. Flere eksponeringsdata er også nødvendige, da mange af de mistænkte hormonforstyrrende stoffer ikke blev prioriterede på grund af mangel på eksponeringsdata. Dette arbejde vil være nødvendigt for at give et bedre bud på antallet af hormonforstyrrende stoffer og for at kunne forebygge alvorlige effekter på mennesker og miljø.

*"All scientific work is incomplete – whether it be observational or experimental. All scientific work is liable to be upset or modified by advancing knowledge. That does not confer upon us a freedom to ignore the knowledge we already have, or to postpone the action that it appears to demand at a given time."* (Sir Austin Bradford Hill *"The Environment and Disease: Association or Causation?"*, *Proceedings of the Royal Society of Medicine*, 58 (1965), 295-300).

---

Hass U, Christiansen S, Boberg J, Vinggaard AM, Andersson A-M, Skakkebæk NE, Bay K, Holbech H, Bjerregaard P. (2012b). *Evaluation of tebuconazole, triclosan, methylparaben and ethylparaben according to the Danish proposal for criteria for endocrine disrupters*. Report from Danish Centre on Endocrine Disrupters for Danish EPA <https://mst.dk/media/mst/9106715/chemicalsreportandannex.pdf>

Nordic Council of Ministers Chemical Group. *Substances in Preparations in the Nordic Countries (SPIN)*. Retrieved December 15, 2016, from <http://spin2000.net/>

TEDX. (2016). *TEDX List of Potential Endocrine Disruptors*. Retrieved September 26, 2016, from <http://www.endocrinedisruption.org/endocrine-disruption/tedx-list-of-potential-endocrine-disruptors/overview>

The International Panel on Chemical Pollution (IPCP) (2016). *Overview Report 1: A compilation of list of chemicals recognised as endocrine disrupting chemicals (EDCs) or suggested as potential EDCs*, from <http://wedocs.unep.org/handle/20.500.11822/12218>

Wedebye EB (2016). *Identification of potential endocrine disruptors by QSAR*.

World Health Organization (WHO) (2012). *State of the Science of Endocrine Disrupting Chemicals*. (Bergman Å, Heindel JJ, Jobling S, Kidd KA and Zoeller RT, Eds).

US National Library of Medicine National Institutes of Health (NCBI) (2016), from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>

---

# Ph.d.-afhandling omhandlende parfumeallergi

*Af Niels Højsager Bennike, Videncenter for Allergi, Hud- og Allergiafdelingen, Gentofte Hospital*

---

Parfumestoffer er en hyppig årsag til kontaktallergi og mere end 120 parfumestoffer brugt i kosmetik har et allergifremkaldende potentiale. Blandt disse skal 26 parfumestoffer inden for EU deklareres med navn, hvis de tilsættes til et kosmetisk produkt. Siden 2008 har de individuelle brugskoncentrationer af de fleste allergifremkaldende parfumestoffer været bestemt ud fra risikovurderingsmodellen "Quantitative Risk Assessment" (QRA), fremsat og udviklet af parfumeindustrien.

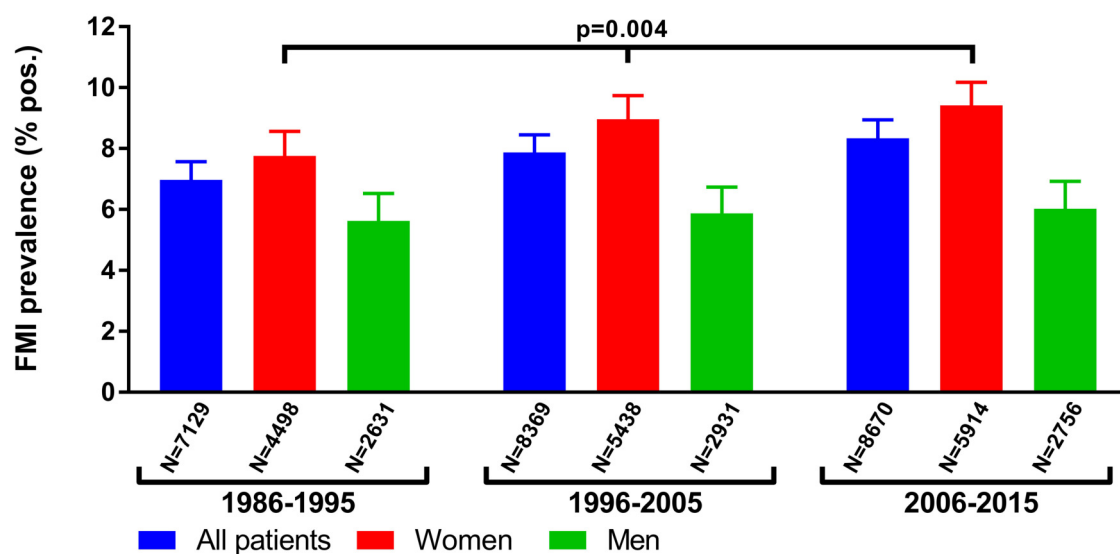
Den primære screening for parfumeallergi i klinikken udgøres af lappetest med parfumeblandingerne "fragrance mix I" (FMI) og "fragrance mix II" (FMII). Disse tester 14 allergifremkaldende parfumestoffer, der alle er blandt de 26 deklarationspligtige parfumestoffer. De seneste år er der rapporteret hyppige tilfælde af kontaktallergi over for parfumestoffet oxideret limonene, der indeholder allergifremkaldende limonene hydroperoxider (Lim-OOHs). Ofte ses kun svagt positive og tvivlsomt positive lappetestreaktioner over for dette parfumestof.

De overordnede formål med denne ph.d.-afhandling var:

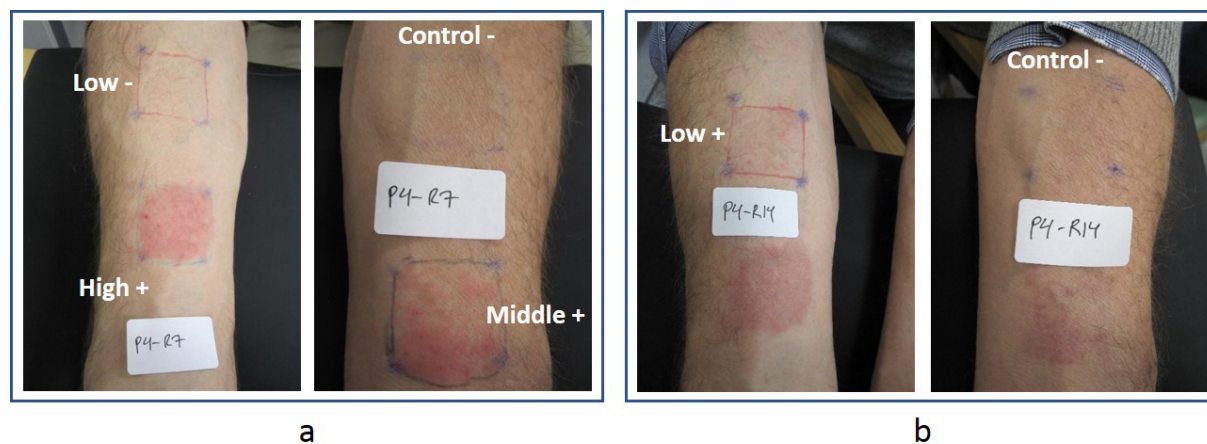
- At undersøge udviklingen over tid i kontaktallergi over for FMI, den vigtigste markør for parfumeallergi, blandt eksemptanter lappetestet over en 30-årig periode, med særligt fokus på perioden 2006-2015.
- At estimere en samlet prævalens af kontaktallergi over for parfumestoffer, samt individuelle prævalensestimater, blandt eksemptanter lappetestet fortløbende med alle 26 deklarationspligtige parfumestoffer samt FMI og FMII.
- At undersøge den kliniske relevans samt tærskelværdier for provokation af allergisk kontakteksem hos eksemptanter med enten en positiv eller tvivlsomt positiv lappetestreaktion over for standard Lim-OOHs 0,3% i petrolatum (pet.).

## Metode

Metoden og resultaterne fra denne afhandling er publiceret i 3 artikler i internationale dermatologiske tidsskrifter (1,2,3). De første to artikler i afhandlingen er tværnsnits-registerstudier baseret på lappetestdata fra Hud- og Allergiafdelingen, Københavns Universitetshospital Herlev og Gentofte. I det første studie (1) blev udviklingen i kontaktallergi over for FMI over tid undersøgt blandt 24.168 fortløbende eksemptanter for perioden 1986-2015. I det andet studie (2) blev kontaktallergi over for FMI, FMII og de 26 deklarationspligtige parfumestoffer undersøgt blandt 6.004 fortløbende eksemptanter for perioden 2010-15. Den tredje artikel (3) i afhandlingen omhandler et eksperimentelt "repeated open application test" (ROAT) studie med LimOOHs udført på Hud- og Allergiafdelingen, Herlev og Gentofte Hospital samt på Hudafdelingen på Sahlgrenska Universitetssygehus, Göteborg. Studiet inkluderede deltagere med enten en tidligere positiv eller tvivlsomt positiv lappetest over for Lim-OOHs 0,3 % i pet, samt raske kontroller. I den eksperimentelle del af studiet blev deltagerne eksponeret for én (raske kontroller) eller tre (allergiske og muligt allergiske individer) doser af Lim-OOHs i en simuleret parfume (alkohol/vand) to gange dagligt i op til 21 dage.



Figur 1: Udviklingen i kontaktallergi over for Fragrance Mix I (FMI), den vigtigste markør for parfumeallergi, over en 30-årig periode fra 1986 til 2015 blandt eksempatienter henvist til lappetest på Herlev og Gentofte Universitetshospital. Blandt kvindelige eksempatienter (rød farve) blev der observeret en signifikant stigning i allergi over for FMI over de 3 årtier. Inden for perioden 2006-2015 blev der observeret signifikante stigninger i FMI kontaktallergi blandt både mandlige og kvindelige eksempatienter (se tekst for yderligere detaljer) (1).



Figur 2: Eksperimentelt udløst allergisk kontakteksem hos en patient med en svagt positiv lappetest over for limonene hydroperoxider 0,3% pet. Billede "a" viser reaktioner efter 7 dages eksponering for den simulerede parfume indeholdende 3 forskellige koncentrationer af parfumestoffet samt en kontrol uden parfume. Der ses positive reaktioner på henholdsvis den høje og mellem dosis. Efter yderligere 7 dages eksponering (billede "b") reagerede patienten også på den simulerede parfume indeholdende den laveste dosis af parfumestoffet, dog fortsat uden at reagere på kontrollen bestående af vand og alkohol (3).



---

## Resultater

I perioden 1986-2015 havde 7,8 % af alle eksempatienter kontaktallergi over for FMI. En stigning i hyppigheden af FMI kontaktallergi blev observeret blandt kvindelige eksempatienter undersøgt over de 3 årtier (figur 1). I perioden 2011-15 fik 10,4 % af kvindelige og 7,3 % af mandlige eksempatienter konstateret kontaktallergi over for FMI, begge estimater var signifikant højere end for den forudgående 5-årige periode. En positiv lappetest over for FMI var af klinisk relevans hos 78 % af patienterne uden nogen observeret ændring i denne andel mellem 2006-10 og 2011-15. Kosmetik udgjorde 95 % af relevante eksponeringer hos patienter med aktuell relevans af deres kontaktallergi over for FMI.

Med den bredere screening for parfumeallergi undersøgt i det andet studie, blev 15,7 % af de undersøgte eksempatienter diagnosticeret med kontaktallergi over for FMI, FMII eller et af de 26 deklarationspligtige parfumestoffer i perioden 2010-15. Blandt de 26 parfumestoffer var der flest positive reaktioner over for linalool hydroperoxider (Lin-OOHs) (3,9 %), *E. furfuracea* (eng. Tree moss) (3,0 %) og Lim-OOHs (2,5 %). Kun 30-50 % af disse patienter havde en samtidig positiv lappetest over for FMI eller FMII, der mange steder udgør den primære screening over for parfumeallergi.

I det eksperimentelle studie blev der inkluderet 11 deltagere med en positiv lappetest over for Lim-OOHs 0,3 % i pet. Blandt disse reagerede henholdsvis 11 (100 %), 7 (64 %) og 3 (27 %) efter eksponering for den simulerede parfume indeholdende doser af Lim-OOHs på 3,0 µg/cm<sup>2</sup> (1260 ppm), 0,99 µg/cm<sup>2</sup> (420 ppm) og 0,33 µg/cm<sup>2</sup> (140 ppm). Ingen raske kontroller reagerede på den højeste dosis, og denne forskel i reaktion var signifikant ( $p < 0.0001$ ). Blandt 13 deltagere med en tvivlsomt positiv lappetest over for Lim-OOHs 0,3 % i pet. reagerede 2 (15 %) på den simulerede parfume indeholdende den højeste dosis af Lim-OOHs ( $p = 0.36$  versus raske kontroller). En af disse deltagere reagerede også på både den

mellemste og laveste dosis af Lim-OOHs i den simulerede parfume.

## Konklusion

Konklusionen fra denne ph.d.-afhandling er, at parfumeindustriens selvregulering har svigtet i forhold til at etablere sikre brugskoncentrationer af allergifremkaldende parfumestoffer i forbrugerprodukter. Effektiv primær forebyggelse af kontaktallergi over for parfumestoffer, helst i form af forbud, kræver uafhængig videnskabelig dokumentation for vedvarende høj hyppighed af sensibilisering, kvantitativ eksponeringsvurdering og kliniske studier af tærskelværdier for provokation af allergisk kontakteksem samt dosis-respons forhold. Screening med de 26 deklarationspligtige parfumestoffer forbedrer markant diagnostikken af parfumeallergi. Fuld deklaration af alle allergifremkaldende parfumestoffer i kosmetik er kritisk for yderligere forbedring af diagnostikken samt sekundær forebyggelse. Resultaterne af denne afhandling underbygger den kliniske relevans af kontaktallergi over for Lim-OOH. Videre eksponeringskvantificering for de enkelte hydroperoxider i oxideret limonene er vigtig i den videre risikovurdering af denne hyppige årsag til kontaktallergi.

Yderligere oplysninger. Niels Bennike  
[nielshb@gmail.com](mailto:nielshb@gmail.com)

## Referencer

1. Bennike NH, Zachariae C, Johansen JD. *Trends in contact allergy to fragrance mix I in consecutive Danish patients with eczema from 1986 to 2015: a cross-sectional study*. Br J Dermatol 2017;176(4):1035-41.
2. Bennike NH, Zachariae C, Johansen JD. *Non-mix fragrances are top sensitizers in consecutive dermatitis patients – a cross-sectional study of the 26 EU-labelled fragrance allergens*. Contact Dermatitis 2017;77(5):270-9.
3. Bennike NH, Palangi L, Christensson JB et al. *Allergic contact dermatitis caused by hydroperoxides of limonene and dose-response relationship-A repeated open application test (ROAT) study*. Contact Dermatitis 2019;80(4): 208-16.

---

# Nikkelallergi: betydning af kort gentagen hudkontakt

Af Malin Glindvad Ahlström, Videncenter for Allergi, Hud- og Allergiafdelingen, Gentofte Hospital

---

Kontaktallergi er en type IV hypersensitivitetsreaktion, som viser sig på huden som eksem. Nikkel er den hyppigste årsag til kontaktallergi på verdensplan. Nikkelallergi opstår som følge af hudkontakt med metalgenstande, som frigiver nikkel, oftest forbrugergenstande såsom øreringe, smykker og armbåndsure. For at forebygge nikkelallergi i befolkningen blev en lovgivning implementeret på EU niveau år 2000. På trods af at lovgivningen har haft effekt, viser de seneste undersøgelser, at 8-18 % af europæiske voksne og 8-10 % af børn/unge har nikkelallergi (1,2). Det vides ikke, hvorfor nikkelallergi vedvarende er hyppig. En af flere mulige årsager er, at kun genstande beregnet til direkte og langvarig hudkontakt er omfattet af lovgivningen. I dette studie har vi undersøgt, hvilke risikoudsættelser, som er hyppigst i dag, samt om kortvarig hudkontakt med metalgenstande kan føre til nikkelallergi og eksem. Resultaterne viste, at de vigtigste årsager til nikkelallergi er uændrede over tid. Endvidere fandt vi, at kortvarig kontakt med nikkelfrigivende metalgenstande kan føre til nikkeleksem på hud med nedsat barriere og hud med tidligere eksem. Denne viden er vigtig for en bedre forståelse af kontaktvarighedens betydning i patogenesen ved nikkelallergi og kan også bruges i lovgivningsøjemed.

## Baggrund

Berøring med nikkel er uundgåeligt i vores samfund, og de fleste af os har på daglig basis gentagen hudkontakt med mange forskellige nikkel-indeholdende genstande. Generelt er det antaget, at langvarig hudkontakt er påkrævet for udvikling af nikkelallergi og nikkeleksem. Grunden til denne antagelse er, at udvikling af nikkelallergi kræver, at huden bliver eksponeret for frie nikkationer, som kan penetrere

det øverste hudlag. Deponering af nikkel på huden sker ved korrosion af metallet i berøring med huden, hvilket kan være tidskrævende. Nye undersøgelser tyder dog på, at friktion mellem hud og metal kan føre til hurtig nikkeldeponering på huden indenfor sekunder til minutter (3). Den nuværende EU-lovgivning omfatter genstande, som er beregnet til hudkontakt i *'30 minutter én gang eller 10 minutter 3 gange indenfor en periode på 2 uger'* (4). Tidsintervallerne er baseret på teoretiske beregninger, mens den kliniske relevans ikke er undersøgt. Nikkelallergi er vedvarende hyppig, også hos de unge, som burde være beskyttet af en effektiv lovgivning. Der er for nylig vist en forekomst sv.t. 9,8 % blandt 16-årige svenske piger (5). Formålet med studiet var at undersøge de vigtigste risikoudsættelser for udvikling af nikkelallergi og eksem i dag samt at vurdere, om den nuværende EU nikkelregulering er tilstrækkelig beskyttende med hensyn til kort gentagen nikkelkontakt.

## Metode og resultater

En spørgeskemaundersøgelse og et klinisk eksperimentelt studie blev foretaget.

### Spørgeskemastudie

Spørgeskemaundersøgelsen blev sendt ud til 524 nikkelallergiske patienter fra Hud- og Allergiafdelingen på Gentofte Hospital. Spørgeskemaet blev sendt ud 3 gange i papirform og 65,3 % (342 patienter) svarede. I perioden 2010-2015 rapporterede 51% (173/342) af patienterne, at de havde oplevet eksem efter berøring med metalgenstande. De genstande, som hyppigst havde ført til eksem efter implementering af lovgivningen, var øreringe, andre smykker, knapper, bæltespænder og armbåndsure (i prioriteret rækkefølge). De samme genstande rapporteredes at føre til

Tabel 1. Metalgenstande, der førte til første- og sidste tilfælde af eksem. Publikation 'Nickel allergy in a Danish population 25 years after the first nickel regulation', Ahlström MG, Menné T, Thyssen JP, Johansen JD. Contact Dermatitis. 2017;76(6): 325-332. Copyright ©2017, John Wiley & Sons Ltd.

	First-time dermatitis				Most recent dermatitis			
	Women n= 276	Men n= 18	Total n= 294	p-Value	Women n= 276	Men n= 18	Total n= 294	p-Value
Age at dermatitis (years): Median; 25/75	16 12–25	18 25–50	16 13–25	– –	40 30–51	47 33–63	40 30–51	– –
Items causing dermatitis, n (%)								
Earrings	187 (67.8)	3 (16.7)	190 (64.6)	< 0.001	133 (48.2)	1/18 (5.6)	134 (45.6)	< 0.001
Buttons on clothing	153 (55.4)	3 (16.7)	156 (53.1)	0.001	85 (30.8)	3/18 (16.7)	88 (29.9)	NS
Wrist watches	142 (51.4)	10 (55.6)	152 (51.7)	NS	62/275 (22.5)	5/18 (27.8)	67/293 (22.9)	NS
Other jewellery	138 (50)	4 (22.2)	142 (48.3)	0.02	96 (34.8)	2/18 (11.1)	98 (33.3)	0.04
Zips	65 (23.6)	1 (5.6)	66 (22.4)	NS	33 (12.0)	1/18 (5.6)	34 (11.6)	NS
Belt buckles	53 (19.2)	9 (50.0)	62 (21.1)	0.002	26 (9.4)	9/18 (50)	35 (11.9)	< 0.001
Spectacles	20 (7.2)	4 (22.2)	24 (8.2)	0.048	21 (7.8)	4/18 (22.2)	25 (8.5)	0.05
Hair clips	21 (7.6)	0	21 (7.1)	NS	17 (6.2)	0	17 (5.8)	NS
Keys	16 (5.8)	3 (16.7)	19 (6.5)	NS	27/275 (9.8)	2/18 (11.1)	29/293 (9.9)	NS
Coins	16 (5.8)	1 (5.6)	17 (5.8)	NS	23 (8.3)	0	23 (7.8)	NS
Scissors	6 (2.2)	0	6 (2.0)	NS	4 (1.4)	0	4 (1.4)	NS
Tools	3 (1.1)	1 (5.6)	4 (1.4)	NS	3 (1.4)	1/18 (5.6)	4 (1.4)	NS
Computers	3 (1.1)	0	3 (1.0)	NS	4 (1.4)	0	2 (1.4)	NS
Mobile phones	1 (0.4)	0	1 (0.3)	NS	3 (1.1)	0	3 (1.0)	NS
Lighters	1 (0.4)	0	1 (0.3)	NS	2 (0.7)	0	2 (0.7)	NS

NS, not significant.

Items that were added to the list by patients were: hooks on clothing (brassieres) and coat hangers (7); shoes (2); water taps (2); cutlery (1); door handles (1), pins/knives (1); MP3 ear plugs (1); workplace identity card holders; (1) and handles of office stamps (1).

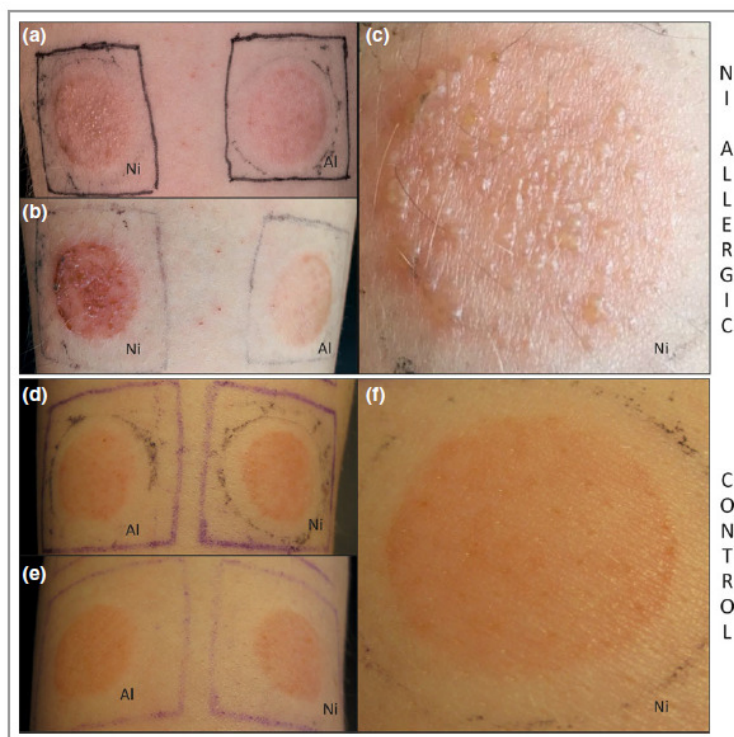
nikkeleksem før implementering af lovgivningen, om end rækkefølgen var anderledes (tabel 1). Patienterne oplyste, at de genstande, der havde ført til eksem første gang, var nogenlunde de samme, som havde ført til deres sidste tilfælde af eksem. Hudkontakt med varighed op til 30 minutter havde ført til eksem hos 30,7 % og med varighed op til 10 minutter hos 21,4 % af nikkelallergikere.

#### Klinisk eksperimentelt studie

Seksten nikkelallergikere og 10 kontrolpersoner uden nikkelallergi blev eksponeret for nikkelskiver og aluminium kontrolskiver på deres underarme. Metalskiverne blev fastsat med tape på begge deres underarme i tre 10-minutters perioder, modsvarende den minimumsvarighed som lovgivningen omfatter. Én af underarmene var forudbehandlet med et sæbestof for at irritere huden, hvorimod den anden arm var ubehandlet. Efter eksponeringen

blev patienterne fulgt i tre dage, hvor vi observerede evt. udvikling af eksem samt målte blodgennemstrømningen med laser doppler teknik som et udtryk for inflammation. Endvidere målte vi deponering af nikkel på huden samt penetration af nikkel i det øverste hudlag med 7 tape strips. Tape stripping er en metode, hvor flere stykker tape fortløbende bliver fastsat på det samme hudområde, hvorefter indholdet på hver tape bliver målt. Med denne metode, kan man bestemme nikkel mængde/areal deponeret på huden samt nikkel penetration i hudens øverste lag (stratum corneum). I dette studie blev nikkelindholdet på hver tape strip målt med inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS).

I alt udviklede 63,5 % af nikkelallergikere et allergisk nikkeleksem på irriteret hud og 18,5 % på normal hud, hvor der tidligere havde været eksem (figur 1). Blodgennemstrømningen steg signifikant mere fra baseline på



Figur 1. Foto af hudreaktioner på præirriteret hud hos en nikkelallergiker (a-c) og en kontrolperson (d-f) dag 2 (a, d) og dag 4 (b,e) efter eksponering for nikkel og aluminium kontrol skiver. (c, f) closeup af nikkeleksponeret hud dag 2, modsvarende (c) og (d). Publikation 'Short contact with nickel causes allergic contact dermatitis: an experimental study', Ahlström MG, Thyssen JP, Menné T, Midander K, Julander A, Lidén C, Johnsen CR, Johansen JD. British journal of Dermatology. 2018 Nov;179(5):1127-1134. Copyright ©2018, John Wiley & Sons Ltd.

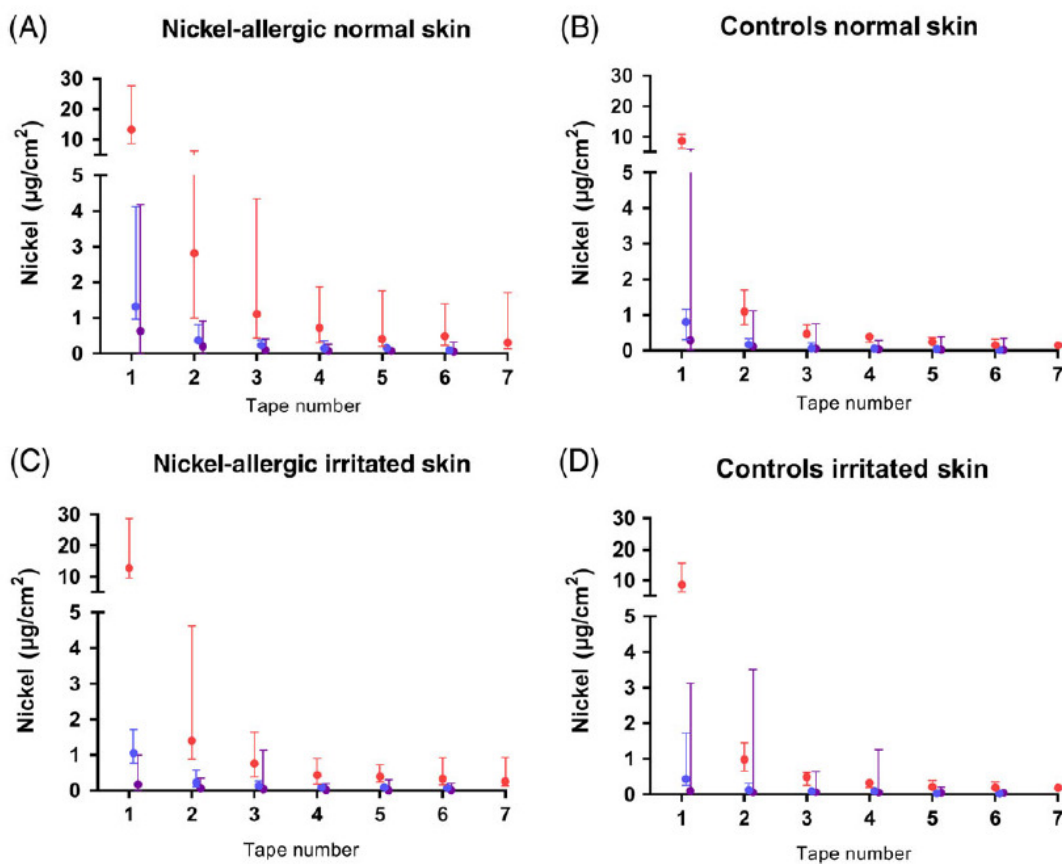
præirriteret hud, som var eksponeret med nikkel sammenlignet med aluminiumkontrol. Nikkelpenetration i det øverste hudlag foregik hurtigt - inden for en time - og kunne måles op til 72 timer efter eksponeringen. I kontrolgruppen udviklede ingen allergisk nikkel-eksem, og der blev fundet signifikant lavere nikkelmængder deponeret på huden og penetreret ind i huden hos disse personer (figur 2).

## Diskussion

Vi konkluderer, at primære årsager til nikkelallergi i Danmark i dag fortsat er de forbruger-genstande, der førte til implementering af en nikkelregulering. Metalgenstande, som er omfattet af EU's nikkellovgivning, såsom smykker (f.eks. øreringe, andre smykker, armbåndsur) og metal i tøj (f.eks. knapper, bæltespænder etc.) blev hyppigst rapporteret at

føre til eksem. Genstande, som bruges i kortere tidsintervaller og ikke er omfattede af lovgivningen, som f.eks. nøgler, mønter og sakse, blev angivet i nogen udstrækning. Flere markedsundersøgelser har vist, at lovgivningen ikke bliver overholdt (6,7), hvilket understøttes af vores resultater. Endvidere fremstår øreringe til piercede ører at være ekstra problematiske. Nye studier på Videncenter for Allergi er i gang for at undersøge risikoen for nikkelallergi og eksem ved piercing.

Resultaterne fra både spørgeskemaundersøgelsen og det eksperimentelle studie indikerer, at relativt kort hudkontakt (tre 10-minutters perioder) er tilstrækkeligt til at fremkalde allergisk nikkeleksem hos nikkelallergikere. I overensstemmelse med udvikling af eksem, målte vi høje og klinisk betydende nikkelmængder på huden efter eksponeringerne. Der



Figur 2. Nikkelmængder per tape ( $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) på forskellige tidspunkter efter eksponering (0, 24 og 72 h) i normal og præ-irriteret hud hos nikkelallergikere (A, C) og raske kontroller (B, D). Bars indikerer interquartile range, markeringer indikerer median værdi, og farverne tidspunkter: rød - 0 h, blå - 24 h, lilla - 72 h. Publikation 'Nickel deposition and penetration into the SC after short metallic nickel contact: an experimental study', Ahlström MG, Midander K, Menné T, Lidén C, Johansen JD, Julander A, Thyssen JP. *Contact Dermatitis*. 2019 Feb;80(2):86-93. Copyright ©2018, John Wiley & Sons Ltd.

er således grund til fortsat at regulere genstande beregnet til relativt kort hudkontakt.

Vores resultater peger også på, at risikoen for at udvikle nikkelallergi kan være individuelt forskellig grundet stor variation i nikkeldeponering efter hudkontakt. Dette er et nyt fund, som bør følges op med større studier, hvor mulige bestemmende faktorer, såsom kvantificering af sved og dets pH er inkluderet.

Denne artikel er baseret på tre publicerede peer-review artikler, inkluderet i Ph.d. afhandlingen 'Nickel allergy: effect of repeated exposures and skin barrier integrity':

1. Ahlström MG, Menné T, Thyssen JP, Johansen JD. *Nickel allergy in a Danish population 25 years after the first nickel regulation*. *Contact Dermatitis* 2017;76(6):325-32.
2. Ahlström MG, Thyssen JP, Menné T, Midander K, Julander A, Lidén C, Johansen CR, Johansen JD. *Short contact with nickel causes allergic contact dermatitis: an experimental study*. *Br J Dermatol* 2018;179(5):1127-34.
3. Ahlström MG, Midander K, Menné T, Lidén C, Johansen JD, Julander A, Thyssen JP. *Nickel deposition and penetration into the SC after short metallic nickel contact: an experimental study*. *Contact Dermatitis* 2019 ;80(2):86-93.

---

Yderligere oplysninger:

Malin Glindvad Ahlström

[malin.glindvad.ahlstroem.01@regionh.dk](mailto:malin.glindvad.ahlstroem.01@regionh.dk)

## Referencer

1. Diepgen TL et al. *Prevalence of contact allergy in the general population in different European regions*. Br J Dermatol 2016;174:319-29.
2. Lidén C. *Metal Allergy: Nickel. in Metal Allergy. From Dermatitis to Implant and Device Failure* 2018; 423-34 .
3. Erfani B, Lidén C, Midander K. *Short and frequent skin contact with nickel*. Contact Dermatitis 2015;73:222-30.
4. European Chemicals Agency (ECHA) (2014). *Prolonged contact with the skin- Definition building for nickel*. Last accessed: 6 April 2019 from:\*
5. Lagrelius M, Wahlgren CF, Matura M, Kull I, Lidén C. *High prevalence of contact allergy in adolescence: Results from the population-based BAMSE birth cohort*. Contact Dermatitis 2016;74:44-51.
6. Thyssen JP et al. *Excessive nickel release from earrings purchased from independent shops and street markets - a field study from Warsaw and London*. J Eur Acad Dermatology Venereol 2011;25:1021-6.
7. Krecisz B, Chomiczewska D, Palczynski C, Kiec-Swierczynska M. *Contact allergy to metals in adolescents. Nickel release from metal accessories 7 years after the implementation of the EU Nickel Directive in Poland*. Contact Dermatitis 2012;67: 270-6.

\* [https://echa.europa.eu/documents/10162/13641/nickel\\_restriction\\_prolonged\\_contact\\_skin\\_en.pdf](https://echa.europa.eu/documents/10162/13641/nickel_restriction_prolonged_contact_skin_en.pdf)

---

# NordMar Plastic: Et nyt nordisk netværk om mikroplast

Af *Katrin Vorkamp*<sup>1</sup> og *Jakob Strand*<sup>2</sup>

---

Plastaffald i havet er en af de største miljøudfordringer i vores tid. Mikroplast er den komponent, der er mindre end 5 mm. Der skelnes mellem primær mikroplast, dvs. små partikler, der fremstilles og bruges industrielt, og sekundær mikroplast, der dannes i miljøet, når større partikler nedbrydes. Det er bekymrende, at mikroplast kan optages og ophobes i fødekæder, samtidig med at materialet har en lang levetid og hovedsageligt nedbrydes til endnu mindre partikler, muligvis af nano-størrelse. Desuden kan mikroplast transportere forskellige kemikalier, der sætter sig på partiklerne eller er tilføjet ved produktionen. Det Europæiske Kemikalieagentur (Environmental Chemical Agency, ECHA) har nu foreslået at begrænse den industrielle brug af primær mikroplast (1).

Målinger af mikroplast i miljøet indebærer den udfordring, at mikroplast forekommer i mange former, størrelser og materialer. Avancerede analyseteknikker såsom Fourier Transform Infrared (FTIR) spektroskopi kan bruges til at identificere og kvantificere mikroplastpartikler, dvs. hvor mange partikler af hvilken type polymer der findes i en prøve. Men der mangler generelt en harmonisering af målemetoder og en udvikling af normative standardmetoder og -protokoller, der beskriver prøvetagningen, ekstraktionen af plastpartikler fra en miljøprøve og den instrumentelle bestemmelse. Dertil hører også kvalitetssikringen, som er et vigtigt element i analysen af mikroplastpartikler. Da de små partikler forekommer overalt i miljøet, kan en prøve hurtigt blive kontamineret under transporten eller analysen i laboratoriet.

---

<sup>1</sup> Aarhus Universitet, Institut for Miljøvidenskab, Frederiksborgvej 399, Roskilde; [kvo@envs.au.dk](mailto:kvo@envs.au.dk)

<sup>2</sup> Aarhus Universitet, Institut for Bioscience, Frederiksborgvej 399, Roskilde; [jak@bios.au.dk](mailto:jak@bios.au.dk)

NordMar Plastic er et nyt nordisk netværk, der bl.a. har til formål at udvikle harmoniserede metoder til analysen af mikroplast. Dette sker i samarbejde med lignende aktiviteter på europæisk plan og i marine fagorganisationer såsom Oslo-Paris Commission for the Protection of the North-East Atlantic (OSPAR) og Det Internationale Havundersøgelsesråd (International Council for the Exploration of the Sea, ICES). NordMar Plastic er finansieret af Nordisk Ministerråd og ledet af Matís (Island). Netværket havde sit opstartsmøde i Reykjavik i februar 2019 og er nedsat indtil udgangen af 2021.

I februar 2020 er NordMar Plastic medarrangør af konferencen ”International Symposium for Plastics in the Arctic and Subarctic Region” (<http://www.arcticplastics2020.is/index.php/en/>).

Det nordiske netværk er specielt interesseret i forholdene i Arktis, som også er truet af plastforurening. Arbejdsgruppen for arktisk overvågning (Arctic Monitoring and Assessment Programme, AMAP) under Arktisk Råd har udgivet en rapport, der påpeger den voksende forekomst af plastaffald i Arktis (2). Netværket vil også udarbejde undervisningsmateriale og informere offentligheden om forureningsproblematikken.

Yderligere oplysninger:

Katrin Vorkamp  
[kvo@envs.au.dk](mailto:kvo@envs.au.dk)

1. ECHA (2018). *Annex XV restriction report. Proposal for a restriction – intentionally added microplastics*. European Chemicals Agency, Helsinki, Finland.
2. AMAP (2017). *Contaminants of emerging Arctic concern*. Arctic Monitoring and Assessment Programme, Oslo, Norway.

---

## Nyheder

### Aktuelle danske artikler med open access

Andersen V, Halekoh U, Tjønneland A, Vogel U, Kopp TI. Intake of Red and Processed Meat, Use of Non-Steroid Anti-Inflammatory Drugs, Genetic Variants and Risk of Colorectal Cancer: A Prospective Study of the Danish "Diet, Cancer and Health" Cohort. *Int J Mol Sci* 2019;20(5). pii: E1121.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6429260/>

Bank-Nielsen PI, Long M, Bonefeld-Jørgensen EC. Pregnant Inuit Women's Exposure to Metals and Association with Fetal Growth Outcomes: ACCEPT 2010-2015. *Int J Environ Res Public Health* 2019;16(7). pii: E1171.

<https://www.mdpi.com/1660-4601/16/7/1171>

Bjerregaard-Olesen C, Bach CC, Long M, Wielsøe M, Bech BH, Henriksen TB, Olsen J, Bonefeld-Jørgensen EC. Associations of Fetal Growth Outcomes with Measures of the Combined Xenoestrogenic Activity of Maternal Serum Perfluorinated Alkyl Acids in Danish Pregnant Women. *Environ Health Perspect* 2019;127(1):17006.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30676078>

Brønnum-Hansen H, Bender AM, Andersen ZJ, Sørensen J, Bønløkke JH, Boshuizen H, Becker T, Diderichsen F, Loft S. Assessment of impact of traffic-related air pollution on morbidity and mortality in Copenhagen Municipality and the health gain of reduced exposure. *Environ Int* 2018;121(Pt 1):973-980.

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0160412018312844?via%3Dihub>

Dahlerup BR, Egsmose EL, Siersma V, Mortensen EL, Hedegaard M, Knudsen LE, Mathiesen L. Maternal stress and placental function, a study using questionnaires and biomarkers at birth. *PLoS One* 2018;13(11):e0207184.

<https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0207184>

Hvidtfeldt UA, Sørensen M, Geels C, Ketzel M, Khan J, Tjønneland A, Overvad K, Brandt J, Raaschou-Nielsen O. Long-term residential exposure to PM<sub>2.5</sub>, PM<sub>10</sub>, black carbon, NO<sub>2</sub>, and ozone and mortality in a Danish cohort. *Environ Int* 2019;123:265-272.

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S016041201831969X?via%3Dihub>

Kuhn KG, Nielsen EM, Mølbak K, Ethelberg S. Determinants of sporadic *Campylobacter* infections in Denmark: a nationwide case-control study among children and young adults. *Clin Epidemiol* 2018;10:1695-1707.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6255050/>

Long M, Ghisari M, Kjeldsen L, Wielsøe M, Nørgaard-Pedersen B, Mortensen EL, Abdallah MW, Bonefeld-Jørgensen EC. Autism spectrum disorders, endocrine disrupting compounds, and heavy metals in amniotic fluid: a case-control study. *Mol Autism* 2019;10:1.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6327542/>

---



---

Poulsen AH, Raaschou-Nielsen O, Peña A, Hahmann AN, Nordsborg RB, Ketzel M, Brandt J, Sørensen M. Impact of Long-Term Exposure to Wind Turbine Noise on Redemption of Sleep Medication and Antidepressants: A Nationwide Cohort Study. *Environ Health Perspect* 2019; 127(3):37005.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30864815>

Poulsen AH, Raaschou-Nielsen O, Peña A, Hahmann AN, Nordsborg RB, Ketzel M, Brandt J, Sørensen M. Long-Term Exposure to Wind Turbine Noise and Risk for Myocardial Infarction and Stroke: A Nationwide Cohort Study. *Environ Health Perspect* 2019;127(3):37004.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30864814>

Specht IO, Hammer PEC, Flachs EM, Begtrup LM, Larsen AD, Hougaard KS, Hansen J, Hansen ÅM, Kolstad HA, Rugulies R, Garde AH, Bonde JP. Night work during pregnancy and preterm birth - A large register-based cohort study. *PLoS One* 2019;14(4):e0215748.

<https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0215748>

Vested A, Basinas I, Burdorf A, Elholm G, Heederik DJJ, Jacobsen GH, Kolstad HA, Kromhout H, Omland Ø, Sigsgaard T, Thulstrup AM, Toft G, Vestergaard JM, Wouters IM, Schläpfer V. A nationwide follow-up study of occupational organic dust exposure and risk of chronic obstructive pulmonary disease (COPD). *Occup Environ Med* 2019;76(2):105-113.

<https://oem.bmj.com/content/76/2/105.long>

## **Aktuelle rapporter**

Air pollution and child health: prescribing clean air, WHO 2018.

<https://www.who.int/ceh/publications/air-pollution-child-health/en/>

Assessment of bio-CCS in 2°C compatible scenarios, Umweltbundesamt 2019.

<https://www.umweltbundesamt.de/en/publikationen/assessment-of-bio-ccs-in-2degc-compatible-scenarios>

Danish consumption and emission of F-gases, Environmental Project No. 2075, Miljøstyrelsen 2019.

<https://mst.dk/service/publikationer/publikationsarkiv/2019/mar/danish-consumption-and-emission-of-f-gases/>

Environmental impacts on biogenic emissions of volatile organic compounds (VOCs), Umweltbundesamt 2019.

<https://www.umweltbundesamt.de/en/publikationen/environmental-impacts-on-biogenic-emissions-of>

Environmental risks from mixtures of antibiotic pharmaceuticals in soils – a literature review. Umweltbundesamt 2019.

<https://www.umweltbundesamt.de/en/publikationen/environmental-risks-from-mixtures-of-antibiotic>

Evaluation of the health risks related to the presence of cyanogenic glycosides in foods other than raw apricot kernels, EFSA 2019.

<http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/5662>

FN-rapport: Global Environment Outlook 6, UN Environment 2019.

<https://www.unenvironment.org/resources/global-environment-outlook-6>

---

Health Effects of Ultrafine Particles. UMWELT & GESUNDHEIT O5/2018.

<https://www.umweltbundesamt.de/en/publikationen/health-effects-of-ultrafine-particles>

Människors hälsa i växande städer, Vetenskapliga Rådet för Hållbar Utveckling 2019.

[http://www.sou.gov.se/wp-content/uploads/2016/06/rk\\_26106-Vetenskapsr%C3%A5det\\_nov-2018\\_webb.pdf](http://www.sou.gov.se/wp-content/uploads/2016/06/rk_26106-Vetenskapsr%C3%A5det_nov-2018_webb.pdf)

Nanotoxicology State-of-the-Art and Future Research Needs, IMM-rapport 1/2018.

[http://www.imm.ki.se/Nanotoxicology2018.pdf?\\_ga=2.141441649.2118701416.1556189523-1691084600.1556189523](http://www.imm.ki.se/Nanotoxicology2018.pdf?_ga=2.141441649.2118701416.1556189523-1691084600.1556189523)

Ny viden 2018, Det Nationale Forskningscenter for Arbejdsmiljø, 2019.

<http://nfa.dk/da/Forskning/Udgivelse?journalId=7fc72282-93c4-4d08-bd81-409e348eec7c>

Per- and polyfluoroalkyl substances (PFASs) in food contact materials, RIVM report 2019.

<https://www.rivm.nl/bibliotheek/rapporten/2018-0181.pdf>

PFASs in the Nordic environment, Nordisk Ministerråd 2019:515.

<https://www.norden.org/en/publication/pfass-nordic-environment>

Restaurering af urbane søer og regnvandsbassiner ved anvendelse af mikroorganismer Miljøstyrelsen 2019.

<https://www2.mst.dk/Udgiv/publikationer/2019/02/978-87-7038-040-9.pdf>

Terrestrisk risikovurdering af problematiske stoffer i nedknust asfalt, beton og tegl. Miljøprojekt nr. 2069, Miljøstyrelsen 2019.

<https://mst.dk/service/publikationer/publikationsarkiv/2019/feb/terrestrisk-risikovurdering-af-asfalt-og-beton/>

Udvikling i luftkvalitet for 2030 i relation til Nationalt program for reduktion af luftforurening (NAPCP) – Effekter af udvalgte initiativer i regeringens klima- og luftudspil. Aarhus Universitet, DCE – Nationalt Center for Miljø og Energi, Videnskabelig rapport nr. 31, 2019, 48 s.

<https://dce2.au.dk/pub/SR315.pdf>

Udvikling i luftkvalitet og helbredseffekter for 2020 og 2030 i relation til Nationalt program for reduktion af luftforurening (NAPCP). Aarhus Universitet, DCE – Nationalt Center for Miljø og Energi, Videnskabelig rapport nr. 300, 2019, 52 s.

<https://dce2.au.dk/pub/SR300.pdf>

Urban Environmental Protection. The strategic research agenda of the German Environment Agency, Umweltbundesamt 2019.

<https://www.umweltbundesamt.de/en/publikationen/urban-environmental-protection-0>

World Health Statistics 2019: Monitoring health for the SDGs.

[https://www.who.int/gho/publications/world\\_health\\_statistics/2019/en/](https://www.who.int/gho/publications/world_health_statistics/2019/en/)

## **Nyt om lidt af hvert**

Danmarks Nationale Biobank lancerer ny podcast rettet mod forskere.

<https://www.ssi.dk/aktuelt/nyheder/2019/danmarks-nationale-biobank-lancerer-ny-podcast-rettet-mod-forskere>

DTU Fødevareinstituttet: Spildevand kan bruges til at måle forekomsten af antibiotikaresistens.

<https://www.dtu.dk/nyheder/Nyhed?id={A9AF0341-A597-4AB8-9D57-2348D94AAE4A}>

---

EFSA lancerer en ny, harmoniseret tilgang til risikovurdering af kemikalieblandinger.  
<http://www.food.dtu.dk/nyheder/Nyhed?id={CA613078-50BF-49E8-AFFE-55C47F92B6AB}>

Forskere fra Københavns Universitet har udarbejdet det første atlas over menneskehudens proteinsammensætning.  
<https://sund.ku.dk/nyheder/2019/02/verdens-foerste-atlas-over-huden-ser-dagens-lys/>

Forskere ved Oxford University har skabt de mest præcise globale distributionskort til dato for myggebårne sygdomme som Dengue og Zika, for at hjælpe med at stoppe disse sygdomme.  
<https://www.nature.com/articles/s41564-019-0376-y>

Første samlede status over unges arbejdsmiljø fra Det Nationale Forskningscenter for Arbejdsmiljø.  
<http://nfa.dk/da/nyt/nyheder/2019/forste-samlede-status-over-unges-arbejdsmiljo>

London indfører Ultra Low Emission Zone.  
<https://tfl.gov.uk/modes/driving/ultra-low-emission-zone>

NFA har udviklet en række værktøjer, der kan hjælpe virksomheder med at afklare, om et kemisk stof eller materiale er skadeligt, og hvordan man bedst tilrettelægger arbejdet.  
<http://nfa.dk/da/nyt/nyheder/2019/faa-styr-paa-kemiske-stoffer-og-materialer>

SDU: Vandmænd skal fjerne mikroplastforurening.  
[https://www.sdu.dk/da/nyheder/forskningsnyheder/vandmaend\\_skal\\_fjerne\\_mikroplastforurening](https://www.sdu.dk/da/nyheder/forskningsnyheder/vandmaend_skal_fjerne_mikroplastforurening)

Tre studerende fra DTU udvikler brillerne, der kan fjerne lastbilernes blinde vinkler.  
<https://www.dtu.dk/nyheder/Nyhed?id=%7b14323572-1FC5-4A3A-9838-0CBC45E11010%7d>

Udstyr, der er udviklet til udforskning af rummet, har også helt andre anvendelser: DTU Space udvikler udstyr til skanning for brystkræft.  
<http://www.space.dtu.dk/nyheder/nyhed?id=47B7CB98-10D5-4DFF-A985-6F19396D3A42>

Videncenter for Allergi: Naturlige duftstoffer giver også allergi.  
<https://www.videncenterforallergi.dk/aktuelt/aktuelt-tema/naturlige-duftstoffer-giver-ogsaa-allergi/>

WHO: 10 trusler mod den globale sundhed i 2019.  
<https://www.who.int/emergencies/ten-threats-to-global-health-in-2019>

---

## Kalender 2019

Der kan linkes til møder og konferencer via adressen:

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

### Maj

6.-7. maj: Toxicology and Pharmacology, Tokyo, Japan.

6.-8. maj: Fifth World Congress on Risk, Cape Town, Sydafrika.

20.-22. maj: Determining Relevant Low-Level Chemical Exposures for Safety Assessments of Consumer Products, Bruxelles, Belgien.

26.-30. maj: Society of Environmental Toxicology and Chemistry (SETAC) annual meeting. Helsinki, Finland. Theme: One environment, one health, sustainable societies.

### Juni

3.-5. juni: 5th International Conference on Environmental Specimen Banks, Stockholm, Sverige.

3.-6. juni: Conference on Land Use and Water Quality Agriculture and the Environment, Aarhus.

3.-6. juni: Environmental and Occupational Health Aspects Related to Nano- and Ultrafine Particulate Matter, Loen, Norge.

16.-19. juni: INTERNOISE 2019, Madrid, Spanien.

16.-20. juni: 17th International Conference on Chemistry and the Environment, Thessaloniki, Grækenland.

26.-28. juni: Air Pollution 2019, Aveiro, Portugal.

### Juli

3.-5. juli: Energy and Sustainability 2019, Coimbra, Portugal.

4.-5. juli: 21st Euro-Global Summit on Toxicology and Applied Pharmacology, Valencia, Spanien.

15.-18. juli: IUTOX ICTXV 2019, Hawaii.

16.-18. juli: 4th International Conference on Water Pollution and Treatment (ICWPT 2019), Rom, Italien.

17.-19. juli: International Conference on Materials and Nanomaterials (MNs-19), Paris, Frankrig.

22.-25. juli: 6th International Conference on Energy and Environment Research (ICEER 2019), Aveiro, Portugal.

### August

19.-22. august: International Association of Firefighters REDMOND Health and Safety Symposium, Nashville, TN, USA.

25.-28. august: Thirty-First Conference of the International Society for Environmental Epidemiology, Utrecht, Holland.

25.-30. august: European Aerosol Conference (EAC 2019), Göteborg, Sverige.

25.-31. august: International Symposium on Halogenated Persistent Organic Pollutants, Kyoto, Japan.

### September

8.-11. september: EUROTOX 2019, Helsinki, Finland.

16.-18. september: 8th Occupational and Environmental Exposure of Skin to Chemicals (OEESC) Conference, Dublin, Irland.

24.-26. september: NIVA Occupational Health and Safety in Agriculture and Horticulture, Malmö, Sverige.

30. september – 2. oktober: 14th Edition Health, Safety & the Environment: What Next?, Amsterdam, Holland.

### Oktober

2.-4. oktober: 5th International Conference on Water and Society, Valencia, Spanien.

22.-24. oktober: NIVA Occupational Respiratory Diseases, Särö, Sverige.

---

## November

6.-9. november: Work, Stress and Health 2019: What Does the Future Hold?, Philadelphia, USA.

## December

12.-14. december: World Allergy Congress (WAC), Lyon, Frankrig.

18.-20. december: 7th International Conference on Environment Pollution and Prevention (ICEPP 2019), Melbourne, Australien.

## Kalender 2020

13.-15. januar: 12th Conference of The World Mycotoxin Forum, Bangkok, Thailand.

18.-19. februar: 2nd International Conference on Engineering Management, Building Design, Computer Sciences, IT & Applied Sciences, Manila, Filipinerne.

12-14. maj: 2nd International Conference on Urban Agriculture and City Sustainability, Valencia, Spanien.

13.-15. maj: 15th International Conference on Monitoring, Modelling and Management of Water Pollution, Valencia, Spanien.

8.-10. juni: 28th International Conference on Modelling, Monitoring and Management of Air Pollution, Sevilla, Spanien.

23.-25. juni: 12th International Conference on Risk Analysis and Hazard Mitigation, Lissabon, Portugal.

4.-7. oktober: XXII World Congress on Safety and Health, Toronto, Canada.

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  
Islands Brygge 67  
2300 København S  
tlf. 72 22 74 00, lokal 77 76  
e-mail [hib@sst.dk](mailto:hib@sst.dk)

<http://miljoogsundhed.sst.dk>

også hvis du bare har en god idé!